



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

Nº de Notificación:

I. INFORMACIÓN GENERAL

1) Responsables de la actividad

a) Entidad **IRTA-CReSA (Institut de Recerca i Tecnologia
Agroalimentàries)**

Nombre:

Dirección postal: **Torre Marimon, Crt C-59 km 12,1; 08140, Caldes de Montbui**

b) Representante legal de la entidad

Nombre y apellidos: **Josep Usall Rodié**

NIF: **40.893.753-Y**

Cargo: **Director General**

Tel: **934.674.040**

Fax: **934.674.042**

Correo electrónico: josep.usall@irta.cat

c) Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos: **Patricia Pleguezuelos Garcia**

NIF: **45639924-N**

Cargo: **Responsable de ensayos preclínicos y clínicos**

Tel: **(+34) 93.467.40.40 Ext. 1730**

Fax: **(+34) 93.581.44.90**

Correo electrónico: patricia.pleguezuelos@irta.cat

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

Nombre y apellidos: **Xavier Abad Morejón de Girón**

NIF: **35.082.196-C**

Cargo: **Jefe de la Unidad de Biocontención y Laboratorios NBS2**

Tel: **(+34) 93.467.40.40 Ext. 1712**

Fax: **(+34) 93.581.44.90**

Correo electrónico: xavier.abad@irta.cat

e) Indicar cuál de los anteriores actuará como persona de contacto: **Xavier Abad.**

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: **27 mayo 2016.**

b) Número de referencia del expediente: **A/ES/16/ I-06.**

II. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD:

1) Finalidad de la actividad: **El objetivo de la actividad es evaluar la seguridad de un prototipo vacunal frente a la Peste Porcina Africana tras administrar una sobredosis por vía intramuscular en cerdos.**

