



**NOTIFICACIÓN SOBRE ACTIVIDADES DE UTILIZACIÓN CONFINADA DE
ORGANISMOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE**

Nº de Notificación:

I. INFORMACIÓN GENERAL

1) Responsables de la actividad

a) Nombre: Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA); Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA); Ministerio de Ciencia e Innovación
Dirección postal: Carretera de Algete a El Casar de Talamanca s/n; Valdeolmos - Alalpardo; 28130 Madrid

b) Representante legal de la entidad
Nombre y apellidos: Dr. Esther Esteban Rodrigo
NIF: 05271582M
Cargo: Directora de INIA
Tel: 916202300
Fax:
Correo electrónico: direccion.cisa@inia.es

c) Responsable científico de la actividad
Nombre y apellidos: María del Carmen Gallardo Frontaura
NIF: 03867289T
Cargo: Científico titular.
Tel: 91 6202300
Fax: 91 6202247
Correo electrónico: gallardo@inia.es

d) Responsable de bioseguridad de la instalación donde se realizará la actividad
Nombre y apellidos: Laura Pérez Palancar
NIF: 53043241C
Cargo: Jefe de Área de Animalario y Seguridad Biológica
Tel: 91 6202300
Fax: 91 6202247
Correo electrónico: laura.perez@inia.es

e) Indicar cuál de los anteriores actuará como persona de contacto:

Laura Pérez Palancar



- 2) Debe señalarse si para la ejecución de esta actividad se recibe financiación del Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica. Esta información es necesaria para determinar si la actividad se encuentra dentro del supuesto del artículo 3.2.b) de la Ley 9/2003 y, por lo tanto, la competencia recae en la Administración General del Estado.

SI NO

Si la respuesta a la pregunta anterior es **SI**, debe justificarlo especificando¹:

-Nombre de la convocatoria:

-Referencia del Proyecto y referencia IP del mismo:

-Organismo financiador:

- 3) **Instalación donde se va a desarrollar la actividad de utilización confinada** (*cumplimente si previamente ha sido comunicada/autorizada para este tipo de actividades; en caso contrario, cumplimente el Formulario Parte B*).

a) Fecha de comunicación / autorización de la instalación: Existe autorización de uso de Instalación tipo 3. La instalación de tipo 3 del CISA-INIA (notificación A/ES/00/I-01), en la que se va a llevar a cabo la actividad, ya ha sido autorizada con anterioridad por el Consejo Interministerial de Organismos Modificados Genéticamente (CIOMG) mediante resolución con fecha 04/12/2001.

b) Número de referencia del expediente: notificación A/ES/00/I-01

II. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD:

1) Finalidad de la actividad:

El objetivo de la actividad es la realización de estudios *“in vivo”* de eficacia y seguridad de vacunas vivas atenuadas (*live attenuated vaccines –LAVs*) obtenidas mediante modificación genética del virus de la peste porcina africana (VPPA) utilizando como modelo experimental el hospedador natural, los suidos.

Para ello se realizarán ensayos de eficacia y seguridad (protección) en suidos domésticos y salvajes, únicos hospedadores naturales susceptibles a la infección viral.

Para conseguir estos objetivos, el único modelo experimental que se puede utilizar son animales, y particularmente los suidos.

En los ensayos de inmunización se utilizarán virus de la PPA modificados genéticamente dentro del proyecto financiado por la UE 862874-VACDIVA H2020 *“A safe DIVA vaccine for African Swine Fever control and eradication”*.

¹TASAS

Están exentos del pago de la tasa los casos en los que se cumplan dos requisitos, que la actividad se realice en el marco de los Planes Estatales de Investigación Científica y Técnica y de Innovación; y que se desarrolle por una institución, ente u órgano público.



Los VPPA modificados genéticamente se obtendrán a partir de los virus atenuados de campo mediante la eliminación o modificación parcial de genes implicados en virulencia y/o respuesta inmune utilizando distintas tecnologías de biología molecular.

La construcción de estos virus recombinantes se realizará en el “National Food Chain Safety Office (NFCSO)”, Hungría (participante nº 6-VACDIVA) y en la “Faculdade de Medicina Veterinária (FMV)”, Portugal (participante nº 12 VACIDVA).

El objetivo final de la delección y/o modificación de estos genes es **generar vacunas vivas atenuadas seguras que serán** enviadas al INIA-CISA para los estudios “*in vivo*” de seguridad y eficacia tanto en cerdo doméstico como en jabalíes, hospedadores naturales del VPPA.

Estos estudios basados en la normativa de la Agencia europea del medicamento consistirán en:

1. Estudios comparativos “*in vivo*” de seguridad y eficacia de vacunas vivas atenuadas basadas en virus de peste porcina africana (PPA) modificados genéticamente (con y / o sin adyuvante) frente al desafío con aislados altamente patógenos del virus de la PPA (vPPA). Selección inicial de prototipos vacunales.
2. Estudios comparativos “*in vivo*” para selección de la formulación y posología de la vacuna (dosis y vía de administración).
3. Estudios “*in vivo*” de seguridad con la vacuna seleccionada; determinar la capacidad de transmisión tanto de la cepa vacunal cómo de la cepa virulenta a animales centinela.
4. Estudios “*in vivo*” de estabilidad genética de la cepa vacunal mediante infecciones seriadas en suidos.
5. Estudios “*in vitro*” de estabilidad genética de la cepa vacunal mediante pases consecutivos en células susceptibles a la infección con el VPPA.

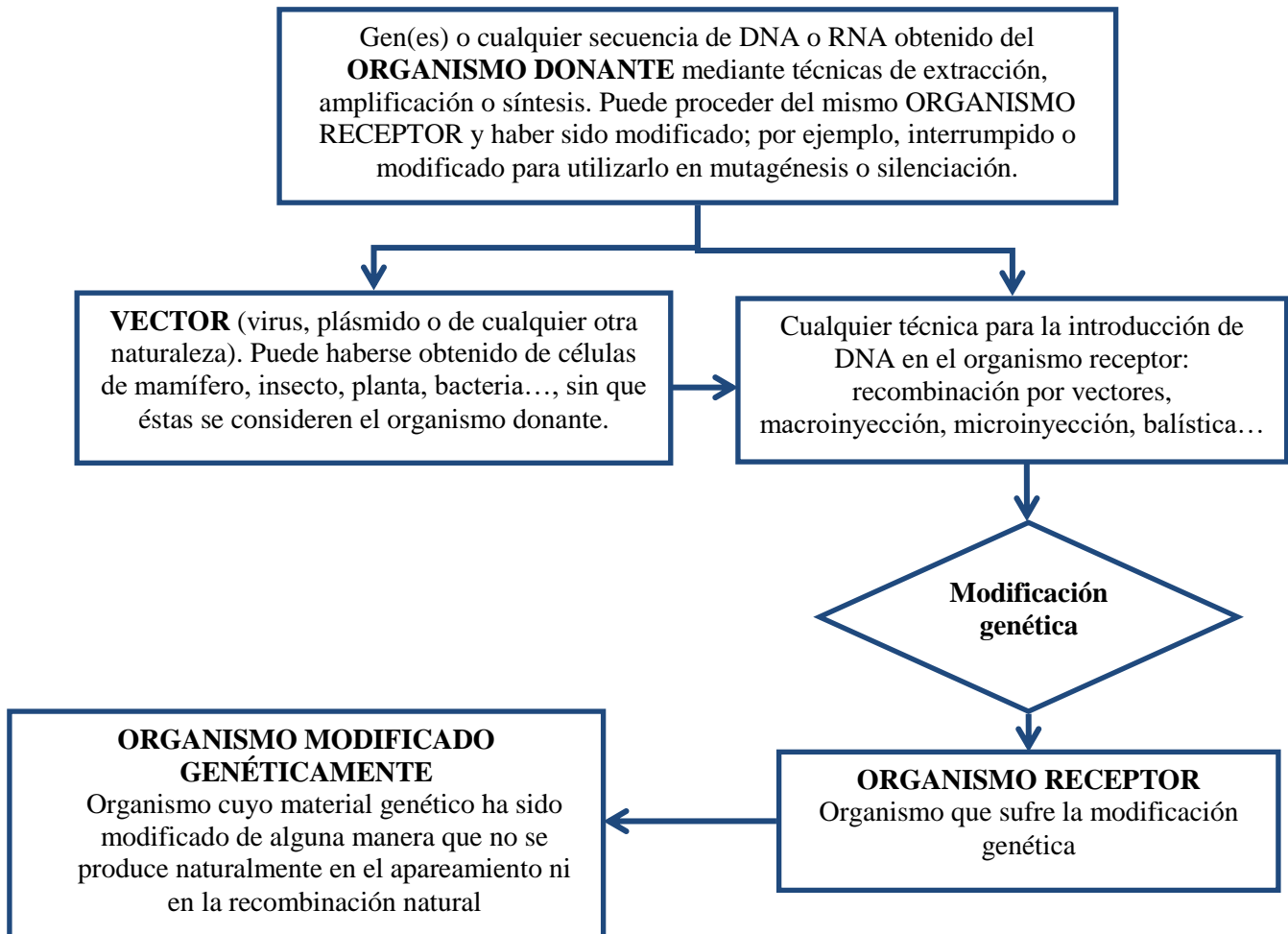
2) Clasificación de la actividad:

