



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

Nº de Notificación:

I. INFORMACIÓN GENERAL

1) Responsables de la actividad

a) Entidad

Nombre: **Fundación para la Investigación Médica Aplicada**

Dirección postal: **Avda Pio XII 55, 31008 Pamplona**

b) Representante legal de la entidad

Nombre y apellidos: **María Mora Catalá**

NIF: **48345993Q**

Cargo: **Representante Legal. Gerente**

Tel: **948194700**

Fax: **948194718**

Correo electrónico: **mmora@unav.es**

c) Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos: **Pablo Sarobe Ugarriza**

NIF: **72666018W**

Cargo: **Investigador**

Tel: **948194700**

Correo electrónico: **psarobe@unav.es**

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

Nombre y apellidos: **Lourdes Ortiz Hernández**

NIF: **02621826X**

Cargo: **Responsable de Bioseguridad**

Tel: **948194700**

Correo electrónico: **lortiz@unav.es**

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

Nombre y apellidos: **Lourdes Ortiz Hernández**

NIF: **02621826X**



Cargo: Responsable de Bioseguridad
Tel: 948194700
Correo electrónico: lortiz@unav.es

- 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: Resolución del Gobierno de Navarra 0827/2006 de 4 de abril de 2006 y ratificada 24 junio de 2011.

b) Número de referencia del expediente: A/ES/05/I-09 (NCB-3) y A/ES/05/I-10 (NCB-2)

II. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD:

- 1) Finalidad de la actividad:

El objetivo de la actividad es el diseño de vacunas para proteger frente a la infección respiratoria causada por el coronavirus humano SARS-CoV 2. Estas vacunas están basadas en péptidos desarrollados en nuestro laboratorio.

Para alcanzar este objetivo utilizarán ratones transgénicos hCAE2, susceptibles a la infección Viral por el coronavirus SARS-CoV-2, en los que se ensayará la inmunogenicidad de las vacunas y su capacidad de proteger frente a la infección por este virus..

Estos ratones están modificados genéticamente para expresar el transgén que codifica el receptor humano hACE2. Los ratones transgénicos B6.Cg-Tg(K18-ACE2)2PrImn/J (Stock No. 034860). serán inmunizados con las vacunas y posteriormente serán inoculados con el

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.



virus silvestre SARS Cov-2 obtenido en el CIMA en mayo de 2020 a partir de un paciente (aislado NAVARRA-2473).

El OMG que se va a utilizar es un ratón transgénico comercial.

- ORGANISMO DONANTE: Homo Sapiens. Secuencia que codifica el receptor humano ACE2
- ORGANISMO RECEPTOR: Mus Musculus
- ORGANISMO MODIFICADO RESULTANTE: Ratón Transgénico B6.Cg-Tg(K18-ACE2)2Prlmn/J

Es un OMG comercial descrito en la siguiente publicación.

McCray PB Jr, Pewe L, Wohlford-Lenane C, et al. Lethal infection of K18-hACE2 mice infected with severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J Virol.* 2007;81(2):813-821. doi:10.1128/JVI.02012-06

