



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

Nº de Notificación:

I. INFORMACIÓN GENERAL

1) Responsables de la actividad

a) Entidad

Nombre: [UNIVERSIDAD DE NAVARRA](#)

Dirección postal: [Campus Universitario s/n, 31009 Pamplona \(Navarra\)](#)

b) Representante legal de la entidad

Nombre y apellidos: [Javier Mata Rodríguez](#)

NIF: [31XXXXV](#)

Cargo: [Director del Servicio de Gestión de la Investigación](#)

Tel: [948176748](#)

Fax:

Correo electrónico: jmata@unav.es

c) Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos: [Raquel Conde-Álvarez](#)

NIF: [4XXXXX-X](#)

Cargo: [Profesor Titular. Universidad de Navarra](#)

Tel: [948425600](#)

Fax:

Correo electrónico: rconde@unav.es

Nombre y apellidos: [Amaia Zúñiga Ripa](#)

NIF: [4XXXXXR](#)

Cargo: [Investigador. Universidad de Navarra](#)

Tel: [948425600](#)

Fax:

Correo electrónico: azuniga@unav.es

Nombre y apellidos: [Maite Iriarte Cilveti](#)

NIF: [1XXXXXP](#)

Cargo: [Profesor Catedrática. Universidad de Navarra](#)

Tel: [948425600](#)

Fax:

Correo electrónico: miriart@unav.es



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

Nombre y apellidos: [Raquel Conde-Álvarez](#)
NIF: [4XXXXX-X](#)
Cargo: [Profesor Titular. Universidad de Navarra](#)
Tel: : [948425600](#)
Fax:
Correo electrónico: rconde@unav.es

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

[Maite Iriarte](#)

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

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

-Nombre de la convocatoria: [Proyectos de I+D+i Retos Investigación. 2019](#)

-Referencia del Proyecto y referencia IP del mismo: [Ovine brucellosis: *B. ovis* and *B. melitensis* safe vaccines and DIVA strategies \(Bru-DISafe\). PID2019-107601RA-C32](#)

IP por la Universidad de Navarra: [Raquel Conde-Alvarez.](#)

-Organismo financiador: [Ministerio de Ciencia. Innovación y Universidades](#)

- Nombre de la convocatoria: [European Union HORIZON-CL6-2021-FARM2FORK-01-06](#)

- Referencia del Proyecto y referencia IP del mismo: [REPRODIVAC: Next-generation vaccines and diagnostics to prevent livestock reproductive diseases of worldwide impact](#)
IP del grupo: [Raquel Conde-Alvarez.](#)

- Organismo Financiador: [European Union](#)

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: [23-10-2018](#)

b) Número de referencia del expediente: [A/ES/18/I-22](#)

II. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD:

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.



Marcaje de cepas de *B. suis* para ser utilizadas en experimentos donde se evalúen candidatos vacunales.

Manipulación e inoculación en animales experimentales de varios OMG de tipo 3 derivados de *Brucella*

1) Finalidad de la actividad:

Obtención de vacunas vivas atenuadas frente a la brucelosis animal

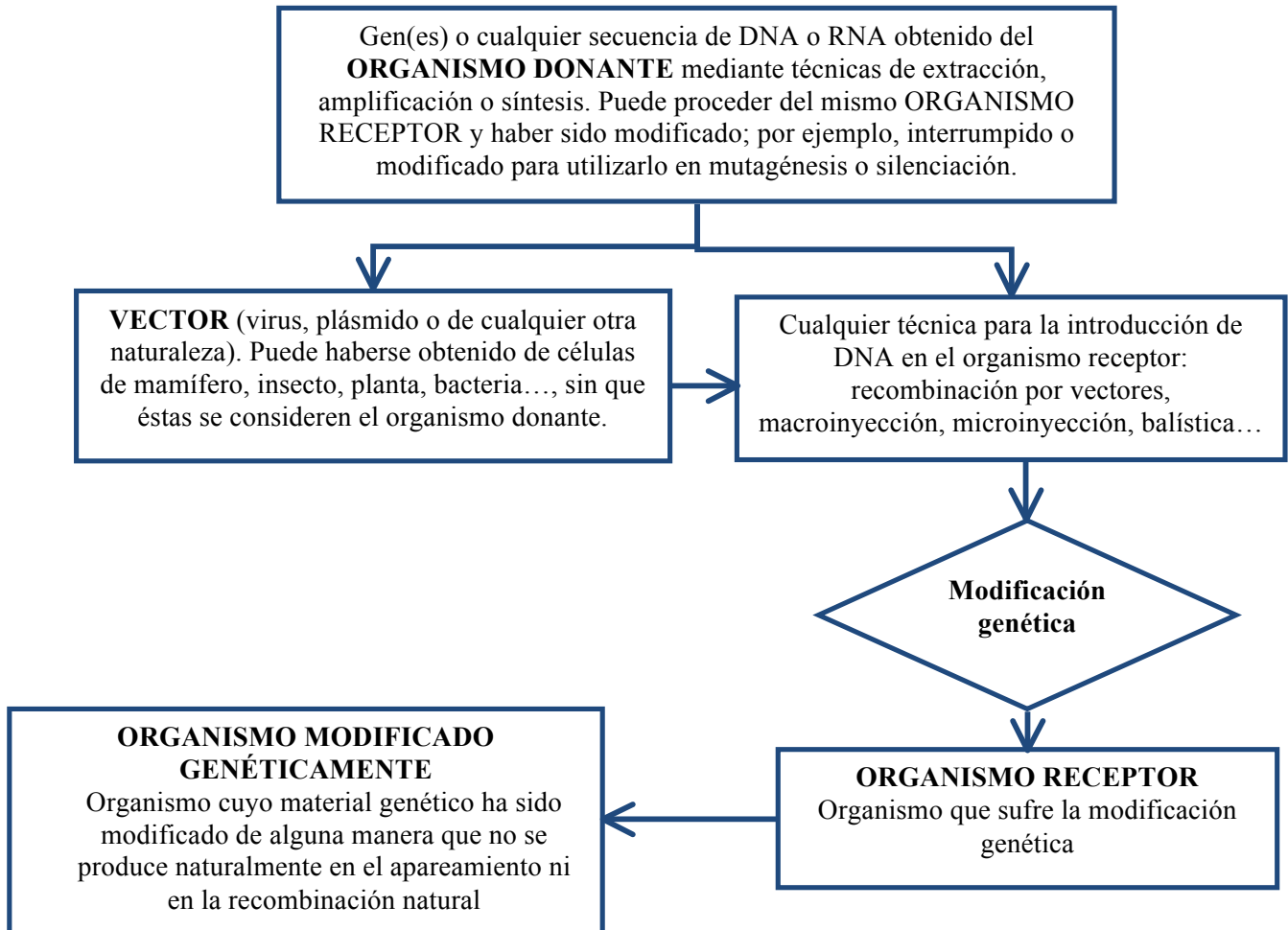
2) Clasificación de la actividad:

(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 3 X



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: *Brucella suis*

Taxonomía: genero *Brucella* familia Brucellaceae

Nombre común: *B. suis*

2) Descripción de los métodos de identificación y aislamiento.

a) Técnicas de aislamiento:

Las cepas de *B. suis*, se conservan liofilizadas en doble ampolla, bien a -80°C en crioviales con crioprotectores (glicerol, leche descremada o suero fetal-DMSO), en un congelador situado en una zona P3. Se aíslan en placas de medio de cultivo rico (Luria-Bertani Broth, Blood Agar Base, o trypticasa soja) que se incuban a 37°C durante 2-5 días.

b) Técnicas de identificación:

Identificación convencional: Ureasa, oxidasa, aglutinación con acriflavina, tinción con cristal violeta-oxalato, aglutinación con sueros monoespecíficos anti-A y anti-M, sensibilidad a colorantes (tionina, fucsina y safranina), antibióticos (penicilina, estreptomicina y polimixina B) y a los fagos Tb, Wb, Iz y R/C.

c) Marcadores genéticos:

Presencia de la secuencia IS711 o secuencias específicas de especie

d) Marcadores fenotípicos:

Aglutinación con antisueros específicos.

e) Estabilidad genética:

Estables (ausencia de plásmidos u otros elementos genéticos intercambiables con otras bacterias, o entre las propias brucelas).

3) Posibles modificaciones genéticas anteriores:

Sin modificaciones genéticas previas

4) ¿Se considera patógeno el organismo receptor?

SI X

5) 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:



Una dosis alta de este mi microorganismos vivos pueden ser patógenos para seres humanos y animales.

- 6) 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.*):

Brucella suis, (organismo receptor) está clasificada como patógeno tipo 3.

- a) ¿De qué modo se manifiesta la patogenicidad?

En humanos: fiebre, artromialgia, fibromialgia y otros síntomas no específicos

En animales (principalmente rumiantes): aborto y esterilidad.

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

SI NO

Porqué: la bacteria no posee mecanismos de intercambio genético

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

SI

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

Las personas que interviene en el proyecto llevan trabajando con distintas especies del género *Brucella* desde hace décadas, sin haber tenido accidente alguno y están familiarizadas con todos los aspectos relativos a la bioseguridad del patógeno.