(Para la clasificación del tipo de riesgo de las operaciones se seguirá el procedimiento establecido conforme al artículo 4 y el anexo III de la Directiva 2009/41/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 6 de mayo, relativa a la utilización confinada de microorganismos modificados genéticamente, y la Decisión de la Comisión 2000/608/CE, de 27 de septiembre, relativa a las Notas de orientación para la evaluación del riesgo).

- Tipo 1
- Tipo 2
- Tipo 3
- Tipo 4



PROCESO GENERAL PARA LA OBTENCIÓN DE UN OMG A EFECTOS DE NOMENCLATURA:





III. INFORMACIÓN SOBRE EL ORGANISMO RECEPTOR DEL CUAL SE DERIVA EL OMG

1) Nombre científico:

Taxonomía: Familia *Asfarviridae*, género *Asfivirus*, especie *African swine fever virus*

Nombre común: virus de la peste porcina africana (vPPA)/ *African swine fever virus (ASFV)*

2) Descripción de los métodos de identificación y aislamiento.

- a) Técnicas de aislamiento: El crecimiento y titulación del organismo receptor se realiza inicialmente en cultivos primarios porcinos obtenidos de sangre periférica (leucocitos/monocitos/macrófagos) según los protocolos estandarizados por el INIA-CISA como laboratorio de referencia de la PPA de la UE. Los protocolos están disponibles en la página web del laboratorio de referencia de PPA <https://asf-referencelab.info/asf/en/procedures-diagnosis/sops> y en el Manual de la OIE (capítulo 3.8.1. edición 2019) https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.08.01_ASF.pdf

También se realizará la adaptación y posterior crecimiento y titulación en líneas celulares establecidas según lo establecido dentro de las actividades del proyecto 862874-VACDIVA H2020 “*A safe DIVA vaccine for African Swine Fever control and eradication*”.

- b) Técnicas de identificación: mediante la técnica de amplificación del genoma viral (PCR) y secuenciación parcial.
- c) Marcadores genéticos: Una de las características que distingue a los aislados atenuados que serán modificados genéticamente para la generación de los OMGs son las mutaciones localizadas en gen específico. Estas mutaciones pueden ser utilizadas como marcadores genéticos que permitan diferenciar aislados virulentos de los aislados atenuados.
- d) Marcadores fenotípicos.
- e) Estabilidad genética: se encuentra incluido dentro de las actividades del proyecto 862874-VACDIVA H2020 “*A safe DIVA vaccine for African Swine Fever control and eradication*”.

3) Posibles modificaciones genéticas anteriores:

NO

4) ¿Se considera patógeno el organismo receptor?

SI

NO



En caso afirmativo, especificar para qué clase de los organismos (*seres humanos, animales, plantas*) se considera patógeno este organismo, vivo o muerto, y/o sus productos extracelulares:

El VPPA no es un agente zoonótico y tampoco afecta a la especie vegetal porque no puede entrar al no tener estas los receptores apropiados.

El cerdo es la única especie doméstica que se infecta naturalmente por el vPPA.

Los jabalís europeos son también susceptibles a la infección, con síntomas clínicos y mortalidad similar a la observada en cerdos domésticos.

Los síntomas asociados a la PPA pueden ser muy variados, ya que dependen de la virulencia del aislado viral y de la raza y condición física del cerdo.

Los aislados del VPPA atenuados pueden inducir cuadros crónicos o inaparentes. Los síntomas de la enfermedad crónica incluyen pérdida de peso, fiebre intermitente, problemas respiratorios, ulceraciones crónicas de la piel y artritis.

5) Si el organismo receptor es patógeno para los seres humanos, especificar el grupo de riesgo asignado de acuerdo con la legislación comunitaria existente, (*en particular la Directiva 2000/54/CE*) o según otros sistemas de clasificación, nacionales o internacionales (*OMS, NIH, etc.*):

NO APLICA

a) ¿De qué modo se manifiesta la patogenicidad?

b) En el caso de cepas no virulentas de especies patógenas: ¿es posible excluir la reversión a la patogenicidad?

SI

NO

Porqué:

6) **La cepa/línea celular receptora: ¿está libre de agentes biológicos contaminantes?**

SI

7) **Experiencia adquirida en relación con la seguridad en la utilización del organismo receptor:**

El grupo de investigación del INIA-CISA que manipulará los VPPA posee una dilatada experiencia en trabajos de investigación, desarrollo y actividades científicas y técnicas en Peste Porcina Africana (PPA), siendo responsable del Laboratorio de Referencia de la UE (EURL) de PPA desde 2002, Centro de Referencia de PPA para la FAO desde 2013 y haber sido Laboratorio Nacional de Referencia de PPA hasta 2010.



Son reconocidos internacionalmente en el desarrollo y estandarización de herramientas metodológicas para el diagnóstico laboratorial de PPA, como lo demuestra el hecho de que un importante número de estas tecnologías son hoy en día referente mundial.

Concretamente, las técnicas de diagnóstico para PPA desarrolladas en el grupo están incluidas como técnicas diagnósticas de referencia en el actual Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres de la Organización Mundial de Sanidad Animal (ver OIE, Manual 2019).

Un gran número de estos estudios han sido realizados a través de proyectos europeos y redes del 6º y 7º Programa Marco de la UE, como EU FP6 QLK2- 2001-02216 ASF CONTROL (2001-2005); EU FP7 KBBE 211691 ASFRISK (2008-2011); EU FP7 311931 ASFORCE (2012-2015); EPIZONE (EU CT2006-016236-FOOD, 2006-2012), en donde se ha trabajado con numerosos aislados y prototipos vacunales del VPPA.