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

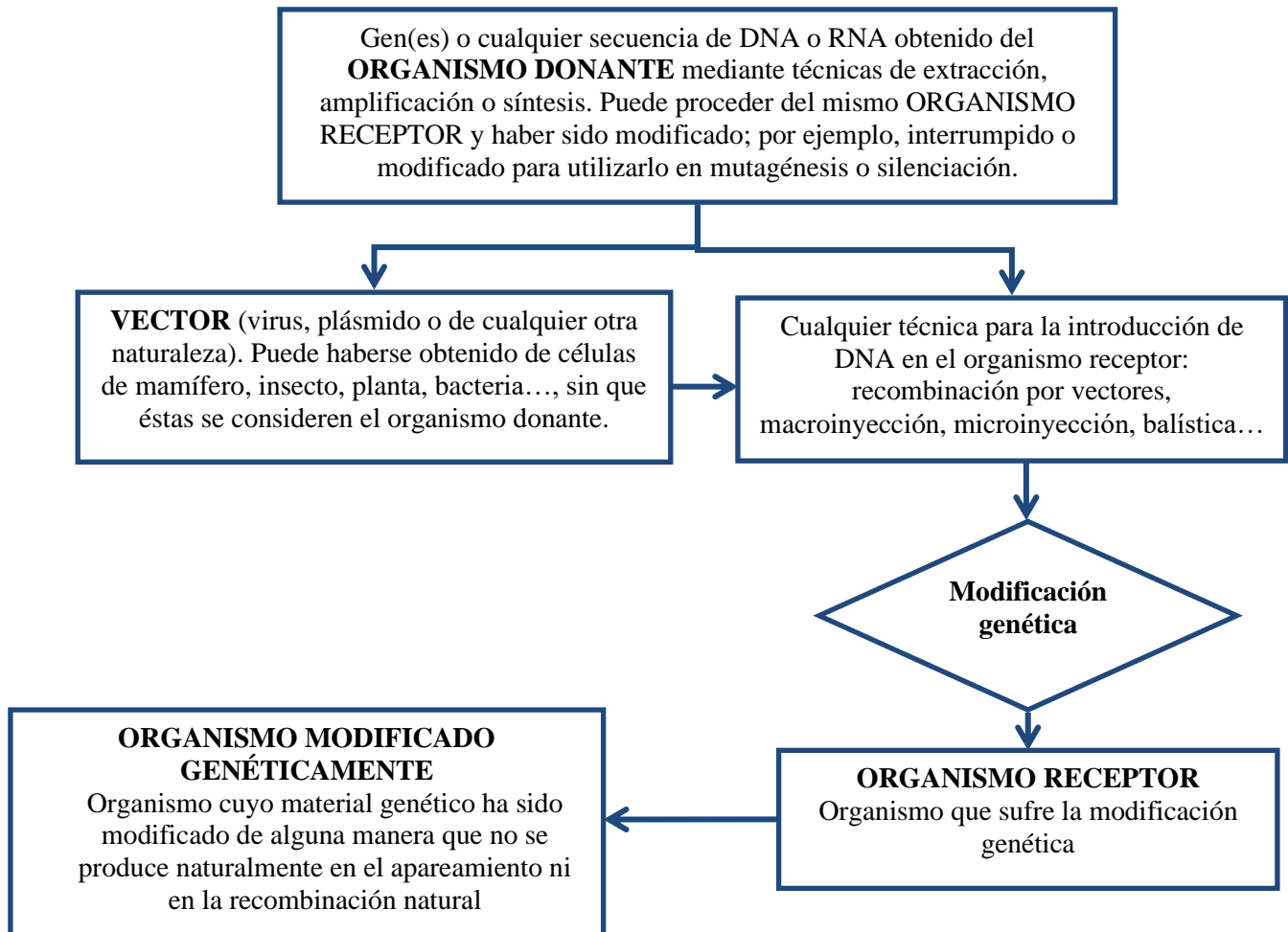
Tipo 4

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.



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**

Nombre común: **Virus de la Peste Porcina Africana**

2) Descripción de los métodos de identificación y aislamiento.

a) Técnicas de aislamiento: **El organismo receptor es un virus de la Peste Porcina Africana de la cepa Georgia clonado y amplificado en cultivos primarios. La modificación genética (ASFV-G-X) ofrece al organismo receptor características de atenuación. El aislamiento del OMG ASFV-G-X se realizó mediante consecutivas rondas de purificación y clonación en cultivo celular**

b) Técnicas de identificación: **La identificación del OMG ASFV-G-X se hizo mediante la detección específica de los genes marcadores insertados. Asimismo, las deleciones y modificaciones de genes del genoma del OMG ASFV de la cepa Georgia se confirmaron por PCR y secuenciación.**

c) Marcadores genéticos: **El OMG presenta genes marcadores detectables por PCR.**

d) Marcadores fenotípicos: **No aplica.**

e) Estabilidad genética: **La estabilidad genética se ha comprobado después de realizar pases seriados en cultivo celular. El OMG ASFV-Georgia-X tiene la estructura genómica requerida.**

3) Posibles modificaciones genéticas anteriores:

No hay evidencias de posibles modificaciones anteriores.

4) ¿Se considera patógeno el organismo receptor?

SI NO

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:

Patógeno en *Sus scrofa*

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.*):



- 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:
- 7) La cepa/línea celular receptora: ¿está libre de agentes biológicos contaminantes? **No aplica.**
- 8) Experiencia adquirida en relación con la seguridad en la utilización del organismo receptor:
El organismo receptor se manipuló en instalaciones de alto nivel de biocontención sin ningún incidente que comprometiera la bioseguridad ni el medio ambiente.
Las instalaciones de Zoetis Manufacturing & Research Spain, S.L. han sido previamente autorizadas para la actividad de utilización confinada de tipo 3. En las mencionadas instalaciones únicamente se manipula el OMG y en ningún caso se manipula el organismo receptor.
- 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?: **No aplica.**
- 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: **No aplica.**
- d) Posibles nichos ecológicos: **Cerdos, jabalíes, garrapatas del género Ornithodoros.**
- e) Tiempo de generación en ecosistemas naturales: **Si un animal es infectado, empezará a mostrar síntomas a partir aproximadamente del día 4 post-infección.**
- 10) Efectos posibles sobre el medio ambiente:
- a) Implicaciones en procesos ambientales (*p.ej. fijación del nitrógeno o regulación del pH del suelo*):
No presenta ninguna implicación en procesos ambientales.
- b) Interacciones con otros organismos y efectos sobre éstos:



No se esperan interacciones con otros organismos en el medio ambiente ni tampoco ningún efecto en ningún otro organismo. Los experimentos se realizarán en instalaciones de bioseguridad de nivel 3 (BSL3) para eliminar cualquier probabilidad de que los virus se diseminen en el ambiente.

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

Erradicado de España. Actualmente circulando en diversos de Europa (incluyendo UE), gran parte de Asia, isla de Haití y diversos países del África Subsahariana.

12) Hábitat natural del organismo:

Cerdos, jabalíes, garrapatas blandas del género Ornithodoros y cerdos salvajes africanos.

IV. INFORMACIÓN RELATIVA AL ORGANISMO DONANTE

1) Nombre científico: **No aplica.**

Taxonomía:

Nombre común:

2) Tipo de material genético obtenido del organismo donante:

El material genético del organismo donante proviene de un vector de transferencia obtenido por síntesis de ADN. El plásmido contiene regiones flanqueantes del gen de interés y un casete del gen marcador.

