



MINISTERIO
DE MEDIO AMBIENTE

PARTE A

SECRETARIA GENERAL DE
MEDIO AMBIENTE

Tipos 2, 3 y 4

DIRECCION GENERAL DE
CALIDAD Y EVALUACION
AMBIENTAL

**NOTIFICACIÓN SOBRE OPERACIONES DE UTILIZACIÓN CONFINADA DE
ORGANISMOS MODIFICADOS GENETICAMENTE**

Nº de Registro:	Nº de Notificación:

I. INFORMACIÓN GENERAL

A. Notificador

- 1) Nombre y titulación del responsable de la notificación:

Dr. Luis Enjuanes Sánchez
Profesor de Investigación (CSIC)

- 2) Centro, Institución o Empresa:

Centro Nacional de Biotecnología (CNB)
Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)

- 3) Domicilio:

Centro Nacional de Biotecnología (CSIC)
Campus Universidad Autónoma. Cantoblanco
28049-Madrid

- 4) Persona de contacto:

Fernando Usera Mena
Responsable del Servicio de Protección Radiológica y Seguridad Biológica

Tel: 915854541
Fax: 915854506
Correo electrónico: fusera@cnb.uam.es



B. Instalación donde se va a desarrollar la operación de utilización confinada (sí previamente ha sido comunicada para este tipo de operaciones):

- 1) Fecha de comunicación de la notificación relativa a la instalación:

7/03/01

- 2) Número de Notificación:

A/ES/00/I-8

C. Información sobre el personal y su formación (Titulación y experiencia en el sector):

- 1) Responsable de la actividad de utilización confinada objeto de la notificación:

Dr. Luis Enjuanes Sánchez, jefe del laboratorio 114 del CNB
Profesor de investigación del CSIC, con 20 años de experiencia en la investigación sobre coronavirus

- 2) Responsables de la vigilancia y/o control (sólo en el caso que sean diferentes que los notificados para el caso de las instalaciones):

Fernando Usera Mena, Doctor en Ciencias. Investigador Titular de Organismos Públicos de investigación. Responsable del Servicio de Protección Radiológica y Seguridad Biológica del CNB desde 1993



I. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD:

1) Finalidad de la actividad:

Construcción segura de un vector viral basado en el virus de la gastroenteritis porcina transmisible (TGEV) que infecte células humanas con objeto de utilizarlo en vacunas o terapia génica.

2) Clasificación de la actividad conforme al artículo 5 y Anexo III de la Directiva 98/81/CE y Decisión de la Comisión 2000/608/CE, de 27 de septiembre:

Se clasifican como de Actividad Tipo 3 (actividad de alto riesgo en la que el grado 3 de confinamiento es suficiente para proteger la salud humana y el medio ambiente) las operaciones relacionadas con la obtención, caracterización e hiperatenuación del nuevo OMG. Una vez se haya comprobado la obtención de un virus que es deficiente en propagación (OMG) mediante la delección del gen esencial E, o la hiperatenuación por delección del gen 7, la actividad puede clasificarse como Tipo 2 (actividad de bajo riesgo en la que el grado 2 de confinamiento es suficiente para proteger la salud humana y el medio ambiente).

II. INFORMACIÓN SOBRE EL ORGANISMO RECEPTOR O PARENTAL DEL CUAL SE DERIVA EL OMG

1) Nombre científico: Virus de la gastroenteritis porcina transmisible, forma recombinante rTGEV-C11-RS

Taxonomía: Familia *Coronaviridae*

Nombre común: Virus de la gastroenteritis porcina transmisible (TGEV).

2) Descripción de los métodos de identificación y aislamiento.

a) Técnicas de aislamiento:

El virus recombinante rTGEV se construyó por ingeniería genética partiendo de un clon cDNA del virus silvestre TGEV, al que se le añadieron dianas únicas para enzimas de restricción entre los genes y se duplicaron algunas secuencias entre los mismos, ya que los genes del genoma de TGEV solapan parcialmente. El clon se ensambló en un cromosoma artificial de bacterias (BAC). Este es el plásmido con el que se va a trabajar, y solo ocasionalmente con el virus recombinante en él codificado.

b) Técnicas de identificación:

El rTGEV se identificó mediante microscopía de fluorescencia utilizando anticuerpos monoclonales específicos marcados. También se identificó por RT-PCR mediante oligonucleótidos específicos de secuencias conservadas.



c) Marcadores genéticos:

Los marcadores genéticos son las dianas de restricción únicas que se han introducido flanqueando los genes.

d) Marcadores fenotípicos:

La infección de células, como células de testículo de cerdo ST por el virus rescatado tras la transfección con dicho plásmido induce sincitios.

e) Estabilidad genética:

La estabilidad genética del cromosoma artificial de bacterias que se va a utilizar es alta. La estabilidad genética del virus recombinante que codifica también es alta, la típica de un virus con genoma RNA.

3) Posibles modificaciones genéticas anteriores:

El fragmento de DNA que codifica para rTGEV-RS lleva algunas modificaciones genéticas, expresadas en el apartado 2.a). estas modificaciones se han introducido para eliminar genes más fácilmente.

4) ¿Se considera patógeno el organismo receptor o parental?

SI NO

El cromosoma artificial de bacterias que codifica para rTGEV no es patógeno, pero el virus codificado en él sí que lo es.

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:

El virus codificado por el BAC es patógeno de cerdos, en los que causa una enteritis suave. Al haberse hecho modificaciones para introducir dianas de restricción únicas entre los genes el virus es menos virulento que la cepa silvestre.