Actualmente, los integrantes del grupo están participando muy activamente en la erradicación de la PPA en Europa tanto desde sus actividades como EURL, como con su participación en el proyecto internacional 862874-VACDIVA H2020 "*A safe DIVA vaccine for African Swine Fever control and eradication*" para el desarrollo de una vacuna frente al VPPA.

El prototipo vacunal que servirá como modelo fundamental para la generación de los OMGs incluidos dentro de esta propuesta fue aislado y caracterizado biológica y genéticamente por el EURL en el año 2017.

8) Información sobre la capacidad de supervivencia y de reproducción en el medio ambiente:

a) ¿El organismo receptor es capaz de sobrevivir fuera de las condiciones de cultivo?:

SÍ

En caso afirmativo:

Capacidad de crear estructuras de resistencia o letargo:

- i) esporas
- ii) endosporas
- iii) quistes
- iv) esclerocios
- v) esporas asexuales (hongos)
- vi) esporas sexuales (hongos)
- vii) otros, especifíquese



b) Otros factores que afectan la capacidad de supervivencia:

En un entorno adecuado, rico en proteínas, el virus de la PPA es estable en una amplia gama de temperaturas y niveles de pH durante largos períodos, además de resistente a la autólisis y a diversos desinfectantes.

Por lo tanto, ni la putrefacción, ni el proceso de maduración, ni la congelación inactivan el agente.

En consecuencia, el virus sobrevive en las excreciones, los cadáveres, la carne fresca y ciertos productos cárnicos durante períodos de tiempo variables.

c) Posibles nichos ecológicos: Puede multiplicarse en vectores (garrapatas blandas) del género *Ornithodoros*.

d) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:

9) Efectos posibles sobre el medio ambiente:

a) Implicaciones en procesos ambientales (*p.ej. fijación del nitrógeno o regulación del pH del suelo*):

NO APLICA

b) Interacciones con otros organismos y efectos sobre éstos:

NO APLICA

10) Distribución geográfica y tipo de ecosistema en el que se encuentra el organismo receptor:

Los VPPA están presentes en los cerdos domésticos y silvestres en regiones de Asia, Europa y África.

11) Hábitat natural del organismo:

Donde se encuentren suidos.

IV. INFORMACIÓN RELATIVA AL ORGANISMO DONANTE

1) Nombre científico:

Taxonomía: Familia *Asfarviridae*, género *Asfivirus*, especie *African swine fever virus*

Nombre común: virus de la peste porcina africana (vPPA)/ *African swine fever virus* (ASFV)



Tipo de material genético obtenido del organismo donante: ADN

2) Método de obtención:

- a) Extracción
- b) PCR
- c) Síntesis *in Vitro*

3) Función del gen/genes en el organismo donante:

I. Genes específicos implicados en virulencia/replicación:

II. Genes implicados en la respuesta inmune humoral:

4) ¿Es patógeno o nocivo de cualquier otra forma (*incluidos sus productos extracelulares*) el organismo donante, vivo o muerto?

SI NO

a) En caso afirmativo, especificar para que organismos:

- i) seres humanos
- ii) animales
- iii) plantas

b) ¿De qué modo se manifiesta la patogenicidad?

Pueden inducir cuadros crónicos o inaparentes. Los síntomas de la enfermedad crónica incluyen pérdida de peso, fiebre intermitente, problemas respiratorios, ulceraciones crónicas de la piel y artritis.

c) Las secuencias insertadas: ¿están implicadas de alguna forma en las propiedades patógenas o nocivas del organismo?

NO APLICA. Se realiza delección parcial o completa de genes.

5) ¿Intercambian los organismos donante y receptor material genético de forma natural?

Es el mismo, y no se prevé intercambio de forma natural, dado que el receptor se convertiría en donante.

V. INFORMACIÓN RELATIVA A LA MODIFICACIÓN GENÉTICA

1) Tipo de modificación genética:

- a) Inserción de material genético



- b) Delección de material genético
- c) Sustitución de bases
- d) Fusión celular
- e) Otros, especifíquese

2) Finalidad de la modificación genética:

El objetivo final de la delección y/o modificación de estos genes es generar vacunas vivas atenuadas frente a la PPA.

3) Método utilizado para llevar a cabo la modificación genética:

Los VPPA modificados genéticamente se obtendrán a partir de los virus atenuados de campo mediante la eliminación o modificación parcial de genes implicados en virulencia y/o respuesta inmune utilizando distintas tecnologías. La construcción de estos virus recombinantes se realizará en el “National Food Chain Safety Office (NFCSO)”, Hungría (participante nº 6-VACDIVA) y en la “Faculdade de Medicina Veterinária (FMV)”, Portugal (participante nº 12 VACIDVA).

4) ¿Se ha utilizado un vector en el proceso de modificación?

SÍ NO

En caso afirmativo:

a) Tipo e identidad del vector:

b) Si se trata de un virus:

Es defectivo en replicación SÍ NO

c) Aportar mapa de restricción del vector (*funciones y posición de genes estructurales, genes marcadores, elementos reguladores, sitios de inserción, origen de replicación, origen, función y secuencia de otros elementos presentes en el vector*):

d) Gama de hospedadores del vector:

e) Características de la movilidad del vector:

i) factores de movilización

ii) Si el vector es un bacteriófago ¿se han inactivado sus propiedades lisogénicas?

iii) ¿Puede el vector transferir marcadores de resistencia a otros organismos?

5) Información del inserto:



NO APLICA

- a) Dimensiones del inserto, mapa de restricción y secuencia:
- b) Origen y función específica de cada parte del inserto:
- c) Descripción del método utilizado para la transformación:
- d) Información sobre los genes estructurales presentes en el inserto:
- e) Información sobre los elementos reguladores presentes en el inserto:
- f) ¿El inserto ha sido secuenciado completamente?
- g) ¿Contiene secuencias que no son necesarias para la función deseada? En caso afirmativo, especifíquese.
- h) ¿Contiene secuencias cuya función es desconocida? En caso afirmativo, especifíquese.



VI. INFORMACIÓN RELATIVA AL ORGANISMO MODIFICADO GENÉTICAMENTE

1) Estado y expresión del material genético introducido:

a) ¿Es un plásmido libre?

NO

En caso afirmativo:

i) Número de copias:

ii) ¿El plásmido recuperado corresponde al construido?

b) ¿Está integrado en los cromosomas nucleares?:

NO

En caso afirmativo:

i) número de copias:

ii) localización cromosómica:

iii) secuencias colindantes

iv) ¿La inserción activa o inactiva la expresión de otros genes?:

c) Si se trata de un virus: **se trata de delección específica.**

i) La inserción es específica

ii) La inserción se produce al azar

iii) Existe la posibilidad de formación de partículas víricas

d) Análisis moleculares realizados relativos a la expresión del producto deseado (*PCR, Northern, secuenciación, otros*):

iv) Determinación de la estructura del inserto (secuenciación)

v) Transcripcionales (nivel de síntesis de mRNA)

vi) Traduccionales (nivel de síntesis de proteínas)

Aportar toda la documentación al respecto.



2) Características genéticas y fenotípicas modificadas del organismo receptor como resultado de la manipulación genética:

- a) ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta a la capacidad de supervivencia fuera de las condiciones de cultivo?

NO.

En caso afirmativo, especifíquese:

- b) ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta al modo o tasa de reproducción?

NO.