3) Método de obtención:

a) Extracción

b) PCR

c) Síntesis *in Vitro*

4) Función del gen/genes en el organismo donante: **Gen marcador.**

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?

El ADN del vector de transferencia no es patógeno.



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

El gen marcador codifica por una proteína que no está implicada en la patología ni en ningún efecto nocivo de la PPA.

- 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 | <input checked="" type="checkbox"/> |
| b) | Delección de material genético | <input checked="" type="checkbox"/> |
| c) | Sustitución de bases | <input type="checkbox"/> |
| d) | Fusión celular | <input type="checkbox"/> |
| e) | Otros, especifíquese | |

- 2) Finalidad de la modificación genética:

La finalidad de la modificación genética es la reducción de patogenicidad del ASFV para permitir la inducción de una respuesta inmune protectora a cerdos.

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

El OMG se obtuvo mediante un proceso de recombinación homóloga entre el genoma del ASFV y el vector de transferencia. Los virus recombinantes se identificaron por la expresión del gen marcador y se aislaron en cultivos celulares. Los virus recombinantes derivados se caracterizaron y se analizó el genoma mediante PCR específicas y secuenciación.

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

SÍ NO

En caso afirmativo:

- a) Tipo e identidad del vector:

Vector de transferencia sintético que contiene el casete completo del gen marcador y las secuencias flanqueantes del gen deleccionado.

- 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*):

Actividad de utilización confinada del OMG vinculado a la solicitud A/ES/20/05 para la utilización confinada de tipo 3 para realizar actividades con el virus de la peste



porcina africana modificado genéticamente en cultivos celulares en la instalación previamente autorizada (A/ES/10/I-02) de la empresa Zoetis Manufacturing & Research Spain, S.L.

d) Gama de hospedadores del vector:

Información confidencial no disponible bajo petición del promotor del estudio (Ver solicitud A/ES/20/05).

e) Características de la movilidad del vector:

i) factores de movilización: **No aplica.**

ii) Si el vector es un bacteriófago ¿se han inactivado sus propiedades lisogénicas? **No aplica.**

iii) ¿Puede el vector transferir marcadores de resistencia a otros organismos? **No aplica.**

5) Información del inserto: **Información confidencial no disponible bajo petición del promotor del estudio (Ver solicitud A/ES/20/05)**

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? **Sí.**

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 es un plásmido libre.**

En caso afirmativo:

i) Número de copias:

ii) ¿El plásmido recuperado corresponde al construido?

b) ¿Está integrado en los cromosomas nucleares?: **El material genético no está integrado en el genoma celular.**

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:

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.

Durante el proceso de obtención del OMG se realizaron diferentes ensayos con el fin de verificar la construcción y caracterizar el virus recombinante resultante.

Para diferenciar los virus recombinantes del parental se seleccionaron los virus mediante la detección por PCR y por secuenciación.

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, no es diferente.**
 - b) ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta al modo o tasa de reproducción? En caso afirmativo, especifíquese: **No, no es diferente.**
 - c) ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad para el hombre, plantas o animales? En caso afirmativo, especificar: **Se esperan diferencias en patogenicidad entre el OMG y el organismo receptor.**
 - d) ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta a los posibles efectos sobre el medio ambiente? En caso afirmativo, especifíquese: **Se esperan diferencias en patogenicidad entre el OMG y el organismo receptor.**
 - e) ¿Es diferente el OMG en cuanto a las características nutricionales? En caso afirmativo, especifíquese: **No, no es diferente.**
 - f) Marcadores específicos del OMG: **PCR específicas para demostrar la pureza del OMG**
- 3) Estabilidad genética del OMG (*Estado y secuencia del inserto después de un cierto número de generaciones*):
- La estabilidad genética del inserto es alta ya que no se han detectado cambios en la expresión génica después de realizar múltiples pases del virus en cultivos celulares.**
- 4) Posibilidad de transferencia de material genético a otros organismos:
- La transferencia de material genético a otros organismos únicamente es posible si las células son co-infectadas con algún otro aislado de ASFV.**
- 5) Descripción de métodos de identificación y aislamiento empleados:
- a) Técnicas utilizadas para la identificación del OMG: **La identificación del OMG se realizó mediante la detección específica por PCR del gen de interés.**
 - b) Técnicas empleadas para aislar el OMG en el medio ambiente: **No aplica.**

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: **Dosis a utilizar del candidato vacunal: 1 mL por vía intramuscular en 10 animales.**
 - b) Número de plantas: **No aplica.**



c) Número de animales: **Un total de 10 animales (*Sus scrofa domesticus*).**

3) Periodo previsto para la actividad de utilización confinada:

El inicio está previsto en el primer trimestre de 2023 en función de disponibilidad de boxes.

