

**MODELO DE RESUMEN DE LA NOTIFICACIÓN DE LA LIBERACIÓN DE ORGANISMOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE DISTINTOS DE LAS PLANTAS SUPERIORES DE ACUERDO CON EL ARTÍCULO 11 DE LA DIRECTIVA 2001/18/CE**

**A. Información de carácter general:**

**1. Detalles de la notificación**

a) Estado miembro de la notificación:	España
b) Número de la notificación:	B/ES/22/08
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	25 de febrero de 2022
d) Título del proyecto:	Estudio de respuesta inmune y eficacia vacunal del OMG Rev1Δwzm en ovejas.
e) Período propuesto para la liberación:	Abril-septiembre 2022

**2. Notificador**

Nombre de la institución o empresa:	Instituto de Ganadería de Montaña (IGM) - CSIC
-------------------------------------	--

**3. Definición del OMG**

a) Indíquese si el OMG es:	
	Viroide <input type="checkbox"/>
	Virus ARN <input type="checkbox"/>
	Virus ADN <input type="checkbox"/>
	Bacteria <input checked="" type="checkbox"/>
	Hongo <input type="checkbox"/>
	Animal <input type="checkbox"/>
	- mamíferos <input type="checkbox"/>
	- insectos <input type="checkbox"/>
	- peces <input type="checkbox"/>
	- otro animal <input type="checkbox"/> especifique el phylum y la clase

Otro, especifíquese (reino, phylum y clase)
b) Identidad del OMG (género y especie): Mutante rugoso derivado de la cepa vacunal <i>Brucella melitensis</i> Rev1
c) Estabilidad genética, de acuerdo con el punto 10 de la letra A de la sección II del anexo III A: Se ha realizado una delección irreversible del gen <i>wzm</i> , en la que los insertos ( <i>wzm</i> truncado) se localizan en la ORF del gen <i>wzm</i> , sustituyendo al marco de lectura del gen <i>wzm</i> original.

4. ¿Tiene previsto el mismo notificador la liberación de ese mismo OMG en algún otro lugar de la Comunidad (de acuerdo con el apartado 1 del artículo 6)?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo, indique el código del país:	

5. ¿Ha notificado ese mismo notificador la liberación de ese mismo OMG en algún otro lugar de la Comunidad?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo:	
- Estado miembro de la notificación:	
- Número de la notificación:	

6. ¿Ha notificado el mismo notificador u otro la liberación o comercialización de ese mismo OMG fuera de la Comunidad?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo:	
- Estado miembro de la notificación: España	
- Número de la notificación: 432/ECV y 194/PIV	
Desde 2018, se han realizado diversos estudios de seguridad y respuesta inmune en ganado ovino de distinta edad, sexo y momento de la gestación, por un lado, en las instalaciones de uso confinado de VISAVET- Universidad Complutense de Madrid (UCM) en BSL3, y de la empresa AM Animalia SL (Gerona) en BSL2; y, por otro lado, se han realizado estudios de liberación voluntaria en la finca de la UCM en Rascafría (Madrid). En todos los casos, se ha contando con autorización de la CIOMG y la AEMPS (Ensayo Clínico Veterinario 432/ECV; y Producto en fase de Investigación Clínica Veterinaria 194/PIV, resolución del 23 de mayo de 2019).	

7. Resumen del impacto ambiental potencial de la liberación de los OMG

Según los estudios realizados hasta la fecha en ratones y ganado ovino, no se prevé la liberación de OMG al medio ambiente. En su caso, la persistencia del OMG en el medio ambiente se prevé mucho menor que las <i>Brucellae</i> de campo, en base a los
--

estudios en laboratorio que demuestran mayor susceptibilidad del OMG a detergentes, estrés osmótico, desecación, estrés oxidativo, diferentes pH, temperatura y UV. Además, se precisan dosis muy altas del OMG para producir infección en los animales.