En caso afirmativo, especifíquese:

- c) ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad para el hombre, plantas o animales?

SI.

Los OMGs obtenidos a partir de virus atenuados de la PPA se comportarán en general como virus de la PPA atenuados, con menor o igual tasa de replicación y menor patogenicidad que el virus parental, lo que confiere un grado adicional de atenuación a los OMGs generados.

Sin embargo, al tratarse de vacunas vivas atenuadas no se pueden descartar que los virus resultantes tengan un cierto grado de patogenicidad en el hospedador, los suidos.

La patogenicidad de los virus recombinantes, previsiblemente menor que la del organismo donante, estará en consonancia con lo descrito en otros VPPAs atenuados siendo el síntoma clínico principal el desarrollo de un estado febril transitorio e inflamación leve de las articulaciones.

- d) ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta a los posibles efectos sobre el medio ambiente?

NO.

Los OMGs se obtendrán a partir de virus atenuados de la PPA de campo para generar las vacunas vivas atenuadas.

Estos OMGs se comportarán en principio como los virus de la PPA atenuados, con menor o igual tasa de replicación, por lo que presentarán en principio una supervivencia similar a lo descrito para el VPPA.

- e) ¿Es diferente el OMG en cuanto a las características nutricionales?

NO.



f) Marcadores específicos del OMG:

Los OMGs consisten en virus recombinantes derivados de virus de campo atenuados de la PPA en los que se delecionarán (total o parcialmente) de forma individual o múltiple; i) genes específicos implicados en virulencia/replicación y/o ii) genes implicados en la respuesta inmune humoral con objetivo es obtener vacunas marcadas que permitan desarrollar test de diagnóstico serológico DIVA (*Differentiating Infected from Vaccinated Animals*).

La delección de estos genes actuará como **marcadores negativos** de los OMGs

3) **Estabilidad genética del OMG** (*Estado y secuencia del inserto después de un cierto número de generaciones*):

En estudio dentro de las actividades del proyecto financiado por la UE 862874-VACDIVA H2020 "A safe DIVA vaccine for African Swine Fever control and eradication".

4) **Posibilidad de transferencia de material genético a otros organismos:**

NO

5) **Descripción de métodos de identificación y aislamiento empleados:**

a) Técnicas utilizadas para la identificación del OMG:

Secuenciación.

b) Técnicas empleadas para aislar el OMG en el medio ambiente:

El crecimiento y titulación de los OMGs producidos a partir de los virus de la PPA atenuados se realizarán inicialmente en cultivos primarios porcinos obtenidos de sangre periférica (leucocitos/monocitos/macrófagos) según los protocolos estandarizados por el INIA-CISA como laboratorio de referencia de la PPA de la UE.

Los protocolos están disponibles en la página web del laboratorio de referencia de PPA <https://asf-referencelab.info/asf/en/procedures-diagnosis/sops> y en el Manual de la OIE (capítulo 3.8.1. edición 2019) https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.08.01_ASF.pdf

También se realizará la adaptación y posterior crecimiento y titulación en líneas celulares establecidas según lo establecido dentro de las actividades del proyecto 862874-VACDIVA H2020 "A safe DIVA vaccine for African Swine Fever control and eradication".

VII. DESCRIPCIÓN DE LAS OPERACIONES

1) **Naturaleza de las operaciones:**

a) Enseñanza

b) Investigación



- c) Desarrollo

2) Volumen o cantidad de OMG a utilizar:

- a) Volumen máximo en el caso de microorganismos:

Muy bajo

- b) Número de plantas:

- c) Número de animales:

3) Periodo previsto para la actividad de utilización confinada:

Abril 2021- Enero 2026

4) Finalidad de la actividad de utilización confinada, incluidos los resultados esperados:

Obtención de una vacuna viva atenuada marcada frente al VPPA.

- 5) Origen del OMG:** indicar si el OMG procede de otro centro o empresa (*señalar nombre y ubicación*), y si es así, si dicho centro o empresa está registrado conforme a la normativa española y/o europea vigente sobre OMG. En el caso de centros españoles, indicar el número de notificación si se conoce:

National Food Chain Safety Office (NFCSO), Hungría (participante nº 6-VACDIVA)

Faculdade de Medicina Veterinária (FMV), Portugal (participante nº 12 VACIDVA).

- 6) Información sobre el transporte de los OMG en el caso de que provengan de, o se destinen a otros centros o instalaciones, así como descripción de las medidas adoptadas durante el mismo en virtud de la legislación aplicable² (*tipo de transporte, manejo y embalaje, documentación de acompañamiento e identificación o/y etiquetado*):**

CATEGORIA A (IATA)

- 7) Descripción de los métodos de manejo de los OMG (*incluyendo descripción de las fases de cultivo y concentración máxima de OMG en el cultivo*):**

² Legislación vigente que afecta al transporte de OMG:

- **(ADR) Clase 6.2 (Materias infecciosas)** del Acuerdo Europeo de Transporte Internacional de Mercancías Peligrosas por Carretera y principales modificaciones
- **Reglamento (CE) nº 1/2005** del Consejo, de 22 de diciembre de 2004, relativo a la protección de los animales durante el transporte y las operaciones conexas y por el que se modifican las Directivas 64/432/CEE y 93/119/CE y el Reglamento (CE) nº 1255/97.
- **Reglamento (CE) nº 1946/2003** del Parlamento Europeo y del Consejo, de 15 de julio de 2003, relativo al movimiento transfronterizo de organismos modificados genéticamente [Diario Oficial L 287 de 5.11.2003].
- **Artículo 18.2.c del Protocolo de Cartagena sobre Bioseguridad.** Documentación acompañamiento en el movimiento transfronterizo: <https://bch.cbd.int/protocol/>



Los OMGs serán manejados en el laboratorio de contención biológica de nivel 3 (NCB3) del INIA-CISA, instalación de Alta Seguridad Biológica, diseñado, construido y equipado para trabajar con enfermedades infecciosas exóticas y de alto riesgo para la Sanidad Animal.

El grupo de investigación posee varios laboratorios y acceso a salas comunes destinadas al manejo de cultivos celulares y a técnicas moleculares en el nivel 3 para el manejo de los OMGs y virus parentales.

Los equipos que se utilizarán serán tanto los propios del grupo como otros comunes existentes en el Centro incluyendo cabinas de flujo laminar, incubadores de CO₂, microscopios, congeladores – 20°C, ultracongeladores –70°C, contenedores de N líquido, equipos de electroforesis, centrifugas, ultracentrifugas, microfugas, lectores de ELISA, homogeneizador automático, termocicladores convencionales, termocicladores de PCR en tiempo real, sistema informático de imágenes, equipos y software informáticos, acceso a internet, etc..

Los OMGs serán manipulados siguiendo las estrictas medidas de seguridad relativas al manejo de VPPA.

EL cultivo se realizará en cabinas de flujo laminar dentro de las instalaciones NCB3.

La concentración máxima que se estima es de entre 1×10^4 y 5×10^5 TCID₅₀ (dosis infecciosa en cultivo de tejido) que son los títulos que se alcanzan en cultivos con este tipo de virus.

Todas las experiencias “in vivo” se desarrollarán dentro del animalario de nivel 3 del INIA-CISA

8) Descripción de las medidas de confinamiento y protección que vayan a aplicarse:

La zona de contención biológica de 10.824 m², posee unas características arquitectónicas y funcionales reconocidas internacionalmente para la consecución de la bioseguridad.