(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 asociadas las actividades con los OMG).

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

El objetivo de este proyecto es evaluar la seguridad de una sobredosis de un prototipo vacunal administrado por vía intramuscular esperando que la sobredosis de vacuna sea segura. Para llevarlo a cabo y siguiendo las indicaciones de la Farmacopea, se realizarán un estudio con dos grupos experimentales (grupo control y grupo vacunado). El diseño experimental es el siguiente:

- **Llegada de 20 animales a las instalaciones de NBS3 a los 14±5 días de vida. Estos animales se distribuirán en 2 grupos experimentales y tendrán un periodo de aclimatación de 7 días.**
- **Inmunización con una sobredosis de la vacuna frente a PPA a 3 semanas de edad aproximadamente (día 0) por vía intramuscular:**
 - **Grupo A: administración de 10 dosis de la vacuna a 10 animales.**
 - **Grupo B: 10 animales vacunados con el producto control (Medios de suspensión del virus de la vacuna).**

Parámetros de seguridad:

- **Muestra de sangre recogida en el día 0 antes de la vacunación para confirmar que los animales no presentan anticuerpos frente a PPA (ELISA) y a día 7 y 14 para la detección del virus (qPCR).**
- **Signos clínicos desde el día 0 (prevacunación y 4 horas±30min después de la vacunación) y diariamente hasta día 14 (final del estudio).**
- **Reacciones sistémicas después de la vacunación: Las reacciones sistémicas (anorexia, shock anafiláctico, vómitos, etc.) se controlarán diariamente desde día 0 (pre-vacunación) hasta día 14 (final del estudio).**
- **Reacciones locales en el lugar de la inyección: Las reacciones locales en el lugar de la inyección se controlarán diariamente desde el día 0 (pre-vacunación) hasta el día 14 (final del estudio).**
- **Temperaturas rectales a días -2, -1, 0 (pre-vacunación y 4 horas±30min después de la vacunación), y diariamente hasta el día 14.**



- Los animales serán controlados clínicamente diariamente desde la entrada a las instalaciones NBS3 hasta el final del estudio.
- A día 14 todos los animales serán sacrificados para la detección de lesiones macroscópicas compatibles con PPA. Además, se realizará un examen macroscópico y microscópico del punto de inyección.

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:

La cepa modificada genéticamente utilizada para el estudio como candidato vacunal proviene de Zoetis (Olot). (Ver solicitud A/ES/20/05).

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*):

La cepa modificada genéticamente se transportará desde Zoetis-Olot a IRTA-CReSA. Para realizar el transporte de este material, se seguirá la reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas UN3245. Concretamente, el embalaje constará de tres contenedores, el primero de los cuales será a prueba de derrames. El segundo y tercer contenedores se embalarán de acuerdo con los requerimientos del ADR y la IATA para envíos de sustancias infecciosas que afectan a animales de clase 6.2, Categoría A. Estas medidas aseguran el cumplimiento de las normativas de transporte terrestre y aéreo para este tipo de patógeno.

Entre el primer y segundo contenedor, habrá suficiente material absorbente para absorber la sustancia infecciosa en el caso improbable de que exista un vertido del primer contenedor. El contenedor terciario debe cumplir los estándares UN de envíos de la categoría mencionada. Esto significa que está testado para resistir caídas y expansiones durante el transporte.

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/>



El transporte será realizado a través de un Courier especializado puerta-puerta, que asegure un transporte seguro y que la calidad del material biológico se mantiene.

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 stocks de virus y muestras de animales infectados se manipulan en cabinas de seguridad biológica de los laboratorios NBS3 y se transportan en contenedores apropiados. La centrifugación se realiza utilizando adaptadores cerrados herméticamente para prevenir derrames y aerosoles, y se abren dentro de las cabinas de bioseguridad. Las superficies de trabajo son desinfectadas con Virkon 1% y Etanol 70%.

Las muestras de sangre obtenidas el día de la vacunación serán analizadas por PPA ELISA para confirmar ausencia de anticuerpos. Las muestras de sangre obtenidas el día 7 y 14 se analizarán por qPCR.

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

En IRTA- CReSA NBS3:

Confinamiento primario: Cabinas de seguridad biológica (CSB); por ejemplo, CSB BIOSTAR CR-0247 y CR-0250 (en Virología CR/1032); CSB BIOSTAR CR-0245 y CR-0246 (en Cultivo Celular, CR/1031); CSB BIOSTAR CR-0248 y BIO-IIA/P CR-0249 (en Bacteriología CR/1033); la CSB NUAIRE CR-1450 (en Biología Molecular CR/1035) y la CSB Nuaire NU437300E CR-1373 en el insectario. Todas las CSB están sometidas a una verificación anual por empresa externa.