**B. Información sobre el organismo receptor o sobre los organismos parentales de los que se deriva el OMG**

**1. Identificación del organismo receptor o parental**

a) Indíquese si el organismo receptor o parental es :

Viroide

Virus ARN

Virus ADN

Bacteria

Hongo

Animal

- mamíferos

- insectos

- peces

- otro animal

(especifique el phylum y la clase)

Otros, (especifíquense):

**2. Nombre**

i) Orden y taxón superior (animales):

ii) Género: *Brucella*

iii) Especie: *B. melitensis*

iv) Subespecie:

v) Cepa: cepa vacunal Rev1

vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.): bv1

vii) Nombre vulgar: Rev1

3. Distribución geográfica del organismo

a) Autóctono del país que notifica o establecido en él:

Sí

No

No se sabe

b) Autóctono de otros países de la Comunidad o establecido en ellos:

i) Sí

En caso afirmativo, indíquese el tipo de ecosistema en que se encuentra:

Las bacterias del género *Brucella* se distribuyen mundialmente. La vacuna Rev1 está aceptada y recomendada por la UE para su uso rutinario como vacuna contra la brucelosis en ovejas y cabras en condiciones de campo (OIE, 2018. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals; Programa Nacional para la Erradicación de la Brucelosis Ovina y Caprina 2015-2016 presentado por el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, RASVE 2015).

Atlántico

Mediterráneo

Boreal

Alpino

Continental

Macaronésico

ii) No

iii) No se sabe

c) ¿Se usa frecuentemente en el país que notifica?

Sí

No

d) ¿Es frecuente su tenencia en el país que notifica?

Sí

No

**4. Hábitat natural del organismo**

a) Si es un microorganismo:	
Agua	<input type="checkbox"/>
Suelo, en libertad	<input checked="" type="checkbox"/>
Suelo, en simbiosis radiculares de plantas	<input type="checkbox"/>
En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas	<input type="checkbox"/>
En simbiosis con animales	<input type="checkbox"/>
Otros, (especifíquense): Animales, especialmente rumiantes; puede afectar al ser humano.	
b) Si es un animal, hábitat natural o ecosistema agrícola habitual:	

**5. a) Técnicas de detección**

Cultivo bacteriológico y PCR específicas (OIE 2018)
---

**5. b) Técnicas de identificación**

Microbiología y PCR específicas (OIE2018)
---

**6. ¿Está clasificado el organismo receptor con arreglo a las normas comunitarias vigentes en relación con la protección de la salud humana y el medio ambiente?**

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
--	-----------------------------

En caso afirmativo, especifíquese:

Como norma general, las bacterias del género *Brucella*, excepto *B. ovis*, se consideran patógenos BSL-3, según el RD664/1997. Sin embargo, el OMG de este estudio ha sido obtenido a partir de la cepa vacunal Rev1, ampliamente utilizada en todo el mundo, desde 1960, para su uso común en condiciones de campo. Actualmente, sigue siendo la única vacuna recomendada para erradicar la brucelosis de los pequeños rumiantes (OIE, 2018. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals; Programa Nacional de Erradicación de la Brucelosis Ovina y Caprina 2015-2016 presentado por el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, RASVE 2015).

La cepa Rev1 $\Delta$ wzm resultante ha demostrado mayor susceptibilidad a factores ambientales (detergentes, desecación, UV, pH, temperatura) y una menor capacidad infectiva en los animales que otras cepas de *Brucella*; además, ha demostrado no excretarse ni producir abortos u otras patologías en ganado ovino de distintas edades, sexos y momentos de la gestación. Los estudios de seguridad y respuesta inmune con este OMG han sido previamente autorizados por la CIOMG y la AEMPS, para ser utilizadas en condiciones de bioseguridad BSL2 y de liberación voluntaria.

7. ¿Es el organismo receptor, vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier otra forma?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo		
a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?:		
humanos	<input type="checkbox"/>	
animales	<input type="checkbox"/>	
plantas	<input type="checkbox"/>	
otros	<input type="checkbox"/>	
b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección 11 del anexo III A de la Directiva 2001/18/CE.		