La característica principal del laboratorio es proporcionar un grado de estanqueidad total para evitar la liberación el medio externo de cualquier agente patógeno sobre el que se esté llevando a cabo alguna línea de investigación.

Para llevar a cabo unas correctas medidas de seguridad, el Centro está diseñado siguiendo unos aspectos arquitectónicos, funcionales y buenas pautas de trabajo adecuados e integrados.

Dentro de los aspectos arquitectónicos y estructurales, el Centro está construido en hormigón armado hidrófugo, cuyo interior está pintado con pintura epoxídica para posibilitar las operaciones de descontaminación. Existen también ventanas blindadas de seguridad.

Todas las entradas a boxes y diferentes zonas o laboratorios, así como las de emergencia, presentan de puertas con cerradura de seguridad y ajuste neumático.

El Centro presenta un modelo tipo “sandwich” donde las zonas de trabajo (laboratorios, animalario y entrada y salida de personal) se localizan en una planta intermedia.



En la planta superior se encuentra todo el sistema de filtración de Alta Eficacia del aire y la planta inferior está habilitada para los procesos de gestión de residuos sólidos y efluentes y para la entrada y salida de animales y material mediante sistemas SAS y Airlocks.

Para asegurar un funcionamiento correcto incluso bajo situaciones de emergencia, todos los dispositivos de seguridad se encuentran instalados de forma redundante (duplicados) o por triplicado.

Dentro de las características funcionales, se encuentran:

- El tratamiento del aire y ventilación estando Las condiciones termo-higrométricas se encuentran reguladas en todo momento.

La humedad relativa se mantiene a niveles reducidos (35%) para así evitar que agentes biológicos aerotransportables queden fijados en codos y rugosidades del sistema de circulación del aire.

- Existe establecido en toda la zona Biocontenida, un mantenimiento de la presión negativa respecto a la atmosférica en gradiente diferencial unidireccional de flujo continuo en laboratorios y en cascada en boxes de experimentación de pasos de ente 25 y 35 Pa, generado en extracción dinámica, consiguiendo que el aire siempre circule de zonas teóricamente menos contaminadas a más contaminadas.

El 100% del aire que entra vuelve a salir, en ningún momento se recircula aire.

- El aire de salida es filtrado mediante un sistema simple o doble seriado de filtros HEPA H14 (High Efficiency Particulate Air) que consta de una malla filtrante con paso de poro de 99.995% para partículas de máximo poder de penetración en superficie (mpps) (0.12 μm -0.20 μm).

Existen diferentes zonas de filtración de salida independientes correspondientes con distintas secciones del laboratorio, de esta forma en caso de problemas puede evaluarse la efectividad de la zona afectada por separado.

- El control y tratamiento de residuos líquidos generales tiene lugar en la planta inferior del Centro. Con carácter previo se realiza una separación del 100% de los sólidos conformados presentes en el efluente y el 50% de los sólidos en suspensión.

Posteriormente se trata el efluente mediante una esterilización fisicoquímica en 3 reactores de 3 m³ controlando temperatura, presión y pH.

La temperatura se eleva por encima de 136°C durante un tiempo aproximado de 22 minutos. La fase química se realiza mediante la inyección de peróxido de hidrógeno durante el tratamiento térmico.

Existe un sistema adicional de tratamiento de efluentes en casos de emergencia por tratamiento químico.

- Para el control y tratamiento de sólidos biocontaminados existe un horno crematorio pirolítico (actualmente en parada técnica), diferentes autoclaves de vapor y la presencia de sistemas de descontaminación química (SAS o Airlocks) a base de peróxido de hidrógeno gas o mediante ducha química superficial.

La retirada exterior al NCB3 de residuos sólidos, es a través de una empresa gestora acreditada



A pesar de todos los recursos tecnológicos y de ingeniería, el buen funcionamiento del área de biocontención se culmina con una correcta actuación del personal trabajador correctamente formado, adoptando de forma obligada medidas de prevención de riesgos laborales

- *Control de entrada y salida del laboratorio*

La entrada al laboratorio está controlada y supervisada rigurosamente. Sin acreditación correspondiente, no está permitido el acceso.

Los visitantes han de ir acompañados en todo momento por el personal de Seguridad Biológica.

Una vez dentro es necesario pasar por un vestuario para liberarse de toda la ropa y objetos personales antes de acceder a la zona biocontenida.

El acceso a la zona de Alta Contención Biológica (NCB3), presenta un riesgo especial para los trabajadores por lo que a esta zona sólo puede acceder personal especialmente formado y autorizado para trabajar en estas condiciones.

Una serie de vestuarios a la entrada y duchas a la salida aseguran la descontaminación obligatoria del personal.

Cada persona que abandone el laboratorio deberá seguir escrupulosamente unas pautas de descontaminación entre las que se incluyen la obligación de tomar una ducha de agua de 3 minutos.

Bajo ningún concepto es posible extraer cualquier objeto de dentro del laboratorio sin la descontaminación pertinente.

- *Cumplimiento de procedimientos de trabajo y seguridad*

Resulta imprescindible por parte de los trabajadores, el cumplimiento de los procedimientos de trabajo (métodos, procedimientos normalizados de trabajo, instrucciones para aseguramiento de calidad, etc.) existentes y por lo tanto la información sobre los riesgos de los productos y operaciones, y las medidas de seguridad y protección a aplicar.

Dentro de ellas, está especialmente controlado el uso obligatorio de equipos de protección individual (EPI), para evitar de forma accidental, inhalaciones, ingestiones, cortes, pinchazos, arañazos, mordeduras o picaduras cuando se enfrentan a situaciones especiales de riesgo biológico.

Para ello el trabajador es formado, informado y acepta dejando constancia documental del cumplimiento de las normas y cuarentenas establecidas (se adjunta formato), destacando:

- Las normas que señalan la protección de las heridas y lesiones de las manos antes de iniciar la actividad laboral.



- Las normas que limitan o prohíben el trabajo directo con animales y/o manejo de equipos contaminados al personal que presenta lesiones cutáneas que no se pueden cubrir.
- La utilización constante de guantes de protección en la manipulación de muestras biológicas, objetos, materia o superficies contaminados con fluidos biológicos, etc.
- La prohibición de comer, beber, fumar, aplicarse cosméticos o llevar lentes de contacto en las áreas de trabajo.
- La obligación del uso de batas de protección, mascarillas y protección ocular (entre otras) en aquellas operaciones que pueden implicar salpicaduras de sangre o fluidos.
- El seguimiento estricto de las instrucciones que contemplan la actuación en caso de accidente o incidente en el que intervenga la presencia de un agente biológico.
- El seguimiento de la situaciones de riesgo adicional que podría suponer a aquellos trabajadores especialmente sensibles (patologías previas, trastornos inmunitarios, embarazo, lactancia, discapacidad, etc.).
- El uso de ropa de trabajo especial como pijamas, camisetas, monos, ropa interior, zuecos o zapatillas, botas, etc.
- El cambio de ropa en los accesos y salidas a la zona de alta seguridad.

De igual manera y en cumplimiento de la legislación vigente, los trabajadores que vayan a desarrollar cualquier actividad en el zona de Contención, se encuentran obligados a recibir formación para el desarrollo de sus tareas que incluyen los siguientes aspectos: agentes biológicos a los que están expuestos y grupo de riesgo al que pertenecen, prácticas de trabajo seguras, características y uso correcto de los equipos de protección individual [R.D. 664/1997].