Centrífugas eppendorf 5810R, con rotores basculantes y cestos provistos de tapas herméticas con n/s 0032681 (CR-0271), n/s 0032680 (CR-0272), y n/s 0032682 (CR-0273). Verificación anual de su velocidad por empresa externa.

Confinamiento secundario y elementos de bioprotección: cascada de presiones negativas en la Unidad de Alta Biocontención. Boxes experimentales independientes con puertas con junta neumática y con sus propios sistemas de ducha y vestuarios; filtración absoluta independiente para cada box. Acceso del personal a la Unidad sólo si tienen activado su perfil biométrico.

VIII. INFORMACIONES ADICIONALES RELATIVAS A LA UBICACIÓN DE LA INSTALACIÓN

1) Proximidad a fuentes de peligro potenciales:

No existen fuentes de peligro potenciales que puedan afectar a la actividad, aunque sea indirectamente; ni centrales eléctricas ni nucleares, embalses, ni instalaciones militares, ni objetivos estratégicos. No hay ríos cercanos que puedan salir de su cauce, ni bosques cercanos que puedan quemarse afectando al edificio.



- 2) Descripción de las condiciones climáticas predominantes:

Clima mediterráneo sin efectos graves sobre la actividad de la instalación. Por su diseño y ubicación, en una pendiente, el riesgo de inundación es mínimo. Situaciones de sequía prolongada con cortes de suministro pueden ser taponados por la instalación de Alta Biocontención que cuenta con dos depósitos con decenas de miles de litros de capacidad total.

- 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:

Laboratorios de Cultivo celular y Virología (CR/1031 y CR/1032), boxes (asignación pendiente según disponibilidad) y sala de necropsias de la Unidad de Alta Biocontención de CReSA (autorizada para trabajo con OMG de tipo 3 (A/ES/16/I-06).

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

- 1) Adopción de las Buenas Prácticas de Laboratorio:

El Centre de Recerca en Sanitat Animal (CReSA) está certificado en Buenas Prácticas de Laboratorio por la Generalitat de Catalunya (Departament de Salut) desde el año 2009, con diversas renovaciones. El certificado actual tiene la referencia BPL/2001/001/CAT (17/enero/2020).

- 2) Formación del personal adscrito:

El personal experimental adscrito tiene experiencia probada desde hace muchos años en el manejo de infecciones experimentales con el virus de la peste porcina africana silvestre, patógeno. El personal al cargo de las instalaciones y el cuidado de los animales tiene experiencia equivalente. El personal tiene a disposición formaciones internas semestrales de bioseguridad, biocontención, uso de equipos críticos y equipos de protección individual. La mayoría de ellos son doctores en veterinaria o biología y el personal al cuidado de los animales dispone de la preceptiva autorización.

- 3) Programas de limpieza/desinfección/descontaminación:

Aplicación de una desinfección de bancadas, superficies de trabajo e interior de cabinas de seguridad biológica, con diluciones 1/10 de lejía doméstica fresco, preparado en el día, con una concentración de cloro libre de 4.000-5.000 ppm, por tiempo de contacto 5-10 minutos y posterior retirada por aplicación de nebulización de una solución de etanol al 70%. Otros desinfectantes sustitutivos de la lejía diluida 1/10 son el Virkon al 1% o el PERAsafe a las concentraciones indicadas por el fabricante. En cuanto a animalario



consultar procedimientos internos específicos, aunque el desinfectante de rutina es Virkon a concentraciones entre el 1% y el 4%.

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

Para CReSA-NBS3: Programa de mantenimiento de aparatos por el confinamiento, entendiendo como elementos de confinamiento; cabinas de seguridad biológica; centrifugas; autoclaves barrera y SAS (Airlock) MATACHANA, sistemas de generación de presión negativa, etc. Durante la parada técnica anual, los equipos son sometidos a verificación, y mantenimientos programados por parte de servicios técnicos externos (SAT), en ocasiones el mismo fabricante, con la emisión de los correspondientes informes de cumplimiento de especificaciones / rango de trabajo.

- 5) Programas de inspección y control del confinamiento:

Para NBS3: Parada técnica anual de la Unidad de Alta Biocontención en la que se hace un control y revisión de los principales elementos críticos de la instalación. Control del confinamiento 24/365 por un sistema electrónico de gestión de parámetros críticos y un servicio del mantenimiento subcontratado externo siempre presente en la instalación. Auditorías internas a cargo del personal de la Oficina de Garantía de Calidad de CReSA.