- 9) 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?:

Brucella suis no se multiplica fuera de sus huéspedes o de las condiciones de cultivo. Sí es capaz de sobrevivir en el ambiente en determinadas condiciones, pero no de forma indefinida

En caso afirmativo:

- b) 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

c) Otros factores que afectan la capacidad de supervivencia:

Son desfavorables el calor, la exposición a la luz o al sol y la sequedad.

d) Posibles nichos ecológicos:

Ninguno fuera de los huéspedes animales naturales

e) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:

NO se multiplica en ambientes naturales (aparte de sus huéspedes).

10) Efectos posibles sobre el medio ambiente:

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

Ninguno

b) Interacciones con otros organismos y efectos sobre éstos:

Ninguno

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

Brucella suis es una bacteria de distribución mundial que se encuentra habitualmente y de forma natural en suidos silvestres y domésticos (jabalí y cerdo principalmente)

12) Hábitat natural del organismo:

El interior de varios tipos de células (macrófagos, dendríticas, células epiteliales y otras) de sus huéspedes (ver 11).

IV. INFORMACIÓN RELATIVA AL ORGANISMO DONANTE

1) Nombre científico: *Escherichia coli*

Taxonomía: *Enterobacteriaceae* Género: *Escherichia*

Nombre común: *E. coli*



2) Tipo de material genético obtenido del organismo donante:

Plásmido derivado de pUC18R6K

3) Método de obtención:

a) Extracción

b) PCR

c) Síntesis *in Vitro*

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

Confiere resistencia a un antibiótico que no se usa en el tratamiento para brucelosis humana ni para brucelosis animal

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?

No procede, el organismo no es patógeno

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

No procede

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

2) Finalidad de la modificación genética:

Construir cepas de *B. suis* marcadas

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

Introducción del plásmido en *B. suis* por conjugación

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

SÍ X

En caso afirmativo:

a) Tipo e identidad del vector: Plásmido derivado de pUC18R6K

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*):

Plásmido derivado de pUC18R6K

d) Gama de hospedadores del vector:

Enterobacterias

e) Características de la movilidad del vector:

i) factores de movilización

Los vectores son únicamente movilizables entre una bacteria Gram negativa previamente tratada y un *E. coli* específico que contenga el plásmido, únicamente en condiciones óptimas de incubación (37°C) y en condiciones muy específicas que permitan la conjugación

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

No procede



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

Si, pero únicamente en condiciones de movilización muy restringidas y controlables

5) Información del inserto:

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

Se detalla en apartado b)

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

gen de resistencia a un antibiótico

c) Descripción del método utilizado para la transformación:

Plásmido derivado de pUC18R6K se introducirá en *B. suis* por conjugación.

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

Gen que confiere resistencia al antibiótico

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

Ninguno

f) ¿El inserto ha sido secuenciado completamente?

SI

g) ¿Contiene secuencias que no son necesarias para la función deseada? En caso afirmativo, especifíquese.

NO

h) ¿Contiene secuencias cuya función es desconocida? En caso afirmativo, especifíquese.

NO



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?:

Está integrado en el cromosoma de *Brucella*

En caso afirmativo:

i) número de copias: **1**

ii) localización cromosómica: **en un espacio intergénico**

iii) secuencias colindantes: **Las mismas que en el organismo original**

iv) ¿La inserción activa o inactiva la expresión de otros genes?: **NO**

c) Si se trata de un virus: **NO PROCEDE**

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) **X**

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:



B. suis donde se introduce el gen de resistencia se vuelven resistente a un antibiótico que no se usa en el tratamiento ni para brucelosis humana ni para brucelosis animal

- 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:

El OMG(s) es resistente al antibiótico

- 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. Las OMGs resultantes no se pueden multiplicar en el medio ambiente fuera de sus huéspedes naturales o de las condiciones de cultivo. Son desfavorables la exposición a la luz, el sol o la sequedad

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

NO

- f) Marcadores específicos del OMG:

Gen de resistencia al antibiótico

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

Los OMGs resultantes son estables indefinidamente

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

No existe

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

- a) Técnicas utilizadas para la identificación del OMG:

El OMG se puede diferenciar de la cepa parental porque es resistente al antibiótico



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

No se va a liberar al medio ambiente

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: 15 ml (10^9 ufc/ml)
- b) Número de plantas:
- c) Número de animales:

3) Periodo previsto para la actividad de utilización confinada:

2022-2029

(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).

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

Desarrollo de una vacuna eficaz contra la infección por *Brucella*.