- *Establecimiento de cuarentenas*

Finalmente y en cumplimiento de la legislación y normativa internacional de la OIE y la FAO, todo trabajador de la zona de Contención está sujeto a cuarentenas especiales entendiendo estas como el espacio de tiempo que transcurre entre el abandono de la zona de Riesgo y todo contacto con animales sensibles de contraer enfermedades desarrolladas en el Centro.

Estas cuarentenas varían entre los 3 y 5 días mínimos.

De igual manera que con los equipos de protección individual, el trabajador deja constancia documental de cumplimiento de esta circunstancia (se adjunta formato).

El box de experimentación donde se va a desarrollar las actividades con OMGs del vPPA, además de las medidas reflejadas, ofrece:

- Inactivación de residuos en CSB mediante procedimientos normalizados
- Inactivación d contenedores en las duchas de box



- Autoclaves de doble frontera animalario/laboratorios y 2º interior NCB3/ exterior NCB3
- Validaciones microbiológicas de todos los procesos de biodescontaminación por gas y calor mediante *Geobacillus stearothermophilus* en población de 10⁶
- Equipo de 8 personas de técnicos especializados de seguridad biológica

VIII. INFORMACIONES ADICIONALES RELATIVAS A LA UBICACIÓN DE LA INSTALACIÓN

1) Proximidad a fuentes de peligro potenciales:

El CISA está ubicado a 700 m de la localidad de Valdeolmos que presenta una baja densidad de población.

No existen próximos, explotaciones ganaderas, cotos, reservas de caza,

El riesgo de contaminación en dependencias cercanas a la instalación o en el medio ambiente externo al CISA es prácticamente inexistente por las siguientes razones:

- El laboratorio está equipado con medios e infraestructura de biocontención superiores a los establecidos para las operaciones confinadas de tipo 3, en la legislación de aplicación y normativas nacionales e internacionales.
- La Instalación se encuentra validada por empresa externa, inspeccionada y declara como nivel 3 de contención biológica por el Instituto Regional de Seguridad y Salud en el Trabajo de la CAM, auditada interna y externamente en riesgo biológico por empresas ajenas (ATISAE y JOYD'S), cualificada anualmente por empresa especializadas en CSB y filtración (TDI) y verificada por el equipo propio de seguridad biológica periódicamente de forma rutinaria y frente a operaciones de mantenimiento correctivo.
- Se dispone de procedimientos de bioseguridad por actividades tales como, investigadores, animalario, seguridad biológica, mantenimiento, limpieza, vigilancia perimetral y equipo médico, donde se especifican las normas de bioseguridad para descontaminaciones, gestión de residuos, operaciones de mantenimiento correctivo, envíos y recepción de muestras, transporte interior, uso de airlocks y SAS, autoclaves, envíos y recepción de muestras etc.
- Se dispone de un programa mensual, bimestral, trimestral, cuatrimestral semestral y anual de actuaciones de verificación y seguimiento de instalaciones críticas,
- Se dispone de documentos de control de acciones, trabajos y seguimiento de parámetros de bioseguridad,
- Se dispone de estación informática de control y seguimiento de parámetros esenciales de bioseguridad e infraestructura de mantenimiento redundante (interior NCB3-exterior),
- Se dispone de estación informática de seguimiento de parámetros para tratamiento de efluentes redundante (interior NCB3 y exterior)



- Se dispone de redundancia en suministro eléctrico con dos líneas de alta tensión, dos transformadores de baja autoconmutados, dos grupos electrógenos y dos UPS /SAI,
- Todas las operaciones de mantenimiento preventivo se encuentran verificadas.
- Se realiza tratamiento de residuos “in situ” y exterior por gestor autorizado.
- La instalación dispone de un plan de emergencias de actuación en caso de accidente biológico y plan de evacuación sobre incidentes en incendios, aviso de bomba, accidente biológico, químico y evacuación de accidentados.

2) Descripción de las condiciones climáticas predominantes:

Clima continental-mediterráneo con primaveras y otoños húmedos e inviernos y veranos secos, con fuerte gradiente de temperaturas estacional.

Viento predominante N.O.

3) Notificación de la instalación: indicar las secciones donde se desarrolla la actividad objeto de la notificación, con indicaciones de la categoría de confinamiento prevista:

Las operaciones indicadas se desarrollaran en un box de experimentación (nº5) en contención biológica de nivel 3 (NCB3)

La Instalación se encuentra autorizada para trabajos con OMG Tipo 3 (A/ES/00/I-1).

Fecha de Resolución de 5 de diciembre de 2000

Dirección General de Calidad y Evaluación Ambiental; Subdirección General de Impacto Ambiental y Prevención de Riesgos; Secretaría General del Ministerio de Medio Ambiente

(nº registro de salida 8443).

IX. DESCRIPCIÓN DE LAS MEDIDAS DE PROTECCIÓN Y CONTROL ADOPTADAS DURANTE LA UTILIZACIÓN CONFINADA

1) Adopción de las Buenas Prácticas de Laboratorio:

El personal tiene experiencia en trabajos de laboratorio con la infraestructura específica.

2) Formación del personal adscrito:

El personal actuante ha sido formado antes de iniciar la actividad mediante un curso teórico práctico sobre Bioseguridad en contención 3 en el laboratorio y animalario específico.

Fueron sometidos a test de comprensión.

El personal recibe un curso de reciclaje en bioseguridad anualmente.



3) Programas de limpieza/desinfección/descontaminación:

Limpieza: Se dispone de personal entrenado específico de limpieza para áreas NCB3 comunes.

Se dispone de personal entrenado y acreditado en trabajos de animalario

Se dispone de procedimientos de desinfección, descontaminación y esterilización que son llevados a cabo por personal técnico especializado en bioseguridad (Técnicos Superiores de Laboratorio y Titulados Superiores en Ciencias)

4) Programas de mantenimiento de aparatos para el confinamiento:

Llevado a cabo por personal especializado en mantenimiento 24 horas / 365 días año

5) Programas de inspección y control del confinamiento:

Llevado a cabo por técnicos especializados en Seguridad Biológica.

X. GESTION E INACTIVACIÓN DE RESIDUOS

1) Encargado de la gestión de residuos:

- | | | | | |
|-------------------------------------|----|-------------------------------------|----|--------------------------|
| a) gestión interna: | SÍ | <input checked="" type="checkbox"/> | NO | <input type="checkbox"/> |
| b) gestión por una empresa externa: | SÍ | <input checked="" type="checkbox"/> | NO | <input type="checkbox"/> |

Si es el caso, nombre de la empresa externa encargada de la gestión de los residuos:

TRAGSATEC / HIBISA

2) Inactivación de residuos: método, forma final, destino de cada uno de los tipos de residuos generados:

In situ:

Sólidos: Dos ciclos por autoclave de vapor 134°C - 18 minutos

Tratamiento químico superficial por ducha química o gas en SAS o Airlocks

Tratamiento químico por inmersión en Dunk Tank

Líquidos: Tratamiento termo-químico de efluentes

Aire: Filtración HEPA H14 simple o doble seriada.

Descontaminación por inyección de gas (formaldehído o peróxido de hidrógeno gas) antes de su retirada de caja.- Sistema adicional “bag in – bag out”

2º Tratamiento del filtro por autoclave de vapor antes de su salida del NCB3



Exterior:

Una vez tratados “in situ”, retirada de vidrio y en su caso de residuos biosanitarios especiales o clase II por gestor acreditado para tratamiento en incineración o autoclave de vapor.