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:

CONSEUR

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

Para CReSA-NBS3:

Para residuos sólidos, Autoclave con una fase de esterilización que llega a 121°C y mantiene esta temperatura durante 25 minutos (alternativamente tratamiento a 134°C por 5 minutos). Para residuos líquidos, Autoclave con una fase de esterilización que llega a 121°C y mantiene esta temperatura durante 25 minutos, sin fase de secado posterior.

Los autoclaves disponibles son: los propios Laboratorios NBS3 equipo MATACHANA S1000 n / s E-18015 y CR-0576; sala limpieza zona sucia, equipo MATACHANA n / s E-18016 y CR-0476 y en sala efluentes planta 0, equipo MATACHANA n / s E-18017 y CR-0477.



La eficacia de los autoclaves se evalúa con cada carga infecciosa con testigos microbiológicos de *Geobacillus stearothermophilus*, y anualmente por sondas propias calibradas (verificación interna) y verificación / mapeo por empresa externa.

Digestión alcalina de los cadáveres de animales infectados con patógenos no zoonóticos, mezclando carcasas y una solución de hidróxido potásico, hasta alcanzar un pH 13 y una temperatura de 150°C por un mínimo de 3 horas a 3 atmósferas de sobrepresión. Para cadáver infectados con virus zoonóticos, no es el presente caso, incineración en contenedores cerrados y herméticos para evitar toda manipulación por parte del personal ejecutante.

Tratamiento químico de los efluentes: Elevación del pH a 12 mediante la adición de hidróxido sódico (NaOH), con comprobación manual del valor de pH una vez alcanzado, mantenimiento en agitación constante durante 12 horas, neutralización del pH por adición de ácido clorhídrico (HCl) hasta alcanzar un pH entre 8 y 9,4. Una vez comprobado este pH hay que solicitar obligatoriamente autorización al responsable de la Unidad de Alta Biocontención o persona delegada, para proceder al vaciado del tanque.

Doble filtración mediante filtros HEPA de todo el aire que hay en la Unidad de Alta Biocontención (NBS3). Filtro HEPA absoluto a la salida de cada box experimental donde se mantienen los animales o bien en la sala de necropsias y batería de filtración de 10 filtros HEPA absolutos previamente a la salida hacia el exterior lo que supone una doble filtración absoluta de todo aire que se encuentra dentro de la Unidad de Alta Biocontención.

En cuanto a los residuos citostáticos (agentes mutagénicos, intercalantes, caotrópicos, etc.) como pueden ser soluciones con bromuro de etidio, tampones de lisis y lavado de kits de extracción de ácidos nucleicos, etc., estos se descartan en bidones por residuos de tipo IV que son cerrados herméticamente y recogidos por gestor de transporte de residuos autorizado.

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

- 1) Condiciones en las que podría producirse un accidente:
Inoculación accidental por mala praxis o uso de EPIs inadecuados; corte o pinchazo con objeto cortado o punzante por mala praxis o no uso de los EPIs correspondientes; inhalación y / o contacto con mucosas de producto químico tóxico, corrosivo, etc. por mala praxis o no uso de los EPIs correspondientes.

- 2) Equipamiento de seguridad (especifíquese):
Para CReSA-NBS3: El trabajo en la Unidad de Alta Biocontención implica trabajar con indumentaria específica de la instalación, no se trabaja con ropa de calle u objetos personales. Técnica de doble guante a todas las actividades con muestras dentro y fuera de CSB. Bata de laboratorio parcialmente hidrofuga de frontal sólido, de puño cerrado. Calzado desinfectable/autoclavable. Disponibilidad de protección respiratoria



(mascarillas FFP3 y aparatos de respiración de presión positiva (Sundstrom) en caso de que la evaluación de riesgo lo demande.

- 3) Descripción de la información suministrada a los trabajadores:
Procedimientos normalizados de trabajo de aparatos (CSB, centrifugas, autoclaves, etc.) y salas; normas de actuación en caso de derrames en cabinas de seguridad biológica, superficies y accidentes en centrifugas.

- 4) Planes de emergencia:
Hay un plan de emergencia aprobado a disposición del personal.