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:

Los OMG se han generado o se van a generar en nuestro 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*):

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



No procede

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*):

La manipulación se realizará en una campana de bioseguridad BIO-IIA situada dentro de un laboratorio con biocontención tipo 3 autorizada (A/ES/18/I-22).

La manipulación se realizará siempre por personal especializado y entrenado para el trabajo con este tipo de microorganismos. El cultivo se realizará en 15 ml de medio de cultivo líquido en matraces de 25 ml (por experimento). También se realizarán cultivos en medio sólido (placas de Petri).

La concentración máxima de los cultivos en medio líquidos será de 10^9 ufc/ml.

Las suspensiones bacterianas para la preparación de inóculos vacunales (experimentos en modelo murino) tendrán un volumen total máximo de 15 mL (10^5 UFC/mL), repartidos en tubos de 5mL cada uno. Se inocularán grupos de 5 ratonas BalbC en volúmenes de 0.1 ml.

La vacunación de los ratones de experimentación se realizará por vía intraperitoneal o subcutánea con inóculos de 0.1mL. Se seguirán los mismos protocolos de seguridad que se han seguido en la construcción y manipulación de otras OMGs derivadas de *Brucella* y que ya han recibido la autorización de la CIOMG: A/ES/18/I-22

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

La manipulación se realizará dentro de laboratorio con biocontención tipo 3 autorizada (A/ES/18/I-22). Está dotado de campanas de seguridad biológica de clase II, incubadores, centrifuga, baño, autoclave, con esterilización de ambiente por luz UV. Dispone de sistema de presión negativa y salidas de aire con filtros HEPA.

Existen protocolos de trabajo conocidos por el personal que forma parte del proyecto, protocolos de bioseguridad para el trabajo con *Brucella*, así como protocolo de actuación en caso de accidente. El personal estará provisto de los EPIs adecuados

Existe también un plan de gestión de residuos aprobado por el Gobierno de Navarra.

Tanto los inóculos bacterianos como los animales se manipularán en el interior de la cabina de seguridad biológica. Los animales inoculados con el OMG se ubicarán en un sistema de rack portátil ventilado (Serie Green line) tiene miniaisladores de ratón GM500 que se mantienen individualmente ventilados en presión negativa y dispone de prefiltros y filtros HEPA tanto de entrada como de salida. Es compatible con miniaisladores desechables.

-
- **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/>



Incluye paneles de cerramiento ciclo de luz variable de día / noche. (ref TECNIPLAST GM12TTL)

Los residuos biológicos serán inactivados mediante autoclavado y serán introducidos en cubos de cierre hermético, junto con el material fungible y los cadáveres de los ratones, para su retirada y eliminación por parte de la empresa gestora de residuos autorizada.

El personal que realizará las actividades ha recibido formación específica para trabajar con estos microorganismos y animales y dispone de los EPI adecuados (batas, gorros, calzas, guantes, mascarillas FFP3 y gafas de protección) para desarrollar sus tareas sin riesgo.

Adicionalmente, El Servicio Mancomunado de Prevención de Riesgos Laborales de la Universidad ha realizado la evaluación de riesgos del Departamento de Microbiología de dicha Universidad y del laboratorio de nivel de contención 3.

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.

Los investigadores han realizado los reconocimientos médicos previstos por la ley (art 22. ley 31/1995) y son aptos para los trabajos asignados

VIII. INFORMACIONES ADICIONALES RELATIVAS A LA UBICACIÓN DE LA INSTALACIÓN

1) Proximidad a fuentes de peligro potenciales:

No hay ninguna fuente de peligro potencial en la proximidad

2) Descripción de las condiciones climáticas predominantes:

Condiciones ambientales (temperatura, luz y presión del aire) controladas por un sistema de climatización propio del Laboratorio P3.

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:

Laboratorio P3 (BSL-3). Autorización A/ES/18/I-22

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

El acceso a las instalaciones se realiza mediante autorización expresa por parte de los responsables de la instalación.



La manipulación de los OMG (preparación de inóculos), la vacunación de los ratones con los inóculos de OMG, así como su posterior manipulación (necropsias) y se realizará dentro de cabinas de seguridad biológica en el **Laboratorio P3**.

El acceso al **Laboratorio P3** se realiza a través del paso por diferentes puertas bloqueables con caída secuencial de la presión de modo que tanto el laboratorio queda en depresión respecto a las zonas contiguas. A lo largo de dichas puertas bloqueables los investigadores y técnicos se cambian de ropa, desprendiéndose de su indumentaria habitual y vistiéndose con batas, calzas, gorro y guantes desechables. De igual modo, a la salida de las instalaciones, el personal se deshace de la ropa de trabajo y se viste con su indumentaria habitual. Esta instalación dispone de ducha de seguridad, fuente lavaojos de descontaminación y botiquín de primeros auxilios. La desinfección de los residuos biológicos se realiza mediante autoclavado. Tanto los residuos biológicos como el material fungible contaminado son introducidos en cubos herméticos proporcionados por la empresa gestora de residuos biológicos autorizada.