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

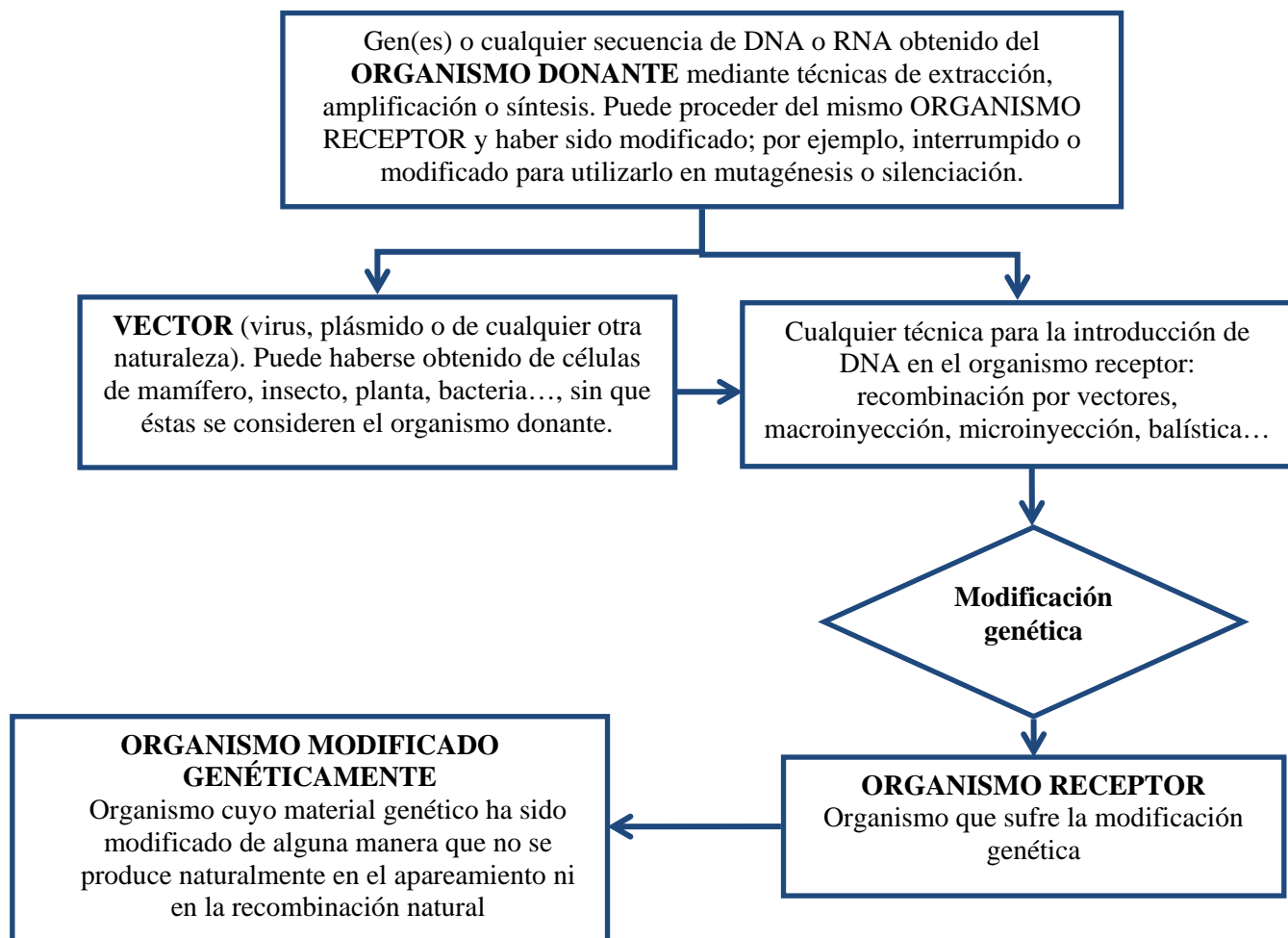
Tipo 2

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: **Mus Musculus**

2) Taxonomía:

Nombre común: Ratón

3) Descripción de los métodos de identificación y aislamiento.

a) Técnicas de aislamiento:

b) Técnicas de identificación:

c) Marcadores genéticos:

d) Marcadores fenotípicos:

e) Estabilidad genética:

4) Posibles modificaciones genéticas anteriores:

5) ¿Se considera patógeno el organismo receptor?

SI NO

6) 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:

7) 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.*):

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:

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



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

10) 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?:

En caso afirmativo:

b) Capacidad de crear estructuras de resistencia o letargo:

- | | | |
|------|----------------------------|--------------------------|
| i) | esporas | <input type="checkbox"/> |
| ii) | endosporas | <input type="checkbox"/> |
| iii) | quistes | <input type="checkbox"/> |
| iv) | esclerocios | <input type="checkbox"/> |
| v) | esporas asexuales (hongos) | <input type="checkbox"/> |
| vi) | esporas sexuales (hongos) | <input type="checkbox"/> |
| vii) | otros, especifíquese | |

c) Otros factores que afectan la capacidad de supervivencia:

d) Posibles nichos ecológicos:

e) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:

11) Efectos posibles sobre el medio ambiente:

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

b) Interacciones con otros organismos y efectos sobre éstos:

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

13) Hábitat natural del organismo:



IV. INFORMACIÓN RELATIVA AL ORGANISMO DONANTE

1) Nombre científico: **Homo Sapiens**

Taxonomía:

Nombre común: **Humano**

2) Tipo de material genético obtenido del organismo donante:

3) Método de obtención:

a) Extracción

b) PCR

c) Síntesis *in Vitro*

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

La proteína codificada por el gen ACE2 es la puerta de entrada para la infección por algunos coronavirus incluyéndose el SARS-CoV-2.

5) ¿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?