8. Información sobre reproducción

- a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:

Las cepas virulentas de *Brucella* pueden sobrevivir más de dos meses en agua a 20°C y en el suelo y pasto fresco en un ambiente húmedo, hasta 8 meses en purines y muchos meses en sustratos secos (heno, polvo, lana, equipo y herramientas de trabajo, etc.). La supervivencia es más larga cuando la temperatura es baja, principalmente cuando está por debajo del punto de congelación. *Brucella* también puede sobrevivir durante meses en órganos y cadáveres de animales o en sangre a 4°C, y por periodos de tiempo muy cortos en la carne, excepto si está congelada, en

cuyo caso puede sobrevivir durante años. La cepa vacunal <i>B. melitensis</i> Rev1 es más susceptible que las cepas virulentas a todos estos factores o condiciones; y el OMG Rev1 $\Delta$ wzm es igual o más susceptible que Rev1 a determinados factores.	
b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado: Las bacterias del género <i>Brucella</i> son bacilos o cocobacilos gramnegativos, de 0,5-0,7 x 0,6-1,5 micras, aerobios, de crecimiento lento, inmóviles, no formadores de cápsula y no esporulados. Son parásitos intracelulares facultativos, que pueden resistir en las células fagocíticas.	
c) Modo de reproducción	Sexual <input type="checkbox"/> Asexual <input checked="" type="checkbox"/>
d) Factores que afectan a la reproducción:	

**9. Capacidad de supervivencia**

a) Capacidad de formar estructuras que favorezcan la supervivencia o el letargo	
i) endosporas	<input type="checkbox"/>
ii) quistes	<input type="checkbox"/>
iii) esclerocios	<input type="checkbox"/>
iv) esporas asexuales(hongos)	<input type="checkbox"/>
v) esporas sexuales (hongos)	<input type="checkbox"/>
vi) huevos	<input type="checkbox"/>
vii) pupas	<input type="checkbox"/>
viii) larvas	<input type="checkbox"/>
ix) otras (especificuense): Ninguno	
b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia	

**10. a) Vías de diseminación**

Tanto el OMG como su parental Rev1 son más susceptibles que otras *Brucellae* a diferentes factores ambientales como la desecación, los detergentes y el pH.

**10. b) Factores que afectan a la diseminación**

*Brucella* puede ser eliminada de los animales por semen, secreciones vaginales, placentas, fluidos placentarios, fetos abortados y leche; fuera de los animales, puede diseminarse por el aire, objetos, leche y alimentos derivados contaminados; y puede transmitirse a otros animales y al ser humano, por vías conjuntival, mucosas,

heridas, ingestión de productos contaminados o inoculación accidental. La transmisión de persona a persona es extremadamente rara.

11. Modificaciones genéticas previas del organismo receptor o parental de las que ya se ha notificado la liberación en el país notificador (se darán los números de la notificación)

No aplicable

### C. Información sobre la modificación genética

1. Tipo de modificación genética:

i) Inserción de material genético	<input type="checkbox"/>
ii) Eliminación de material genético	<input checked="" type="checkbox"/>
iii) Sustitución de una base	<input type="checkbox"/>
iv) Fusión celular	<input type="checkbox"/>
v) Otro (especifíquese)	

2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética

Obtener una cepa viva más segura e igual o más eficaz frente a la infección por *Brucella melitensis*, que la cepa vacunal Rev1 de la que procede.

3. a) ¿Se ha usado un vector en el proceso de modificación?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso negativo, pase a la pregunta 5.	

3. b) En caso afirmativo, ¿está presente el vector, total o parcialmente, en el organismo modificado?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso negativo, pase a la pregunta 5	

4. Si ha contestado afirmativamente a la pregunta 3 b), aporte la información siguiente

a) Tipo de vector	
plásmido	<input type="checkbox"/>
bacteriófago	<input type="checkbox"/>
virus	<input type="checkbox"/>

cósmido	<input type="checkbox"/>
Elemento de transposición	<input type="checkbox"/>
Otros (especifíquense):	
b) Identidad del vector:	
c) Gama de organismos huéspedes del vector:	
d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable	
Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Resistencia a los antibióticos	<input type="checkbox"/>
Otras, (especifíquense)	
Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta:	
e) Fragmentos constituyentes del vector	
f) Método de introducción del vector en el organismo receptor	
i) transformación	<input type="checkbox"/>
ii) electroporación	<input type="checkbox"/>
iii) macroinyección	<input type="checkbox"/>
iv) microinyección	<input type="checkbox"/>
v) infección	<input type="checkbox"/>
vi) otros, (especifíquense)	

5. Si las repuestas a C. 3) a) y b) son negativas, ¿qué método se siguió en el proceso de modificación?

i) transformación	<input type="checkbox"/>
ii) microinyección	<input type="checkbox"/>
iii) macroencapsulación	<input type="checkbox"/>
iv) macroinyección	<input type="checkbox"/>

- v) otros, (especifiquense): Mutagénesis dirigida por delección en fase del gen de interés (*wzm*) y posterior recombinación homóloga del gen delecionado con el gen de tipo salvaje, sin inserción de material genético adicional, ni inducción de resistencias antibióticas.