1) Adopción de las Buenas Prácticas de Laboratorio:

Se seguirán las siguientes normas:

- a) mantener la exposición del lugar de trabajo y del medio ambiente a cualquier organismo modificado genéticamente al nivel más bajo posible en la práctica;
- b) aplicar medidas de control industrial en la fuente y, de ser necesario, completar éstas con vestimenta y equipo personal de protección adecuados;
- c) comprobar y mantener de forma adecuada las medidas y equipos de control;
- d) verificar, cuando proceda, la presencia de organismos de proceso viables fuera del confinamiento físico primario;
- e) proporcionar al personal la formación adecuada;
- f) crear comités y subcomités de seguridad biológica, si es preciso;
- g) formular y aplicar códigos de práctica locales para la seguridad del personal, según las necesidades;
- h) si procede, disponer señales de riesgo biológico;
- i) establecer instalaciones de limpieza y descontaminación para el personal;
- j) llevar los correspondientes registros;
- k) prohibir que se coma, beba, fume, se empleen cosméticos o se almacenen alimentos para el consumo humano en la zona de trabajo;
- l) prohibir pipetear con la boca;
- m) establecer, si procede, protocolos de trabajo por escrito con el fin de garantizar la seguridad;
- n) tener a disposición desinfectantes adecuados y procedimientos específicos de desinfección en caso de que organismos modificados genéticamente se hayan esparcido (por ejemplo, duchas lavaojos);
- o) disponer en caso necesario de un lugar de almacenamiento de total seguridad para equipo y materiales de laboratorio contaminados.

Previo al inicio del trabajo y anualmente, todos los trabajadores serán citados por el Servicio de Prevención de Riesgos Laborales de la Universidad de Navarra para realizar la vigilancia de la salud. Será preceptiva la aptitud médica para continuar con la actividad de



investigación. Esta vigilancia incluirá una serología convencional (rosa de Bengala y, si es positiva, SAT y Coombs). Los resultados se conservarán en un Registro en la Secretaría del Depto. y las muestras de suero se guardan en un contenedor específico dentro del congelador de la Colección de Sueros del Depto. La historia médica laboral de los investigadores se custodia en las instalaciones del Servicio de Prevención.

2) Formación del personal adscrito:

Todo el personal ha recibido la formación necesaria y ha seguido el curso de seguridad en el laboratorio impartido por la Universidad de Navarra
Los manipuladores están capacitados para el uso de animales de experimentación (funciones A, B y C)

Los prescriptivos según la legislación laboral (dar parte al Servicio de Prevención de Riesgos Laborales de la Universidad de Navarra).

3) Programas de limpieza/desinfección/descontaminación:

Al finalizar el experimento, se depositará el material contaminado como puntas de pipeta, asas de siembra desechables, palillos y tubos eppendorf, en un bote con desinfectante (sal de amonio cuaternario), en el interior de la campana, se cierra con su tapa, y después se cierra la campana. Cuando el bote llegue a $\frac{3}{4}$ de su capacidad, se autoclavará y posteriormente se desechará a la instalación de tratamiento de aguas antes de su vertido a la red general. El resto de material, como placas y caldos de cultivo, se depositan directamente en el autoclave del P3 y se marca con la cinta control de autoclavado. El material punzante es introducido en cubos específicos antes de ser autoclavados. Los residuos biológicos inactivados mediante autoclavado serán introducidos en cubos de cierre hermético, junto con el material fungible y los cadáveres de los ratones.

Todo material autoclavado y desinfectado se sacará de la instalación a través del SAS para su retirada y eliminación por parte de la empresa gestora de residuos autorizada.

La persona que ha producido el material contaminado verificará que éste ha sido de hecho autoclavado antes del final de la jornada de trabajo.

Existe la posibilidad de descontaminación ambiental mediante un sistema de desinfección por aerosolización de peróxido de hidrógeno (Equipo Albion BK100M650K).

4) Programas de mantenimiento de aparatos para el confinamiento:

Revisiones anuales de sistema de ventilación y cabinas de seguridad biológica.

La eficacia de los autoclaves se verifica mediante el uso en cada carga de indicadores químicos de esterilización (Thermalog), y mensualmente mediante indicadores biológicos.