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

NO

6) ¿Intercambian los organismos donante y receptor material genético de forma natural? **NO**



V. INFORMACIÓN RELATIVA A LA MODIFICACIÓN GENÉTICA

1) Tipo de modificación genética:

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

Finalidad de la modificación genética: [Modificar el ratón para hacerlo susceptible a algunos coronavirus incluyéndose el SARS-CoV-2.](#)

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

[McCray PB Jr, Pewe L, Wohlford-Lenane C, et al. Lethal infection of K18-hACE2 mice infected with severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J Virol.* 2007;81\(2\):813-821. doi:10.1128/JVI.02012-06.](#)

3) ¿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?

4) Información del inserto:

a) Dimensiones del inserto, mapa de restricción y secuencia:

El inserto contiene la secuencia codificante de hACE2 (CDS), clonado en una construcción que contenía regiones genómicas 5' y 3' del gen K18 humano. La región genómica K18 5' consta de una secuencia genómica aguas arriba de 2,5 kb, el promotor y el primer intrón del gen K18 humano, mientras que la región K18 3' consta del exón 6, el intrón 6, el exón 7 y ~300 pb. de la UTR 3' del gen K18 humano, incluida la señal poli (A) de K18. Inmediatamente aguas arriba del codón de inicio hACE2 hay una secuencia potenciadora de la traducción (TE) del virus del mosaico de la alfalfa.

b) Origen y función específica de cada parte del inserto:

La secuencia codificante de hACE2 es aquella correspondiente a la proteína que se quiere expresar. Las regiones correspondientes al gen K18 humano son necesarias para impulsar la expresión específica de ACE2 en células epiteliales. La secuencia del virus del mosaico de la alfalfa tiene como función potenciar la traducción (TE)

c) Descripción del método utilizado para la transformación:

Se realizó mediante inyección en los pronúcleos.

d) Información sobre los genes estructurales presentes en el inserto:

La secuencia codificante del gen hACE2 es la responsable de la expresión de la proteína utilizada por diferentes coronavirus como puerta de entrada a las células que infectan.

e) Información sobre los elementos reguladores presentes en el inserto:

Las regiones correspondientes al gen K18 humano son necesarias para impulsar la expresión específica de ACE2 en células epiteliales. La secuencia del virus del mosaico de la alfalfa tiene como función potenciar la traducción (TE)

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.



INFORMACIÓN RELATIVA AL ORGANISMO MODIFICADO GENÉTICAMENTE

El OMG utilizado es un ratón comercial transgénico para ACE2 humano, B6.Cg-Tg(K18-ACE2)2PrImn/J (Stock No. 034860). La generación del ratón está descrita: McCray PB Jr, Pewe L, Wohlford-Lenane C, et al. Lethal infection of K18-hACE2 mice infected with severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J Virol.* 2007;81(2):813-821. doi:10.1128/JVI.02012-06

- 1) Estado y expresión del material genético introducido: ¿Es un plásmido libre?

En caso afirmativo:

- i) Número de copias:
ii) ¿El plásmido recuperado corresponde al construido?

- a) ¿Está integrado en los cromosomas nucleares?:

En caso afirmativo:

- i) número de copias:
ii) localización cromosómica:
iii) secuencias colindantes
iv) ¿La inserción activa o inactiva la expresión de otros genes?:

- b) Si se trata de un virus:

- i) La inserción es específica
ii) La inserción se produce al azar
iii) Existe la posibilidad de formación de partículas víricas

- c) 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? En caso afirmativo, especifíquese:

No

b) ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta al modo o tasa de reproducción? En caso afirmativo, especifíquese:

No

c) ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad para el hombre, plantas o animales? En caso afirmativo, especificar:

No

d) ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta a los posibles efectos sobre el medio ambiente? En caso afirmativo, especifíquese:

No

e) ¿Es diferente el OMG en cuanto a las características nutricionales? En caso afirmativo, especifíquese:

No

f) Marcadores específicos del OMG:

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

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

5) Descripción de métodos de identificación y aislamiento empleados:

a) Técnicas utilizadas para la identificación del OMG:

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



VI. 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:
- b) Número de plantas:
- c) Número de animales:

En cada ensayo de patogenicidad y protección se utilizarán unos 30 ratones B6.Cg-Tg(K18-ACE2)2PrImn/J. Estos experimentos incluyen grupos control de ratones sin tratar y ratones que han recibido únicamente los adyuvantes que acompañan a las vacunas, así como los grupos experimentales con las diferentes variantes de vacunas.