XI. PREVENCIÓN DE ACCIDENTES (Cumplimentar para los tipos 2, 3 y 4)

1) Condiciones en las que podría producirse un accidente:

Indicadas en Plan de Evacuación (se adjunta)

2) Equipamiento de seguridad (especifíquese):

Reflejados en Plan de Evacuación

3) Descripción de la información suministrada a los trabajadores:

Manuales de bioseguridad por actividad (laboratorio, animalario, etc.);

Plan de Evacuación

Procedimientos de Bioseguridad

Evaluación de riesgo (a disposición de trabajadores)

4) Planes de emergencia:

Presentado en Protección Civil y expuesto en el acceso a la zona NCB3 para información a personal específico.

Las acciones del Plan de Emergencia son llevadas a cabo por personal CISA-INIA de Dirección, de Seguridad Biológica para descontaminación de Instalaciones y de mantenimiento para control o parada de equipamiento auxiliar (calderas, bombas, equipos de frío o torres de refrigeración, etc.), bajo indicación y supervisión de la Dirección Técnica.



EVALUACIÓN DE RIESGO DE ACTIVIDADES DE UTILIZACIÓN CONFINADA DE ORGANISMOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE

PARTE C

I. RESPONSABLES DE LA ACTIVIDAD

1) Entidad

Nombre: Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA); Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA); Ministerio de Ciencia e Innovación

Dirección postal: Carretera de Algete a El Casar de Talamanca s/n; Valdeolmos - Alapardo; 28130 Madrid

2) Representante legal de la entidad

Nombre y apellidos: Dr. Esther Esteban Rodrigo

NIF: 05271582M

Cargo: Directora de INIA

Tel: 916202300

Fax:

Correo electrónico: direccion.cisa@inia.es

3) Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos: María del Carmen Gallardo Frontaura

NIF: 03867289T

Cargo: Científico titular.

Tel: 91 6202300

Fax: 91 6202247

Correo electrónico: gallardo@inia.es

4) Responsable de bioseguridad de la instalación donde se realizará la actividad

Nombre y apellidos: Laura Pérez Palancar

NIF: 53043241C

Cargo: Jefe de Área de Animalario y Seguridad Biológica

Tel: 91 6202300

Fax: 91 6202247

Correo electrónico: laura.perez@inia.es

5) Indicar cuál de los anteriores actuará como persona de contacto:

Laura Pérez Palancar

II. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD.

1) Objetivo de la actividad:



El objetivo de la actividad es la realización de estudios “*in vivo*” de eficacia y seguridad de vacunas vivas atenuadas (live attenuated vaccines –LAVs) obtenidas mediante modificación genética del virus de la peste porcina africana (VPPA) utilizando como modelo experimental el hospedador natural, los suidos. Para ello se realizarán ensayos de eficacia y seguridad (protección) en suidos domésticos y salvajes, únicos hospedadores naturales susceptibles a la infección viral. Para conseguir estos objetivos, el único modelo experimental que se puede utilizar son animales, y particularmente los suidos.

En los ensayos de inmunización se utilizarán virus de la PPA modificados genéticamente dentro del proyecto financiado por la UE 862874-VACDIVA H2020 “*A safe DIVA vaccine for African Swine Fever control and eradication*”.

Los VPPA modificados genéticamente se obtendrán a partir de los virus atenuados de campo mediante la eliminación o modificación parcial de genes implicados en virulencia y/o respuesta inmune utilizando distintas tecnologías. La construcción de estos virus recombinantes se realizará en el “National Food Chain Safety Office (NFCSO)”, Hungría (participante nº 6-VACDIVA) y en la “Faculdade de Medicina Veterinária (FMV)”, Portugal (participante nº 12 VACIDVA).

El objetivo final de la delección y/o modificación de estos genes es **generar vacunas vivas atenuadas seguras** que serán enviados al INIA-CISA para los estudios “*in vivo*” de seguridad y eficacia tanto en cerdo doméstico como en jabalíes, hospedadores naturales del VPPA.

Estos estudios siguiendo a la Agencia europea del medicamento consistirán en :

6. Estudios comparativos “*in vivo*” de seguridad y eficacia de vacunas vivas atenuadas basadas en virus de peste porcina africana (PPA) modificados genéticamente (con y / o sin adyuvante) frente al desafío con aislados altamente patógenos del virus de la PPA (vPPA). Selección inicial de prototipos vacunales.
7. Estudios comparativos “*in vivo*” para selección de la formulación y posología de la vacuna (dosis y vía de administración).
8. Estudios “*in vivo*” de seguridad con la vacuna seleccionada; determinar la capacidad de transmisión tanto de la cepa vacunal cómo de la cepa virulenta a animales centinela.
9. Estudios “*in vivo*” de estabilidad genética de la cepa vacunal mediante infecciones seriadas en suidos.
10. Estudios “*in vitro*” de estabilidad genética de la cepa vacunal mediante pases consecutivos en células susceptibles a la infección con el VPPA.

2) Duración prevista de la actividad:

Se prevé un periodo de cinco años desde la recepción de la autorización de la actividad confinada.

III. EVALUACIÓN DE RIESGO

1) Identificación de las propiedades nocivas del OMG, en función de las características del:

a) Organismo donante y receptor:



El organismo donante y receptor es el mismo y consiste en virus atenuados de campo de la PPA (familia *Asfaviridae*, género *Asfvirus*).

Una de las características que distingue a estos virus son las mutaciones localizadas en genes asociados a atenuación.

Los ensayos vacunales llevados a cabo utilizando estos aislados atenuados de campo como vacunas vivas atenuadas han demostrado que son capaces de inducir una elevada respuesta humoral y un nivel muy alto de protección frente a aislados de alta virulencia del genotipo II, responsables de la epidemia actual en la UE.

b) Inserto:

No aplica.

c) Vector:

No aplica

d) Organismo modificado genéticamente resultante.

El organismo modificado genéticamente consiste en virus recombinante derivado de virus de campo atenuados de la PPA en los que se delecionarán (total o parcialmente) genes específicos implicados en virulencia/replicación, y genes implicados en la respuesta inmune humoral;

e) Efectos para la salud humana y la sanidad animal y vegetal.

A partir de los virus atenuados de campo se realizarán las modificaciones genéticas con el fin de delecionar o alterar genes implicados en virulencia y/o respuesta inmune según lo descrito en el apartado anterior. Se obtendrán virus con genes delecionados o con mutaciones en alguna de sus proteínas resultando en virus defectivos.

Estos virus se comportarán en general como virus de la PPA atenuados, con menor o igual tasa de replicación y menor patogenicidad que el virus parental, lo que confiere un grado adicional de atenuación a los OMGs generados. Sin embargo, al tratarse de vacunas vivas atenuadas no se pueden descartar que los virus resultantes tengan un cierto grado de patogenicidad en el hospedador, los suidos.

La patogenicidad de los virus recombinantes, previsiblemente menor que la del organismo donante, estará en consonancia con lo descrito en otros VPPAs atenuados siendo el síntoma clínico principal el desarrollo de un estado febril transitorio e inflamación leve de las articulaciones.

Los OMGs que se generarán no serán patógenos en humanos ni vegetales. Al igual que el virus parental, el VPPA no es un agente zoonótico y tampoco afecta a la especie vegetal porque no puede entrar al no tener estas los receptores apropiados.