5) Programas de inspección y control del confinamiento:



Todos los trabajadores han realizado un curso de formación Seguridad en el Laboratorio que imparte el Servicio de Prevención de Riesgos Laborales.

Se ha suministrado el Manual de Bioseguridad del Laboratorio donde se especifican normas de trabajo, gestión de residuos y normas de actuación en caso de accidente.

Únicamente está permitido el acceso a personas previamente autorizadas: acceso mediante tarjeta.

4) Planes de emergencia:

El Edificio donde está situado el laboratorio de contención 3 dispone de Plan de Emergencia de Autoprotección, anualmente se realizan simulacros de evacuación.

Los edificios cuenta con un plan de actuación en caso de emergencias implantado, que contempla tanto los recursos materiales (sistema de detección, alarma, sistema de extinción de incendios, señalización de rutas de evacuación...) como recursos humanos (jefe de emergencia, centro de control, equipo de primera intervención...).

Están nombrados Equipos de Primera Intervención, sus integrantes han recibido una formación específica acerca de las normas a atender en caso de producirse una emergencia y una formación práctica sobre el uso de los medios de extinción.

Principales riesgos en el laboratorio:

- Aerosoles (riesgo más importante), tras producirse un derrame o una mala praxis.
- Cortes y punciones en el manejo de agujas.



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

Nº de Notificación:

I. RESPONSABLES DE LA ACTIVIDAD

- 1) Entidad
Nombre: [UNIVERSIDAD DE NAVARRA](#)
Dirección postal: [Campus Universitario s/n, 31009 Pamplona \(Navarra\)](#)

- 2) Representante legal de la entidad
Nombre y apellidos: [Javier Mata Rodríguez](#)
NIF: [3XXXXXV](#)
Cargo: [Director del Servicio de Gestión de la Investigación](#)
Tel: [948176748](#)
Fax:
Correo electrónico:

- 3) Responsable científico de la actividad
Nombre y apellidos: [Raquel Conde-Álvarez](#)
NIF: [4XXXXX-X](#)
Cargo: [Profesor Titular. Universidad de Navarra](#)
Tel: [948425600](#)
Fax:
Correo electrónico: rconde@unav.es

Responsable científico de la actividad
Nombre y apellidos: [Amaia Zúñiga Ripa](#)
NIF: [4XXXXXR](#)
Cargo: [Investigador. Universidad de Navarra](#)
Tel: [948425600](#)
Fax:
Correo electrónico: azuniga@unav.es

Responsable científico de la actividad
Nombre y apellidos: [Maite Iriarte Cilveti](#)
NIF: [1XXXXXP](#)
Cargo: [Profesor Catedrático. Universidad de Navarra](#)
Tel: [948425600](#)
Fax:



Correo electrónico: miriart@unav.es

- 4) Responsable de bioseguridad de la instalación donde se realizará la actividad
Nombre y apellidos: [Raquel Conde Álvarez](#)
NIF: [4XXXX-X](#)
Cargo: [Profesor Titular. Universidad de Navarra](#)
Tel: [948425600](#)
Fax:
Correo electrónico: rconde@unav.es

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

[Maite Iriarte](#)

II. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD.

[Marcaje de cepas de *B. suis* para ser utilizadas en experimentos donde se evalúen candidatos vacunales.](#)

[Manipulación e inoculación en animales experimentales de varios OMG de tipo 3 derivados de *Brucella*](#)

(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).

- 1) Objetivo de la actividad:

[Obtención de vacunas frente a la brucelosis](#)

- 2) Duración prevista de la actividad:

(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).

[2022-2029](#)

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:



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

a) Organismo receptor.

El organismo receptor es *Brucella suis*

b) Organismo donante.

Escherichia coli

c) Inserto.

Gen de resistencia a un antibiótico

d) Vector.

Plásmido derivado de pUC18R6K

e) Organismo modificado genéticamente resultante.

B. suis resistente a un antibiótico que no se usa para el tratamiento de la brucelosis humana o animal

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

Los mismos que la cepa original *B. suis*

g) Efectos para el medio ambiente.

Ninguno

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 3 X

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 manipulación se realizará dentro de laboratorio con biocontención tipo 3 con autorización A/ES/18/I-22 de fecha 23-10-2018

Está dotado de campanas de seguridad biológica de clase II, incubadores, centrifuga, baño, autoclave, SAS, con esterilización de ambiente por luz UV. Dispone de sistema de presión negativa y salidas de aire con filtros HEPA.



Los residuos biológicos serán inactivados mediante autoclavado y serán introducidos en cubos de cierre hermético, junto con el material fungible y los cadáveres de los ratones, para su retirada y eliminación por parte de la empresa gestora de residuos autorizada.