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

Nº de Notificación:

I. RESPONSABLES DE LA ACTIVIDAD

1) **Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries**

Nombre:

Dirección postal: **Torre Marimon, Crt C-59 km 12,1; 08140, Caldes de Montbui**

2) Representante legal de la entidad

Nombre y apellidos: **Josep Usall Rodié**

NIF: **40.893.753-Y**

Cargo: **Director General**

Tel: **934.674.040**

Fax: **934.674.042**

Correo electrónico: josep.usall@irta.cat

1) Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos: **Patricia Pleguezuelos Garcia**

NIF: **45639924-N**

Cargo: **Responsable de ensayos preclínicos y clínicos**

Tel: **(+34) 93.467.40.40 Ext. 1730**

Fax: **(+34) 93.581.44.90**

Correo electrónico: patricia.pleguezuelos@irta.cat

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

Nombre y apellidos: **Xavier Abad Morejón de Girón**

NIF: **35.082.196-C**

Cargo: **Jefe de la Unidad de Biocontención y Laboratorios NBS2**

Tel: **(+34) 93.467.40.40 Ext. 1712**

Fax: **(+34) 93.581.44.90**

Correo electrónico: xavier.abad@irta.cat

3) Indicar cuál de los anteriores actuará como persona de contacto: **Xavier Abad.**



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).

1) Objetivo de la actividad:

El objetivo de este proyecto es evaluar la seguridad de una sobredosis de un prototipo vacunal, suministrado por el promotor, y administrado por vía intramuscular esperando que la sobredosis de vacuna sea segura. Para llevarlo a cabo y siguiendo las indicaciones de la Farmacopea, se realizarán un estudio con dos grupos experimentales (grupo control y grupo vacunado).

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).

El proyecto empezaría el primer trimestre del 2023 con una duración de 22 días.

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 un ASFV clonado y amplificado en cultivos primarios. La modificación genética ofrece al organismo receptor características de atenuación. La caracterización génica de la cepa se realizó mediante PCR específica y secuenciación.

El organismo receptor es patógeno para cerdos domésticos, pero en ningún caso se ha manipulado ni en cerdos ni en las instalaciones de laboratorio de Zoetis Manufacturing & Reseach Spain S.L.



b) Organismo donante.

El material genético del organismo donante no es patógeno. Proviene de un vector de transferencia que comprende regiones genómicas flanqueantes del gen de interés y un casete que contiene un gen marcador. El vector de transferencia se obtuvo por síntesis in vitro de ADN.

El plásmido de transferencia se co-transfectó junto con el DNA viral del ASFV receptor.

c) Inserto.

El casete completo incluye el gen marcador flanqueado por los brazos derecho e izquierdo del gen de interés del genoma del ASFV. Ninguno de los componentes del casete del inserto es patógeno.

d) Vector.

El plásmido de transferencia contiene los casetes de ADN descritos anteriormente.

El vector no es patógeno y tampoco se ha manipulado en las instalaciones de Zoetis Manufacturing & Reseach Spain S.L., sino que ha sido manipulado por personal e instalaciones externas a Zoetis Manufacturing & Reseach Spain S.L.

e) Organismo modificado genéticamente resultante.

Durante el proceso de obtención del OMG se realizaron diferentes ensayos con el fin de verificar la construcción y caracterizar el virus recombinante resultante.

Para diferenciar los virus recombinantes del parental se seleccionaron los virus mediante la detección por PCR y por secuenciación.

La modificación ofrece características de atenuación y seguridad, informa el promotor.

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

Aunque los huéspedes naturales de la cepa salvaje de ASFV son de la especie porcina (doméstica y salvaje), se descartan efectos sobre la salud animal.

g) Efectos para el medio ambiente.

El OMG no será liberado al medio ambiente. Se considera que el efecto para el medio ambiente es mínimo ya que el OMG está atenuado y se manipulará en instalaciones de biocontención de nivel 3.

A su vez, el Promotor indica que el OMG se ha manipulado previamente en instalaciones de alto nivel de biocontención (no en las instalaciones NBS3 de IRTA-CReSA) durante varios años sin ningún incidente que comprometiera la bioseguridad ni el 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).
 - b) Concentración y escala utilizadas.
 - 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).

Las características de la actividad son un uso confinado del OMG para inoculación en animales de experimentación (cerdos), y obtención de muestras para evaluar una posible reversión a la virulencia. El confinamiento será el típico de una unidad de Alta Biocontención de grandes animales (con duchas obligatorias de salida, filtración absoluta el aire, descontaminación química de los efluentes y eliminación de las carcacas infectadas por digestión alcalina o incineración). Todas estas barreras de confinamiento y control garantizan su no diseminación al exterior, por tanto, nulo impacto ambiental. Todos los residuos generados serán objeto de recogida por gestores autorizados. En los que respecta a la exposición humana, el patógeno animal es exclusivo de la especie porcina y no supone ningún riesgo para la especie humana, pero el personal en los boxes experimentales trabajará con guantes y mascarilla quirúrgica y en laboratorio todas las muestras se procesaran con los EPIs habituales y dentro de cabina de seguridad biológica.