6. Información sobre el fragmento de inserción:

a) Composición del fragmento de inserción: No aplicable (se trata de una recombinación homóloga con gen *wzm* salvaje delecionado en un 80%).

b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción: No aplicable

c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG: Ninguna

d) Localización del fragmento de inserción en el organismo receptor:

- en un plásmido libre

- integrado en el cromosoma

- Otros especifiquense):

e) ¿Contiene el fragmento de inserción partes cuyo producto o función no se conozcan?

Sí

No

En caso afirmativo, especifiquese:

**D. Información sobre el organismo u organismos de los que se deriva el fragmento de inserción (donante). No Aplica**

1. Indíquese si es:

Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input type="checkbox"/>
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input type="checkbox"/>
- mamíferos	<input type="checkbox"/>
- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/> (especifique el phylum y la clase):
Otros (especifíquense)	

2. Nombre completo

i) Orden y taxón superior (animales):
ii) Familia (plantas):
iii) Género:
iv) Especie:
v) Subespecie:
vi) Cepa:
vii) Cultivar/línea de reproducción:
viii) Patovar:
ix) Nombre vulgar:

3. ¿Es el organismo vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier otra forma?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
-----------------------------	-----------------------------	-------------------------------------

En caso afirmativo, especifíquese		
a) ¿para cuál de los organismos siguientes?	humanos	<input type="checkbox"/>
	animales	<input type="checkbox"/>
	plantas	<input type="checkbox"/>
	otros	<input type="checkbox"/>
b) ¿están implicadas de alguna forma las secuencias donadas en las propiedades patógenas o nocivas del organismo?		
Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, proporcione la información pertinente de conformidad con la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II del Anexo III A:		

4. ¿Está clasificado el organismo donante con arreglo a normas comunitarias vigentes en relación con la protección de la salud humana y el medio ambiente como, por ejemplo, la Directiva 90/679/ CEE sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo , especifíquese:	

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

Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
-----------------------------	-----------------------------	-------------------------------------

**E. Información sobre el organismo modificado genéticamente**

1. Rasgos genéticos y características fenotípicas del organismo receptor o parental que hayan sufrido algún cambio como resultado de la modificación genética

a) ¿Se diferencia el OMG del receptor en lo que a capacidad de supervivencia se refiere?		
Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
Especifíquese: Se han realizado estudios de susceptibilidad en diferentes condiciones de disponibilidad de nutrientes, temperaturas de incubación, pH, detergentes, estrés oxidativo, estrés osmótico, UV y resistencia a la desecación, demostrando que la supervivencia del OMG es significativamente inferior a las de las cepas de campo.		
b) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción?		

Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/>
Especifíquese:
c) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la diseminación?
Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/>
<p>Especifíquese: En base a la amplia información existente en ganado ovino, no se espera que el OGM sea excretado por los animales vacunados y, si llegara al medio ambiente, su susceptibilidad a factores ambientales debería impedir su diseminación. Incluso en un entorno próximo, se precisarían altas dosis para infectar a otros animales, impidiendo que continuara su diseminación.</p> <p>En cualquier caso, la existencia de un grupo de ovejas control PBS en la misma nave que los dos grupos vacunados con el OMG, permitirá utilizarlos como centinela mediante seguimiento serológico y bacteriológico.</p>
d) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad?
Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/>
<p>Especifíquese: El OMG está mucho más atenuado que la cepa vacunal Rev1 de la que procede, tanto en cultivos celulares como en modelos murinos (habituales para el estudio de los factores de virulencia de <i>Brucella</i>). Además, se sabe que no producen enfermedad ni excreción cuando se vacuna ganado ovino de distintas edades, sexos y momentos de la gestación.</p>

**2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente**

El OGM es estable indefinidamente. Se han llevado a cabo estudios de estabilidad después de múltiples pases en medios de cultivo y después del aislamiento de tejidos de ratón, en diferentes intervalos posteriores a la inoculación. En todos los casos el OGM ha mantenido sus características genotípicas y fenotípicas.