Existen protocolos de trabajo conocidos por el personal que forma parte del proyecto, protocolos de bioseguridad para el trabajo con *Brucella*, así como protocolo de actuación en caso de accidente.

Existe también un plan de gestión de residuos aprobado por el Gobierno de Navarra.

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.

Los manipuladores están capacitados para el uso de animales de experimentación (funciones A, B y C)

Adicionalmente, el Servicio Mancomunado de Prevención de Riesgos Laborales de la Universidad ha realizado la evaluación de riesgos del Departamento de Microbiología de dicha Universidad.

Los investigadores han realizado los reconocimientos médicos previstos por la ley (art 22. De la ley 31/1995) y son aptos para los trabajos asignados

Se seguirán los mismos protocolos de seguridad que se han seguido en la construcción y manipulación de otras OMGs derivadas de *Brucella* y que ya han recibido la autorización de la CIOMG (ver autorización A/ES/18/I-22)

b) Concentración y escala utilizadas.

Volumen máximo 10-15 ml por experimento

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).

Los cultivos se realizarán en cabinas de flujo laminar tipo Bio-IIA, dentro del laboratorio P3 y teniendo en cuenta las medidas preventivas necesarias en la realización de cualquier operación en este tipo de laboratorios. El almacenamiento se hará teniendo en cuenta las medidas de confinamiento apropiadas. Por todo ello, no es previsible que los cultivos de OMGs produzcan efectos nocivos ni se liberen al entorno

Se seguirán los mismos protocolos de seguridad que se han seguido en la construcción y manipulación de otras OMGs derivadas de *Brucella* y que ya han recibido la autorización de la CIOMG (ver autorización A/ES/18/I-22).

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

Nivel de riesgo 3. El grado 3 de confinamiento es suficiente para proteger la salud humana o animal y el medio ambiente



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

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

No es previsible que los OMGs objeto de estudio produzcan efectos nocivos en la salud humana o animal, ni sobre el medio ambiente, dadas las condiciones de manipulación de los mismos y las condiciones de confinamiento a las que son sometidos en las instalaciones.

La manipulación del OMGs y los ratones se realizará en una campana de bioseguridad situada dentro de un laboratorio con biocontención tipo 3, campana de flujo laminar vertical. La manipulación se realizará siempre por personal especializado, autorizado y entrenado para el trabajo con este tipo de microorganismos.

Los animales inoculados con el OMG se ubicarán en un sistema de rack portátil ventilado (Serie Green line) tiene miniaisladores de ratón GM500 que se mantienen individualmente ventilados en presión negativa y dispone de prefiltros y filtros HEPA tanto de entrada como de salida. Es compatible con miniaisladores desechables. Incluye paneles de cerramiento ciclo de luz variable de día / noche. (ref TECNIPLAST GM12TTL)

La sala cuenta con un autoclave, un sistema de descontaminación mediante peróxido (en adelante SAS) y un equipo portátil de descontaminación mediante peróxido de hidrógeno.

Existe un protocolo de gestión de residuos: los líquidos son tratados antes de ser vertidos en el colector general. Los residuos biológicos serán inactivados mediante autoclavado y serán introducidos en cubos de cierre hermético, junto con el material fungible y los cadáveres de los ratones, para su retirada y eliminación por parte de la empresa gestora de residuos (CONSEUR.)

Es obligatorio el cambio de ropa de trabajo de modo que el investigador se colocará un buzo desechable, calzas, gafas de seguridad, guantes de nitrilo y mascarilla P3 al entrar a este laboratorio y los retira antes de salir.

Servicios auxiliares: sistema de tratamiento de residuos sólidos y líquidos.

Existe un procedimiento de actuación para el caso de que se produzca un derrame de material biológico. Ver punto 5.4.

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

El laboratorio de contención de nivel 3 está localizado el Dpto. de Microbiología de la Universidad de Navarra.

La instalación no se encuentra próxima a fuentes de peligro potenciales y el laboratorio está ubicado en zonas con temperatura regulable, climatizada y dotada de sistema de eliminación de aire con control microbiológico mediante filtros HEPA del 99,9%.



Las posibilidades de una liberación accidental son mínimas debido a los equipos y sistemas empleados en la manipulación del microorganismo y a los protocolos establecidos para la eliminación de los residuos, que son inactivados (por autoclavado, tratamiento en SAS o tratamiento de aguas residuales) previamente a su eliminación.

No se estiman peligros derivados de la ubicación de la instalación.

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

El accidente podría producirse por rotura de tubos, derrames accidentales, pinchazos o cortes con material que contuviera el microorganismo o contacto a través de mucosas con aerosoles que contuvieran el microorganismo.