3) Periodo previsto para la actividad de utilización confinada:

Junio 2021- Mayo 2025

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

La finalidad de la utilización de estos ratones es identificar la capacidad de diferentes vacunas basadas en péptidos sintéticos (diseñadas a partir de secuencias obtenidas de proteínas de SARS-CoV-2), administradas para conferir protección frente a la infección por SARS-CoV-2. Se espera obtener información sobre la potencia inmunogénica de las vacunas y su poder neutralizante, reflejada en parámetros como la supervivencia de los animales y la carga viral observada una semana después de la inoculación del virus.



- 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:

El OMG utilizado es un ratón comercial transgénico para ACE2 humano, B6.Cg-Tg(K18-ACE2)2Pr1mn/J (Stock No. 034860) que se obtiene comercialmente de The Jackson Laboratory (EE.UU.) empresa especializada en la generación y comercialización de animales de laboratorio

- 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*):

El tipo de transporte, manejo y embalaje, documentación de acompañamiento e identificación seguirán la legislación internacional y vigente para el transporte de animales modificado genéticamente.

- 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*):

Los ratones se manejarán inicialmente durante la fase de vacunación en el animalario en una zona con nivel de seguridad biológica 2 (A/ES/05/I-10), de acuerdo a la reglamentación correspondiente a esta instalación. Tras cinco semanas los animales pasarán a otra zona del animalario con instalaciones de nivel de seguridad biológica 3 (A/ES/05/I-09), donde se realizará la inoculación de SARS-CoV-2 (10⁵ pfu/ratón), y serán manejados con procedimientos acordes al nivel de esta segunda instalación. Así, todas las manipulaciones (inoculación, extracción de órganos, necropsias) se realizarán en campanas de bioseguridad IIA situadas dentro del laboratorio de nivel de biocontención tipo 3. Los animales infectados se mantendrán en jaulas ventiladas en presión negativa con entrada y salida a través de

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) n° 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) n° 1255/97.
- **Reglamento (CE) n° 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/>



filtros HEPA. La manipulación se realizará siempre por personal especializado y entrenado para el trabajo con este tipo de virus.

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

El Laboratorio NCB-3 cuenta con impulsión y extracción de aire controladas para proporcionar gradiente de presión negativa. Los sistemas de climatización están dotados con filtros HEPA tanto al interior como al exterior. Antesala y vestuario (con ducha) para la salida de la barrera de contención y colocación vestimenta específica de uso en la sala. Los ratones se estabulan en jaulas ventiladas en presión negativa con entrada y salida a través de filtros HEPA. Campana de bioseguridad IIA para las manipulaciones. Salida de materiales (jaulas, cama, residuos, animales) a través de autoclave de doble puerta. Los materiales no autoclavables salen por sistema de esterilización química (SAS) de doble puerta.

La zona del animalario de NCB-2 cuenta también con estabulación en jaulas ventiladas en presión negativa con entrada y salida a través de filtros HEPA. Campana de bioseguridad IIA para las manipulaciones. Salida de materiales (jaulas, cama, residuos, animales) a través de autoclave de doble puerta. Los materiales no autoclavables salen por sistema de esterilización química (SAS) de doble puerta (Peróxido de Hidrogeno /Ácido Peracético).

VII. INFORMACIONES ADICIONALES RELATIVAS A LA UBICACIÓN DE LA INSTALACIÓN

- 1) Proximidad a fuentes de peligro potenciales:

NO. Instalaciones ubicadas en la planta sótano del CIMA, alejadas de las zonas de tránsito público.

- 2) Descripción de las condiciones climáticas predominantes:

Condiciones ambientales controladas según legislación de protección de animales de experimentación. T^a: 20-24 °C, Humedad relativa: 40-70%

- 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:



El laboratorio de Nivel de contención Biológica 3, A/ES/05/I-09 autorizado por el gobierno de Navarra el 4 de abril de 2006 y ratificada 24 junio de 2011. Consta de dos secciones independientes, una de laboratorio general y la otra destinada para la estabulación de animales. En este caso se utilizarán las dos secciones. Ambas están comunicadas entre sí.

La zona de estabulación de animales en Nivel de Contención 2 está Notificada con número de expediente A/ES/05/I-10.

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

- 1) Adopción de las Buenas Prácticas de Laboratorio:

Las normas básicas de bioseguridad a seguir son las recogidas en el manual de bioseguridad del P3.

- 2) Formación del personal adscrito:

El personal adscrito ha sido formado antes de iniciar la actividad mediante una sesión de formación sobre Bioseguridad en contención 3 en el laboratorio y animalario específico.