La peste porcina africana no representa un riesgo para la salud humana.

f) Efectos para el medio ambiente.

Los virus mutantes que se generarán no serán perjudiciales para el medio ambiente. La transmisión del VPPA se produce fundamentalmente por contacto directo con los animales infectados, por contacto indirecto con fómites y por vectores como las garrapatas. La transmisión por aerosoles no es importante y sólo parece ocurrir a distancias cortas, cuando los



cerdos se encuentran en proximidad. Pero en ningún caso afectaría al medio ambiente.

2) Clasificación inicial del organismo modificado genéticamente:

(Para establecer esta primera valoración se tendrá en cuenta lo dispuesto en el artículo 4 de la Directiva 2009/41/CE y, en caso de ser aplicable, otros sistemas de clasificación nacionales e internacionales existentes, por ejemplo, la Directiva 2000/54/CE sobre protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo).

- | | |
|--------|-------------------------------------|
| Tipo 1 | <input type="checkbox"/> |
| Tipo 2 | <input type="checkbox"/> |
| Tipo 3 | <input checked="" type="checkbox"/> |
| Tipo 4 | <input type="checkbox"/> |

3) Probabilidad de que se produzcan efectos nocivos y gravedad de los mismos, en función de: Desarrollar con la extensión que proceda, siguiendo el orden propuesto.

a) Características de la/s actividad/es (medidas de confinamiento y control, y exposición humana y ambiental).

La actividad se va a llevar a cabo en un laboratorio NCB3 dotado de toda la infraestructura científica necesaria y un box de experimentación animal NCB3A

El OMG estará confinado a estos espacios.

Toda la actividad desarrollará dentro de un espacio NCB3

El nivel de biocontención aplicado excede en determinados parámetros el exigido por la legislación para las operaciones confinadas de tipo 3.

El servicio de Bioseguridad verifica, vigila y comprueba periódicamente a nivel interno todos los métodos y sistemas de inactivación biológica y esterilización mediante la utilización de microorganismos testigo utilizando diferentes métodos.

Se dispone de procedimientos escritos de bioseguridad para cualquier tipo de operación donde se especifican las normas de bioseguridad, equipos de protección individual necesarios, limpiezas y biodescontaminaciones, cualificaciones y validaciones físicas y microbiológicas, traslado de muestras, envíos y paquetería, accesos de personas, animales y objetos independientes, establecimiento de cuarentenas y gestión de residuos, entre otros

Se imparten cursos específicos para animalario teórico y práctico antes de iniciar la actividad.

Se realizan seminarios periódicos



La instalación completa dispone de un plan de emergencias y evacuación que ha intentado cubrir todos los procedimientos de actuación ante supuestos de incidente, accidente y emergencia.

General Instalación / Laboratorio:

- Presión negativa de 60 Pa de este respecto a exterior,
- Filtración HEPA en aire de extracción,
- Valvulería automática “airtigh” en impulsión,
- Tratamiento termoquímico de efluentes,
- Airlocks, SAS, Dunk Tanks
- Autoclaves de doble frontera
- Duchas de descontaminación
- Trabajos en Cabina de Seguridad Biológica Clase II B validada anualmente por empresa ajena y se verifica por personal propio de seguridad biológica y el propio
- Drenajes con conexión directa a líneas de tratamiento de efluentes por sistema termoquímico validado física y microbiológicamente con carácter anual y microbiológicamente con carácter trimestral,
- Seguimiento de parámetros de biocontención de la Instalación NCB3 por control informático duplicado (interior-exterior), dotado de sistemas de alarma con comunicación por in situ y por e-mail,
- suministro eléctrico triple (dos líneas de alta tensión, dos centros de transformación (alta-media), dos grupos electrógenos, dos UPS/SAI,
- Presencia de personal de mantenimiento correctivo, preventivo y predictivo, 24 horas día; 365 días /año.

Específico box de experimentación:

- Acceso al animalario independiente a través de “prerom” de doble puerta con apertura por huella,
- Puertas de acceso a área de box estancas por junta activa (neumáticas),
- Vestuario interior por box limpio –sucio
- Ducha de descontaminación exclusiva por arrastre y dilución (agua)
- Puertas secundarias de acceso a espacio de box estancas por junta estática,
- Cámaras de vigilancia en box y ojo de buey para vigilancia presencial,
- Presión negativa de 90 Pa de este respecto a exterior,
- Doble filtración HEPA en aire de extracción,
- Valvulería automática “airtigh” en impulsión,



- Drenajes con conexión directa a líneas de tratamiento de efluentes por sistema termoquímico validado física y microbiológicamente con carácter anual y microbiológicamente con carácter trimestral,

El riesgo de contaminación indoor out door por estas razones es prácticamente inexistente

El OMG es patógeno para el ser humano ni nocivo para el medio ambiente.

b) Concentración y escala utilizadas.

Se utilizará un volumen máximo de 100 ml por ensayo.

La concentración máxima que se estima es de entre 1×10^4 y 5×10^5 TCID₅₀ (dosis infecciosa en cultivo de tejido) que son los títulos que se alcanzan en cultivos con este tipo de virus.

c) Condiciones de cultivo

El crecimiento y titulación de los OMGs producidos a partir de los virus de la PPA atenuados se realizarán inicialmente en cultivos primarios porcinos obtenidos de sangre periférica (leucocitos/monocitos/macrófagos) según los protocolos estandarizados por el INIA-CISA como laboratorio de referencia de la PPA de la UE.

Los protocolos están disponibles en la página web del laboratorio de referencia de PPA <https://asf-referencelab.info/asf/en/procedures-diagnosis/sops> y en el Manual de la OIE (capítulo 3.8.1. edición 2019) https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.08.01_ASF.pdf

También se realizará la adaptación y posterior crecimiento y titulación en líneas celulares establecidas según lo establecido dentro de las actividades del proyecto 862874-VACDIVA H2020 “*A safe DIVA vaccine for African Swine Fever control and eradication*”.

4) Determinación de la clasificación y medidas de confinamiento definitivas y confirmación de su idoneidad:

Actividad confinada de Tipo 3. Actividad en la cual el grado 3 de confinamiento es suficiente para proteger la salud humana y el medio ambiente.

5) Determinación del riesgo en el caso de que se produzca una liberación accidental:

- a) Información adicional relativa a la ubicación de la instalación (proximidad a fuentes de peligro potenciales, condiciones climáticas predominantes, etc.)

- El Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA) se encuentra ubicado a 700 metros de la localidad de Valdeolmos.

Valdeolmos presenta una densidad de población escasa (< 1000 habitantes)

Se asienta en una penillanura a una altitud de 685 m sobre el nivel del mar



Se encuentra rodeado de tierras de cultivo de secano (trigo, centeno, avena) y no dispone cercana, ninguna explotación ganadera. Es zona CEPA.

Presenta un conjunto de Instalaciones reunidas en un solo edificio subdividido en área administrativa, zona NCB2 y zona NCB3

Actualmente trabajan alrededor de 170 personas en las diferentes áreas.

- b) Condiciones en las que podría producirse un accidente.

Indicadas en el Plan de emergencias y evacuación

- c) Equipos de seguridad, sistemas de alarma y métodos de confinamiento adicionales.

Explicados anteriormente y desarrollados en el Plan de emergencias y evacuación y en la parte A (anexo de documentación correspondiente a la solicitud)

- d) Planes de emergencia. El Plan de emergencias y evacuación del laboratorio se ha incluido en la documentación correspondiente a la solicitud.