**3. ¿Es el OMG, vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier forma?**

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo:		
a) ¿Para cuál de los organismos humanos siguientes?		<input type="checkbox"/>
	animales	<input type="checkbox"/>
	plantas	<input type="checkbox"/>
	otros	<input type="checkbox"/>

b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II y en el inciso i) del punto 2 de la letra C de la sección II del anexo III A

#### 4. Descripción de los métodos de identificación y detección

a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG:  
Cultivo en medio selectivo de *Brucella* diseñado específicamente para el aislamiento del OMG, tras comprobar que es susceptible a los antibióticos contenidos en los medios rutinarios, como el medio de Farrell (OIE 2018).

b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:

### F. Información sobre la liberación

#### 1. Finalidad de la liberación (incluido todo beneficio ambiental potencial significativo esperado):

El estudio comprende dos etapas: 1º) Vacunación de ovejas y estudio de la respuesta inmune generada, en las instalaciones del IGM (León); y 2º) Infección experimental a mitad de gestación con *B. melitensis* H38, en las instalaciones BSL3 de VISAVET-UCM (Madrid). Por lo tanto, la finalidad de la liberación que se solicita es el mantenimiento de ovejas de un año de edad no gestantes y sincronización de gestaciones (a las 4 semanas post-vacunación), en las condiciones habituales de la granja, hasta su transporte a las instalaciones BSL3 de VISAVET-UCM en el día 60 de gestación, para realizar un challenge frente a *B. melitensis* en el día 75 de gestación.

El beneficio esperado de este estudio es comprobar si el OMG desarrollado, además de ser seguro e inmunogénico en ganado ovino, confiere protección frente a la infección virulenta en ganado ovino gestante (situación de máxima vulnerabilidad a la infección).

2. ¿Es diferente el lugar de liberación del hábitat natural o del ecosistema en el que se utiliza, se mantiene o se encuentra regularmente el organismo receptor o parental?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese:	

3. Información relativa a la liberación y a la zona circundante

a) Localización geográfica (región administrativa y coordenadas de referencia cuando proceda): Instituto de ganadería de Montaña. Carretera León-Vega de infanzones.
b) Área del lugar (m <sup>2</sup> ): Se inoculará a animales experimentales alojados en recintos cerrados (75m <sup>2</sup> ) <ul style="list-style-type: none"> <li>i) lugar real de la liberación (m<sup>2</sup>): Local cerrado de 75 m<sup>2</sup> en los 1350 m<sup>2</sup> que tiene la Nave Experimental 1</li> <li>ii) área de liberación más amplia (m<sup>2</sup>): 255 468 m<sup>2</sup></li> </ul>
c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados: No aplica.
d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG: En el instituto de ganadería de Montaña se realizan diferentes estudios experimentales en pequeños rumiantes. Es probable que coincidan en el tiempo algunos de estos estudios y aquel que se pretende realizar con el OMG. Sin embargo, los animales de los diferentes estudios se encuentran aislados en alojamientos físicamente separados y con puertas de acceso, lo que hace altamente improbable que los animales experimentales de un estudio entren en contacto directo con los de otro.

4. Método y amplitud de la liberación

a. Cantidad de OMG que vaya a liberarse: No aplica. El OMG se va a utilizar para la vacunación y no se espera que se excrete.
b. Duración de la operación: El día de la vacunación. Los animales permanecerán en la granja durante 3 meses.
c. Métodos y procedimientos para evitar o reducir al mínimo la propagación de los OMG más allá del lugar de liberación: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Los animales se alojarán en una nave cerrada, con acceso restringido.</li> <li>- El acceso a la finca del IGM también está restringido a personal autorizado; pediluvio; cambio de ropa de trabajo.</li> <li>- Procedimientos de trabajo estándar que incluyen todas las actividades: gestión de muestras, residuos, equipos de protección individual (EPI) no reutilizables para el</li> </ul>

personal.

- Seguimiento por toma de muestras semanales de sangre y fluidos vaginales; con limpieza y desinfección del área de muestreo y de los materiales de transporte de las muestras recogidas.

- La liberación finalizará con el transporte de los animales a las instalaciones de VISAVET-UCM.