Existe un procedimiento para la recogida de derrames.

Existe un protocolo, conocido por los investigadores, para evitar infecciones locales, la herida será tratada con un desinfectante eficaz (povidona yodada, clorhexidrina al 5% u otro en su defecto).

Si es necesario, el investigador será atendido en el Servicio de Urgencia de la Clínica Universidad de Navarra y se aplicará el protocolo ante accidente biológico. Como medida preventiva ante un accidente grave se podría tratar con antibióticos al sujeto del accidente.

- c) Equipos de seguridad, sistemas de alarma y métodos de confinamiento adicionales. Vigilancia de las instalaciones mediante cámara de video vigilancia, teléfono, sistemas de alarmas.

El acceso está limitado al personal que tiene la formación necesaria para trabajar con microorganismos de nivel 3. Este personal tiene una única tarjeta de acceso.

Medidas de confinamiento:

- Manipulación de los microorganismos en cabinas de bioseguridad IIA, (Telstar).
- Autoclave y SAS.
- Presión negativa en cascada.
- Esclusa de entrada y salida de la sala con bloqueo de puertas.
- Luz ultravioleta.
- Buzo de trabajo desechable.
- Guantes de nitrilo.
- Mascarillas respiratorias tipo FFP3.
- Gafas de protección.
- Ducha y dispositivo para lavado ocular.
- Botiquín de primeros auxilios.

- d) Planes de emergencia.



El Edificio donde está situado el laboratorio de contención 3 dispone de Plan de Emergencia de Autoprotección y anualmente se realizan simulacros de evacuación.

Están nombrados Equipos de Primera Intervención, sus integrantes han recibido una formación específica acerca de las normas a atender en caso de producirse una emergencia y una formación práctica sobre el uso de los medios de extinción.

Principales riesgos en el laboratorio:

- Aerosoles (riesgo más importante), tras producirse un derrame o una mala praxis.
- El laboratorio dispone de una centrífuga específica para evitar los aerosoles
- Cortes y punciones en el manejo de agujas.

Ante derrames derivados de la actividad se tomarán las siguientes medidas

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

Avisar (por orden):

- al Responsable de Seguridad (Dra. Conde) (si es necesario al propio domicilio).
- a uno de los Doctores del Departamento (si es necesario al propio domicilio).

En la limpieza y desinfección de derrames se deben seguir las siguientes normas:

1. Colocar el equipo completo de protección personal: Guantes de nitrilo, gafas de protección y mascarilla FFP3.
2. Accidentes menores (tubos o matraces con menos de 100 ml de caldo, placas con cultivo):
 - Cubrir los derrames con el desinfectante absorbente que hay en el local.
 - Dejar actuar durante 30 minutos antes de limpiar.
 - Desechar el papel y restos en una bolsa de autoclave y autoclavarla.
 - Retirar en contenedor amarillo de residuos específicos
- 3, Accidentes en el incubador (rotura de vidrios o caída de tapones).
 - Vestir EPPs adecuados: Buzo, gafas, mascarilla, calzas,
 - Detener la ventilación y el giro del arcón. Dejar 1h en reposo para que se depositen los aerosoles.

 - Introducir los desinfectantes: NDP Air total (Vesismin) (sal de amonio cuaternario) y Sanit Total DVF (Proder Pharma), (glutaral y alcohol isopropílico)
 - Seguir las instrucciones del fabricante

Derrames accidentales o espumas en el fermentador.

Secar el derrame con material absorbente.

Limpia el área con hipoclorito al 1%



Para la desinfección completa del local:

Se dispone de un sistema de desinfección por aerosolización de peróxido de hidrógeno (Equipo Albian BK100M650K).

Además se dispone de las siguientes formas complementarias de desinfección:

NDP Air total (Vesimin) (sal de amonio cuaternario)

Sanit Total DVF (Proder Pharma), (glutaral y alcohol isopropílico)

Se utilizarán según las instrucciones del fabricante

En el caso de accidente por inhalación, contacto, punción o corte:

— Exposición ocular a aerosoles o salpicaduras:

- Lavar al menos 15 minutos con agua.
- Acudir al Urgencias para valoración y tratamiento.

— Exposición por agujas o material punzante.

- 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 Urgencias para valoración y tratamiento.

Inmunoprofilaxis y profilaxis antibiótica:

- * No existen vacunas humanas fiables.
- * De forma inmediata, ante la sospecha de infección accidental en el laboratorio, realizar un tratamiento profiláctico con doxiciclina a dosis normal durante 7 días.

Tratamiento:

- * Estreptomina (15 días) combinada con doxiciclina (45 días).