- 3) Programas de limpieza/desinfección/descontaminación:

Se dispone de personal entrenado específico para la limpieza y desinfección del área NCB-3 y NCB-2. Además se dispone de personal técnico de animales entrenado y acreditado para trabajar en ambos niveles de contención.

- 4) Programas de mantenimiento de aparatos para el confinamiento:

Llevado a cabo por el personal de mantenimiento 24 horas /365 días año y la empresa LATE.

- 5) Programas de inspección y control del confinamiento:

Llevado a cabo por el responsable de Bioseguridad del centro.

IX. GESTIÓN E INACTIVACIÓN DE RESIDUOS

- 1) Encargado de la gestión de residuos:



- a) gestión interna: SÍ NO
- b) gestión por una empresa externa: SÍ NO

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

SCRL CONSEUR- La Rioja. Polígono industrial La Variante, Parcela 25. LARDERO.

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

IN SITU: Todo el material sólido se eliminará en contenedores herméticos a los que se someterá a un tratamiento químico superficial (Ciclo de desinfección con nebulización de Peróxido de hidrógeno y Ácido Peracético) mediante un SAS. Dichos contenedores son gestionados por la empresa externa autorizada.

Biotrex R para residuos clínicos biocontaminantes.

Contenedor dotado de sistema de cierre patentado con 40 arpones de cierre independientes protegido por cinturón interior para protección de impactos.

Sistema de encaje troncocónico que facilita el encaje de tapa y cuerpo. Modelo patentado.

Presentación, 60 litros.



- El residuo líquido recibirá una primera desactivación con germicidas, a base de compuestos de amonio cuaternario (limoseptic al 1%, Virkon, u otros de los recomendados por el ministerio de sanidadⁱ), antes de ser eliminadas por los desagües de la instalación. La instalación dispone de un sistema de tratamiento de hipercloración de aguas residuales antes de ser vertida al colector general. Se adjunta esquema del sistema de vertido y explicaciones del Fabricante.



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

1) Condiciones en las que podría producirse un accidente:

Indicadas en el plan de evacuación del centro.

2) Equipamiento de seguridad (especifíquese):

- El acceso al laboratorio es restringido por tarjeta.
- El laboratorio se encuentre en depresión respecto a las zonas contiguas, ésta se consigue tras sucesivas caídas de presión en cada una de las esclusas de acceso al laboratorio de contención.
- Cuentan con una ducha de descontaminación en una esclusa para la salida de la barrera de contención.
- Para la manipulación de agentes biológicos se dispone de una cabina de seguridad biológica.
- Dispone de autoclave y de SAS.
- Los residuos líquidos son tratados en un sistema de tratamiento de aguas antes de su vertido al exterior.
- Existe un control desde el exterior mediante cámara de video vigilancia y de un teléfono.
- Disponen de un botiquín dentro del laboratorio.

3) Descripción de la información suministrada a los trabajadores:

Todos los trabajadores recibirán por escrito el Plan de Acogida al CIMA y formación específica para el trabajo en condiciones P3

4) Planes de emergencia:

Ante accidentes derivados de la actividad se tomarán las siguientes medidas

Avisar al resto del personal e impedir el acceso al área.



Avisar (por orden):

- al Responsable de Bioseguridad del Centro
- al Responsable de Seguridad del Animalario

En la desinfección, seguir las siguientes normas:

Derrame accidental:

- Cubrir los derrames con paños adsorbentes que hay en el local.
- Rociar abundantemente con Germicida,
- Desechar todo en un contenedor de residuos biológicos, cerrarlo herméticamente y rociar el contenedor por fuera con un germicida.

Exposición a agujas o material punzante, cortante o mordeduras de animales.

- Lavar cuidadosamente la zona herida con agua corriente sin restregar
 - Dejar manar la sangre durante 2-3 minutos (inducir el sangrado)
 - Desinfectar la herida con povidona yodada (u otro desinfectante)
 - Cubrir la herida con un apósito impermeable
 - Acudir al Servicio de urgencias de la Clínica Universidad de Navarra.
-



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

Nº de Notificación:

I. RESPONSABLES DE LA ACTIVIDAD

- 1) Entidad :
Nombre: FUNDACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN MÉDICA APLICADA
Dirección postal: Avda de Pio XII, 55 E-31008. Pamplona. España

- 2) Representante legal de la entidad
Nombre y apellidos: María Mora Catalá
NIF: 48345993Q
Cargo: Gerente
Tel: 34 948 194700