- En caso de ser necesaria alguna necropsia por fuerza mayor, ésta se realizará habilitando una zona desinfectable, en el interior de la nave cerrada donde se alojan los animales. Las canales se considerarán SANDACH tipo I.

- El transporte de las muestras desde la granja hasta el laboratorio se realizará de acuerdo con la Orientación sobre las regulaciones para el transporte de sustancias infecciosas 2017-2018 (OMS)-

- Limpieza y desinfección de corrales tras finalizar la experiencia.

5. Descripción resumida de las condiciones ambientales medias (clima, temperatura, etc.)

Condiciones típicas del clima mediterráneo continental, como se describe en:

<https://es.climate-data.org/europe/espana/castilla-y-leon/leon-718/>

6. Datos pertinentes sobre liberaciones anteriores del mismo OMG. Si los hubiera, específicamente relacionados a las repercusiones potenciales de la liberación en el medio ambiente y la salud humana

Desde 2018, se han realizado distintos estudios con el OMG. Primero, se utilizó bajo Uso Confinado en el laboratorio BSL3 del Instituto de Agrobiotecnología (Navarra), para distintos estudios en ratones; y en el animalario BSL3 de VISAVET-UCM, para estudios de seguridad en ovejas gestantes; tras comprobar que no se excretaba al medio ambiente, se utilizó bajo Liberación Voluntaria en el BSL2 de Rascafría (UCM) para estudios en corderos, carneros, ovejas adultas gestantes y no gestantes, y en el BSL2 de AM Animalia SL (Gerona) para estudios de seguridad y respuesta inmune en ovejas en distintos tercio de gestación.

En todos los estudios, el OMG ha mostrado resultados favorables de seguridad y respuesta inmune, con ausencia de excreción por lágrimas, heces, orina, vagina ni semen, persistencia en ganglios linfáticos u órganos inferior a 8 semanas, y ausencia de transmisión vertical a fetos. Por lo tanto, no se espera liberación del OMG al medio ambiente que, en cualquier caso, tendría una supervivencia muy limitada (ver sección E). Asimismo, ninguna de las personas implicadas directamente en los experimentos con el OMG ha padecido infección por el OMG; en dicho caso, la alta susceptibilidad antibiótica del OMG implicaría alta eficacia de los tratamientos convencionales.

**G. Interacciones del OMG con el medio ambiente y repercusiones potenciales sobre éste, si es apreciablemente diferente del organismo receptor o parental.**

1. Nombre del organismo diana (si procede):

No procede

i) Orden y taxón superior (animales):
ii) Familia (plantas):
iii) Género:
iv) Especie:
v) Subespecies:
vi) Cepa:
vii) Cultivar/Línea de reproducción:
viii) Patovar:
ix) Nombre vulgar:

2. Mecanismo previsto y resultado de la interacción entre los OMG liberados y el organismo diana (si procede)

No procede
------------

3. Otras interacciones potencialmente significativas con otros organismos en el medio ambiente

No procede
------------

4. ¿Es probable que se dé una selección posterior a la liberación del OMG como, por ejemplo, una competencia mayor un carácter más invasivo, etc.?

Sí	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe
Especifíquese:		

5. Tipos de ecosistemas a los que puede extenderse el OMG desde el lugar de liberación y en los cuales puede quedar establecido

La susceptibilidad del OMG a detergentes, factores ambientales y antibióticos, así como las altas dosis requeridas para lograr la infección incluso en el hospedador natural (ovino) hace poco probable la extensión y perduración del mismo desde el lugar de la liberación.
---

6. Nombre completo de los organismos que no son el organismo diana, pero que (teniendo en cuenta la naturaleza del medio ambiente receptor) pueden sufrir accidentalmente daños importantes por la liberación del OMG.

No aplicable

i) Orden y taxón superior (animales):
ii) Familia (plantas):
iii) Género:
iv) Especie:
v) Subespecie:
vi) Cepa:
vii) Cultivar/línea de reproducción:
viii) Patovar
ix) Nombre vulgar:

7. Probabilidad de intercambio genético en vivo

a) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación: No posible
b) De otros organismos al OMG: No posible
c) Consecuencias probables de la transferencia de genes: No posible

8. Referencias de los resultados pertinentes (si los hay) de estudios sobre el comportamiento y las características del OMG sobre su repercusión ecológica llevados a cabo en ambientes naturales simulados (por ejemplo, microcosmos, etc.)