A la escala utilizada no producirá sufrimiento para los animales inoculados.

No se prevé tener que realizar cultivo, ya que el stock utilizado será proporcionado por Zoetis (Olot) en el volumen y las concentraciones necesarias.

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

A pesar de que se esté planteando su uso en campo en zonas de riesgo de infección con PPA, el OMG objeto de estudio ha sido categorizado como grupo de peligrosidad 3 por el responsable de bioseguridad de IRTA-CReSA hasta la finalización de todas las pruebas y la obtención de los resultados definitivos. Por tanto, las medidas a emplear serán las



mismas que se utilizan para trabajar con el virus parental virulento, un agente de grupo de peligrosidad 3 y de declaración obligatoria a la OMSA (antigua OIE). Con este virus silvestre, sin modificar, el grupo solicitante lleva más de 20 años trabajando (los 10 últimos en IRTA-CReSA), incluso prestando apoyo a las administraciones públicas para su prevención y control, y siempre aprovechando las condiciones de alta seguridad biológica del CReSA.

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

(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.)
- b) Condiciones en las que podría producirse un accidente.
- c) Equipos de seguridad, sistemas de alarma y métodos de confinamiento adicionales.
- d) Planes de emergencia.

No hay fuentes de peligro potenciales que puedan afectar a la actividad, aunque sea indirectamente; ni centrales eléctricas ni nucleares, embalses, ni instalaciones militares, ni objetivos estratégicos. No hay ríos cercanos que puedan salir de su cauce, ni bosques cercanos que puedan quemarse afectando al edificio.

El accidente puede producirse por el escape de algún material asociado al estudio. Los boxes experimentales disponen de ducha individual y ésta es obligatoria por lo que no hay que contar con arrastre del patógeno por el experimentador hacia el exterior. Además, hay una segunda ducha obligatoria antes de salir de la propia Unidad de Alta Biocontención. Toda la ropa e indumentaria se lava y se autoclava dentro de la instalación. Todos los residuos sólidos de laboratorio, asimilables a plástico de un solo uso, son sometidos a esterilización por autoclave (autoclaves bajo mantenimiento semestral y validados anualmente en ciclos con y sin carga, con datos con trazabilidad ENAC); todas las cargas individuales (ciclos) se trazan con testimonios biológicos que se incuban y se leen antes de decidir si la carga es eliminable.

Todas las carcasas de los animales, una vez acabado el experimento, son sometidas a digestión alcalina, a 150°C y pH de 13 por un periodo mínimo de 4 horas. Es imposible culminar el ciclo sin alcanzar estos parámetros y en todo caso el contenido procesado pasa a un tanque dentro de la Unidad de Alta Biocontención y, por tanto, queda retenido, antes de su bombeo a exterior donde es recogido por camión de empresa homologada para dicha recogida. Si el tanque se rompiera sería imposible que se liberara su contenido la exterior porque se encuentra dentro de una cubeta deprimida en la planta baja de la Unidad con una capacidad que excede con mucho el volumen nominal del tanque.

No es un virus de transmisión claramente aerógena pero la Unidad dispone de un doble sistema de filtración HEPA del aire de salida de los boxes experimentales y



laboratorios bajo Biocontención y uno de ellos va provisto de pre-filtro; si bien un accidente en un filtro HEPA es muy poco probable, la posibilidad que afecta a los dos al mismo tiempo es prácticamente cero.

Finalmente, los efluentes no pueden bombearse al exterior sin comprobación previa que los parámetros de la descontaminación química se han alcanzado (pH 12 por 12 horas en agitación); no pueden fluir fuera de la instalación tampoco al encontrarse los tanques todos ellos en el interior de una cubeta deprimida en la planta baja de la Unidad con una capacidad que excede con mucho el volumen nominal de los tanques y permitiría su descontaminación dentro de la Unidad en caso de rotura de los mismos.

Por otro lado, en caso de accidente del digestor podría la eliminación de carcassas realizarse en el incinerador que se encuentra también en la misma planta 0 de la Unidad de Alta Biocontención, que es utilizado también para la eliminación de piensos y alimentos sobrantes implicados en el estudio.

Hay un plan de emergencia y evacuación de la Unidad de Alta Biocontención, que es repasado semestralmente con el personal. En este plan se prioriza, siempre que es posible la bioseguridad, intentando que la salida del personal sea sin la indumentaria empleada dentro de la Unidad de Alta Biocontención, y aislado este personal del resto de personal evacuado de zonas convencionales.

Hay un plan de contingencias, lo que viene a llamarse un “disaster plan” que se adjunta como documentación complementaria de esta solicitud.