Correo electrónico: mmora@unav.es

- 3) Responsable científico de la actividad
Nombre y apellidos: Pablo Sarobe Ugarriza.
Cargo: Investigador
Tel: 948194700
Fax: 948194717
Correo electrónico: psarobe@unav.es

- 4) Responsable de bioseguridad de la instalación donde se realizará la actividad
Nombre y apellidos: Lourdes Ortiz Hernandez
NIF: 02621826X
Cargo: Responsable de bioseguridad
Tel: 948194700 X5010
Fax:
Correo electrónico: lortiz@unav.es

- 5) Indicar cuál de los anteriores actuará como persona de contacto. Lourdes Ortiz Hernández

II.



II. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD.

(En el caso de que se notifiquen varias actividades de tipo 1, deberá rellenarse este apartado y adjuntar un cuadro resumen en que se recojan todas las actividades, según el modelo que figura en el anexo).

Objetivo de la actividad:

El objetivo de la actividad es el diseño de vacunas para proteger frente a la infección respiratoria causada por el coronavirus humano SARS-CoV 2. Estas vacunas están basadas en péptidos desarrollados en nuestro laboratorio.

Para alcanzar este objetivo utilizarán ratones transgénicos hCAE2, susceptibles a la infección Viral por el coronavirus SARS-CoV-2, en los que se ensayará la inmunogenicidad de las vacunas y su capacidad de proteger frente a la infección por este virus.

Estos ratones están modificados genéticamente para expresar el transgén que codifica el receptor humano hACE2. Los ratones transgénicos B6.Cg-Tg(K18-ACE2)2PrImn/J (Stock No. 034860). serán inmunizados con las vacunas y posteriormente serán inoculados con el virus silvestre SARS Cov-2 obtenido en el CIMA en mayo de 2020 a partir de un paciente (aislado NAVARRA-2473).

El OMG que se va a utilizar es un ratón transgénico comercial.

Duración prevista de la actividad: 4 años

(Debe concretarse lo más posible la duración de la actividad (por ejemplo, teniendo en consideración la duración de la financiación de los proyectos a los que están asociados las actividades con los OMG).

III. EVALUACIÓN DE RIESGO

(Para llevar a cabo dicha evaluación se tendrá en cuenta el procedimiento establecido en 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 de riesgo).

(En el caso de actividades de tipo 1 se incluirá en este apartado un listado de los principales organismos y material genético utilizados (organismos receptores, organismos donantes, insertos, vectores y organismos modificados genéticamente resultantes), así como la evaluación del riesgo para la salud humana y el medio ambiente de los mismos).

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

EL OMG en si, el ratón transgénico K18-hACE2 no tiene propiedades nocivas.

(Desarrollar con la extensión que proceda, siguiendo el orden propuesto).

- a) Organismo receptor. Ratón
- b) Organismo donante. Humano



- c) Inseto/Vector: Descritos en McCray PB Jr, Pewe L, Wohlford-Lenane C, et al. Lethal infection of K18-hACE2 mice infected with severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J Virol.* 2007;81(2):813-821. doi:10.1128/JVI.02012-06.
- d) Organismo modificado genéticamente resultante. B6.Cg-Tg(K18-ACE2)2PrImn/J (Stock No. 034860) Jackson Laboratories.
- e) Efectos para la salud humana y la sanidad animal y vegetal.
- El SARS CoV2 virus es patógeno para los humanos provocando la enfermedad COVID 19. Los ratones en general no se infectan con el SARS CoV 2 ya que carecen de la proteína ACE 2. Los ratones K18-hACE2 desarrollan una infección rápidamente letal después de la inoculación intranasal con una cepa humana de SARS-CoV. En los días 3 a 5 después de la infección, los ratones K18-hACE2 comienzan a perder peso y se vuelven letárgicos con dificultad para respirar. Los ratones de esta línea están moribundos 4 días después de la inoculación y todos los ratones mueren 7 días después de la infección.
- f) Efectos para el medio ambiente.
- Es muy improbable que se liberen 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
- Tipo 2
- Tipo 3
- Tipo 4

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 confinada la consideramos de tipo 3 no por el OMG en si, que es un ratón transgénico comercial que no requiere medidas de contención de este nivel. Dicho OMG será infectado intranasalmente con un aislado del SARS CoV2 silvestre, agente patógeno del Grupo 3. Por este motivo procederemos a tomar medidas



máximas de contención para proteger en primer lugar a todo el personal involucrada en esta actividad y para evitar la liberación tanto del OMG infectado como del agente biológico silvestre.