Se han realizado estudios de supervivencia del OMG en diferentes condiciones nutricionales, desecación, estrés osmótico, estrés oxidativo, temperatura, UV y pH. A través de estos experimentos, hemos tratado de simular las condiciones en las que el microorganismo se puede encontrar en el medio ambiente. Los resultados de estas pruebas han demostrado que el OMG tiene menor supervivencia que las *Brucellae* virulentas.

9. Posibles interacciones ambientalmente significativas con procesos biogeoquímicos (si son diferentes del organismo receptor o parental)

No aplica

## H. Información sobre el seguimiento

### 1. Métodos de seguimiento de los OMG

Se tomarán muestras de secreciones vaginales y sangre, semanalmente, para seguimiento bacteriológico y serológico de los animales, durante todo el estudio.

### 2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

En los estudios realizados hasta el momento, el OMG ha mostrado ausencia de excreción por lágrimas, heces, orina, vagina ni semen, persistencia en ganglios linfáticos u órganos inferior a 8 semanas, y ausencia de transmisión vertical a fetos. Por lo tanto, no se espera presencia del OMG en el medio ambiente; en cualquier caso, tendría una supervivencia muy limitada en el ecosistema (ver sección E).

En todas las manipulaciones del OMG y de los animales se utilizarán métodos de desinfección de materiales y superficies.

### 3. Métodos de detección de la transferencia del material genético donado del OMG a otros organismos

No procede.

### 4. Tamaño del área de seguimiento (m<sup>2</sup>)

255 468 m<sup>2</sup>

### 5. Duración del seguimiento

Durante todo el estudio y posterior limpieza y desinfección de los corrales al finalizar el estudio.

### 6. Frecuencia del seguimiento

Semanal

## I. Información sobre el tratamiento post-liberación y el tratamiento de residuos

### 1. Tratamiento del lugar tras la liberación

De acuerdo con la experiencia existente, durante el periodo que los animales estarán en el IGM (desde la vacunación hasta la mitad de la gestación), no se espera que exista excreción del mismo por parte de los animales.

El agente OMG será inoculado a los animales por vías subcutánea (zona axilar izquierda) o conjuntival (30 µL/ojo, con ayuda de una micropipeta) por personal experimentado (Dra. MJ Grilló); en su experiencia, los derrames son poco probables y, para minimizarlos, se llevará siempre a mano material para desinfectar inmediatamente la zona afectada. En ese caso, la cama desinfectada se dispondrá en bolsas de color rojo (Deltalab) para su autoclavado y se tomarían hisopos de la zona

desinfectada para comprobación microbiológica (en el medio de cultivo selectivo que permite el crecimiento del OMG) y molecular (PCR).

Una vez finalizado el estudio, se procederá a la recogida y eliminación del estiércol según el método descrito más adelante, y posterior limpieza y desinfección de la nave con Virkon (Zotal).

Además, los alojamientos para animales de experimentación cuentan con unas medidas de control, limpieza y desinfección comunes en las instalaciones de uso ganadero.

## 2. Tratamiento del OMG tras la liberación

No se realizará ningún tratamiento sobre el OMG ya que este será inoculado a animales experimentales y no se espera su excreción.

## 3. a) Tipo y cantidad de residuos producidos

En el momento de la vacunación, se producirán residuos de jeringuillas, agujas y puntas de micropipeta contaminados con el OMG, así como los guantes, mascarillas y buzos desechables empleados durante este proceso.

Por parte de los animales, el único residuo generado durante el periodo de estudio (desde inoculación hasta mitad de gestación) será estiércol y aguas residuales. En cualquier caso, es relevante volver a recordar que, de acuerdo a la experiencia de trabajo previo con este agente, no se espera que estos residuos estén contraminados con el agente OMG ya que los animales inoculados no lo excretarían y, en su caso, el OMG tendría escasa persistencia en el medio ambiente.

## 3. (b) Tratamiento de residuos

Los residuos y demás material desechable generado durante la vacunación serán recogidos en un contenedor de residuos sanitario, que será cerrado herméticamente, desinfectado externamente y eliminado mediante una empresa especializada en la gestión de estos residuos.