Medidas de confinamiento

- Zona de trabajo separada del resto de las actividades del edificio.
- Señal de peligro biológico y demás advertencias en el acceso a la zona de trabajo.
- Sistema de presiones negativas escaladas desde la esclusa de entrada hasta el laboratorio P3 donde se alcanza una Presión Negativa de – 50 Pa.
- Sistema de recirculación de aire con filtros HEPA HF14 de salida.
- Sistema de comunicación con el exterior mediante teléfono fijo.
- Posibilidad de precintar la zona para su desinfección.
- Suelos, paredes y techos impermeables al agua, fáciles de limpiar (sin rendijas, con uniones selladas, sin esquinas).
- Superficies de trabajo impermeables, sin esquinas, resistentes a ácidos, álcalis, disolventes, desinfectantes y al calor moderado.
- Laboratorio con equipo propio.
- Laboratorio con sistema de iluminación de emergencia y grupo electrógeno de reserva para varios equipos.
- Información, formación y capacitación de los trabajadores sobre: riesgo biológico y su control, procedimientos de trabajo, actuación en caso de accidente o de emergencia.
- Acceso restringido a la zona de trabajo. Sólo personal autorizado.
- Procedimientos de trabajo y uso de medidas técnicas para evitar minimizar la liberación de agentes biológicos en el lugar de trabajo.
- Realización de operaciones generadoras de aerosoles contaminados en cabina de seguridad biológica.
- Medidas seguras para la recepción, manipulación y el almacenamiento de muestras.
- Traslado y transporte de muestras en contenedores adecuados.
- Programa de mantenimiento preventivo de las instalaciones y del funcionamiento de los equipos (cabinas de seguridad biológica, autoclave, filtros, test de integridad) a través de la empresa LATE. Dicha empresa, se encarga de la revisión de la cabina de seguridad biológica y del sistema de estabulación (motor y rack), de los filtros (entrada, salida de aire de la habitación y los de los motores del sistema de estabulación) de la se encarga mantenimiento, mantenimiento también se encarga del sistema de efluentes. El mantenimiento del autoclave y del SAS lo hace Matachana.
- Procedimientos para el control eficiente de vectores (insectos, roedores).



- Procedimiento de actuación sobre mordeduras de roedores infectados con el virus.
- Procedimientos de desinfección (por escrito) de superficies, equipos y material reutilizable.
- Sistema de estabulación en rack ventilado en presión negativa con capacidad para 122 cubetas. Marca Tecniplast, modelo Blue Line.
- Estación de cambio de animales de seguridad biológica, Marca Tecniplast. Modelo BS48.
- Excrementos y camas de animales son manipulados dentro de las CBS y autoclavados antes de salir de la barrera de contención.

2. Los profesionales van equipados con Equipos de protección personal que garanticen una **elevada protección de las vías respiratoria y cutánea**. El personal utilizará en todo momento el siguiente material de protección.

- **Guantes internos:** encintándolos por encima de las muñecas, pero sin que la cinta adhesiva toque las mangas de la casaca
- **Gorro:** tapando completamente el pelo y por debajo de las orejas
- **Mascarilla:** Tipo FFP3, sin válvula de exhalación, una goma por encima de las orejas y la otra por debajo, asegurándose de que los bordes de la mascarilla cierran perfectamente la zona buconasal.
- **Mono desechable con** capucha contra partículas y aerosoles ligeros tipo 5B, calzas ajustables con el mismo nivel de protección.
- **Ropa interior** desechable.
- **Gafas:** de protección antisalpicaduras.
- **Guantes externos:** por encima de las mangas del mono y sin encintar.
- **Será obligatoria la ducha para salir de la barrera de contención**
- Cualquier operación susceptible de generar aerosoles (apertura de tubos después de la centrifugación o agitación, pipeteado de suspensiones, apertura de liofilizados, transferencia de inóculos, siembras, etc..) se realiza en cabina de seguridad biológica de clase IIA.
- Se dispone de todos los equipos necesarios dentro de la zona P3 (incubadores, centrífuga, frigorífico, autoclave por calor y sistema de desinfección mediante peróxido de hidrogeno.
- La desinfección de superficies, equipos, cabinas, se lleva a cabo con etanol de 70º, hipoclorito de sodio al 2%, o desinfectantes a base de compuestos de amonio cuaternario (limoseptic al 1%, Virkon, u otros de los recomendados por el ministerio de sanidad¹).
- Derrames: cubrir los derrames con la sustancia desinfectante. Dejar actuar durante 15 minutos antes de limpiar. Desechar todos los residuos en un



contenedor de residuos infecciosos (biosanitario tipo III) identificado adecuadamente.