Las camas del ganado ovino y/o caprino, compuestas por estiércol y paja de cereal, son almacenados en un estercolero, situado en una parcela del complejo de la Finca Marzanas, que cumple con las condiciones de impermeabilidad, está provisto de una fosa para recoger los lixiviados y cuenta con prados y tierras dedicadas a la siembra de cereal y de alfalfa.

Tras un periodo de almacenamiento mínimo de 5 meses para compostaje, el estiércol suele ser reciclado para uso agrícola en el abonado de prados y tierras dedicadas a la siembra de cereal y de alfalfa. Este protocolo se ha establecido de acuerdo con las recomendaciones para la gestión de estiércol y camas animales en el documento sobre Prevención y Control de la infección por *Coxiella burnetti* en animales y personas (Anderson et al., 2013) donde, al contrario de lo que ocurre con el OMG para el que se solicita el estudio, se contempla la excreción de dicho agente del grupo 3 (Real Decreto 664/1997). Por lo tanto, las medidas de gestión del estiércol se consideran suficientes para controlar la diseminación de agentes del grupo 2 que pudieran haberse derramado por la cama de los animales.

Por su parte, las aguas residuales son recogidas en una fosa de purines y, dado que

se componen de deyecciones líquidas de los animales y de agua de limpieza, que no contiene detergentes ni productos contaminantes, también se utilizan como abono.

## **J. Información sobre planes de actuación en caso de emergencia**

### **1. Métodos y procedimientos de control de la diseminación del OMG o de los OMG en caso de dispersión imprevista**

La única situación en la que se podría producir diseminación del OMG es el momento de la vacunación de los animales, por derrame accidental del inóculo. Para minimizarlo, la vacunación será realizada por personal experto (Dra. MJ Grilló) y disponiendo de desinfectante (Virkon S, Zotal) a mano para actuar de forma inmediata, en caso necesario. Además de desinfectar el área afectada, la cama y materiales afectados se eliminarán en bolsas de color rojo (Deltalab) para su posterior autoclavado.

En cualquier caso, el seguimiento serológico del grupo de ovejas control (inoculadas con PBS) alojadas en la misma nave que los dos grupos vacunados con el OMG, permitirá utilizarlos como animales centinela.

### **2. Métodos de eliminación del OMG o de los OMG de las áreas potencialmente afectadas**

Recogida y eliminación del estiércol según el método descrito. Limpieza posterior con agente desinfectante (Virkon) de las superficies donde se alojan los animales.

### **3. Métodos de eliminación o saneamiento de plantas, animales, suelos, etc. que pudieran ser expuestos al organismo durante la dispersión o después de la misma**

No se contempla exposición del OMG a otros animales o personas, excepto los directamente implicados en el estudio. En cualquier caso, la dosis de infección del OMG tendría que ser muy elevada ( $>10^{10}$  UFC/oveja), no se espera excreción del OMG, la transmisión de *Brucella* entre personas es extremadamente rara (no demostrada hasta la fecha), y la susceptibilidad del OMG a los antibióticos indica que un tratamiento preventivo con doxiciclina u otra tetraciclina del personal que hubiera entrado en contacto con el agente, sería efectivo para prevenir la infección.

La existencia de un grupo de ovejas control PBS en la misma nave que los dos grupos vacunados con el OMG, permitirá utilizarlos como centinela mediante seguimiento serológico y bacteriológico.

### **4. Planes de protección de la salud humana y del medio ambiente en caso de que se produzca un efecto no deseable**

El accidente podría producirse por inoculación accidental con jeringas o cortes con material contaminados con el OMG; o por aerosoles que entren en contacto directo con conjuntivas o mucosas. No obstante, el personal dispone de experiencia para el trabajo en condiciones de bioseguridad, así como de las categorías de experimentación animal necesarias. Además, se trata de ganado ovino, cuyo carácter es muy dócil, lo que permite un manejo controlado que reduce los accidentes.

En caso de accidente, se comunicará al Servicio de Prevención del CSIC, para

aplicar los protocolos de actuación establecidos y las medidas de diagnóstico y tratamiento que establezcan los médicos. No obstante, la necesidad de altas dosis del OMG para inducir infección, junto con la alta susceptibilidad del mismo a los antibióticos, debería permitir el control inmediato de cualquier infección sin complicaciones.