- Se dispone del Procedimiento Normalizado de Trabajo. Se exige que los usuarios lo lean y lo firmen. Esta información se facilita a todos los usuarios (se exige firma para tener constancia que la conocen).
 - Se lleva a cabo una descontaminación del material infeccioso antes de salir de la zona de trabajo. Existe también un plan de gestión de residuos aprobado por el Gobierno de Navarra, por el que los residuos biopeligrosos y los punzantes se desechan en contenedores adecuados que gestiona la empresa CONSEUR.
 - El Servicio Mancomunado de Prevención de Riesgos Laborales de la Universidad ha realizado la evaluación de riesgos del Laboratorio P3 del CIMA.
 - Los investigadores han recibido formación e información sobre los riesgos de sus puestos de trabajo y las medidas preventivas a adoptar, así como sobre los planes de emergencia del centro de trabajo.
 - El laboratorio dispone de responsable de bioseguridad.
 - Los profesionales expuestos han acudido a los reconocimientos médicos de Vigilancia de la Salud en el Área de Medicina del Trabajo, donde se ha valorado su estado de salud. Tendrán a partir del comienzo de la actividad un seguimiento programado.
 - Todos los profesionales que participan en el proyecto, tanto los investigadores como el personal técnico del animalario que se encarga de la estabulación de los animales, han sido inmunizados con la Vacuna contra el SARS CoV 2.
- b) Concentración y escala utilizadas Se inocularán intranasalmente. 10^4 - 10^5 PFU de SARS-CoV2 a cada animal.
- c) Condiciones de cultivo (se tendrá en cuenta el entorno potencialmente expuesto, la presencia de especies susceptibles, supervivencia del OMG y efectos sobre el entorno físico). No procede,
- 4) Determinación de la clasificación y medidas de confinamiento definitivas y confirmación de su idoneidad:

La actividad confinada es del tipo 3 y se llevara a cabo en la instalación de Nivel de contención Biológica 3, A/ES/05/I-09 autorizado por el gobierno de Navarra el: 4 de abril de 2006 y ratificada 24 junio de 2011. Consta de dos secciones independientes, una de laboratorio general y la otra destinada para la estabulación de animales. En este caso se utilizarán las dos secciones. Ambas están comunicadas entre sí.



La característica principal de este laboratorio es que posee un grado de estanqueidad total para evitar la liberación al medio ambiente de cualquier agente patógeno sobre el que se esté llevando a cabo alguna investigación.

Determinación del riesgo en el caso de que se produzca una liberación accidental: Todo el personal involucrado

(Desarrollar con la extensión que proceda, siguiendo el orden propuesto).

- a) Información adicional relativa a la ubicación de la instalación (proximidad a fuentes de peligro potenciales, condiciones climáticas predominantes, etc.)
La instalación está localizada en la planta sótano del edificio.
- b) Condiciones en las que podría producirse un accidente.
Aunque sería poco probable. Los accidentes a tener en cuenta serían un derrame accidental de poco volumen y alguna mordedura de animal a los usuarios. Se describen más abajo los procedimientos de actuación.
- c) Equipos de seguridad, sistemas de alarma y métodos de confinamiento adicionales.
Ya descritos en el punto anterior.
- d) Planes de emergencia.

Ante accidentes derivados de la actividad se tomarán las siguientes medidas:

- Avisar al resto del personal e impedir el acceso al área.
- Avisar (por orden):
 1. Responsable de Bioseguridad del Centro
 2. Responsable de Seguridad del Animalario

Normas básicas de actuación ante un derrame accidental:

- Cubrir los derrames con paños adsorbentes que hay en el local.
- Rociar abundantemente con Germicida,
- Desechar todo en un contenedor de residuos biológicos, cerrarlo herméticamente y rociar el contenedor por fuera con un germicida.

Exposición a agujas o material punzante o mordeduras de animales.

- Lavar cuidadosamente la zona herida con agua corriente sin restregar
- Dejar manar la sangre durante 2-3 minutos (inducir el sangrado)



- Desinfectar la herida con povidona yodada (u otro desinfectante)
 - Cubrir la herida con un apósito impermeable
 - Acudir al hospital para evaluación
-