No infecta plantas, humanos ni otras especies animales, con la excepción de gatos en los que causa gastroenteritis.

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

No aplica



- a) ¿De que 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 No aplica

Porqué: No aplica

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

Las células de testículo de cerdo (ST) en las que se ha cultivado el virus para construir a partir de él el cDNA que se introdujo en el cromosoma artificial de bacterias podrían contener retrovirus endógenos porcinos.

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

A lo largo de 20 años de trabajo con el virus silvestre TGEV, y de 2 años con el virus recombinante rTGEV, se ha comprobado que no infectan a humanos. Hay que mencionar que siempre se ha trabajado con estos virus utilizando infraestructura de confinamiento y normas de seguridad correspondientes al grado 2 de confinamiento para prevenir posibles escapes a granjas, en las que los animales como cerdos sí que podrían ser infectados.

- 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?:

El cromosoma artificial de bacterias que codifica para el virus rTGEV no es capaz de sobrevivir fuera de las bacterias. Respecto al virus que codifica dicho plásmido, sí que es capaz de sobrevivir fuera de las condiciones de cultivo, es un virus que se transmite por el aire. Sabemos que su infectividad disminuye en 10 unidades cuando es sometido a una temperatura de 37°C durante 24 horas, y que se inactiva por la radiación solar.

En caso afirmativo:

- b) Capacidad de crear estructuras de resistencia o letargo:

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



- vii) virus
- viii) otros, especifíquese

c) Otros factores que afectan la capacidad de supervivencia:

El cromosoma artificial de bacterias es incapaz de sobrevivir fuera de la bacteria que se ha transformado con el mismo.

El virus codificado por el BAC además de por la radiación solar, se inactiva por agentes químicos como detergentes, hipoclorito, etc. La capacidad de supervivencia del rTGEV es similar a la del TGEV

d) Posibles nichos ecológicos:

El cromosoma artificial de bacterias no se encuentra en la naturaleza, solo está en el laboratorio dentro de las bacterias del género *E. coli*.

El virus TGEV silvestre y el recombinante codificado por el BAC tienen como nicho ecológico al cerdo y sus variantes silvestres como el jabalí. Por tanto se puede encontrar presente en granjas porcinas y en todos los nichos donde se encuentre el jabalí.

No se han descrito vectores tales como artrópodos.

e) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:

En jabalíes el tiempo de generación del virus silvestre es menor de 24 horas.

10) Efectos posibles sobre el medio ambiente:

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

El plásmido que se va a utilizar no se encuentra en el medio ambiente, solo está en las bacterias que se han transformado con él en el laboratorio.

Respecto al virus que codifica se ha construido en el laboratorio, no se encuentra en el medio ambiente y se considera poco probable que salga al mismo.

b) Interacciones con otros organismos y efectos sobre éstos:

El cromosoma artificial de bacterias no interacciona con otros organismos ya que está confinado a las bacterias que existen en el laboratorio y es poco probable que salga de él ya que es incapaz de propagarse.

Respecto al virus que codifica dicho plásmido no se han descrito interacciones con otros organismos aparte de los citados anteriormente.

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

El virus silvestre se podría encontrar en granjas porcinas y en los ecosistemas en los que se encuentre el jabalí.



12) Hábitat natural del organismo:

No se conoce.

IV. INFORMACIÓN RELATIVA AL ORGANISMO DONANTE

1) Nombre científico: HCoV-NL63

Taxonomía: Familia *Coronaviridae*

Nombre común: Coronavirus humano NL63

2) Tipo de material genético utilizado para la transformación:

cDNA del gen S del virus HCoV-NL63, que codifica las espículas del virus, determinantes de su tropismo.

3) Función prevista del material genético utilizado en la modificación genética:

El gen S codifica las espículas del virus, que son proteínas que se unen específicamente al receptor celular, permitiendo la entrada del virus en la célula. Por lo tanto, el material genético que se va a utilizar es determinante del tropismo de especie y tejido del virus. En este caso lo que se pretende es cambiar el tropismo de especie del rTGEV, de porcino a humano con objeto de obtener un vector viral para vacunación o terapia génica

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

SI NO

a) En caso afirmativo, especificar para que organismos:

i) seres humanos

ii) animales

iii) plantas

b) ¿De que modo se manifiesta la patogenicidad?

Causante de afecciones respiratorias y raras veces bronquitis en niños de corta edad.

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

Sí, se va a insertar el gen S de HCoV-NL63, que codifica para las espículas, determinantes del tropismo del virus.



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

El intercambio de material genético entre los organismos donante y receptor es muy improbable, dado que ambos organismos infectan especies diferentes, con la excepción del gato. Por tanto, en esta especie el intercambio sería posible.

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 | <input type="checkbox"/> |

- 2) Finalidad de la modificación genética:

Cambiar el tropismo del virus rTGEV-C11 para que infecte el tracto entérico en humanos con el fin de obtener un vector viral para humanos que se hará deficiente en propagación y se empleará para vacunas y terapia génica.

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

Clonación del gen S del virus HCoV-NL63 y reemplazamiento del gen S de rTGEV-C11 por el gen S del virus HCoV-NL63 en un cromosoma artificial de bacterias (BAC) que codifica para el virus rTGEV-C11.

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

SÍ NO

Para la clonación del gen S por RT-PCR se van a utilizar oligonucleótidos con las dianas de restricción presentes en el BAC y que flanquean los extremos del gen S por lo que no se necesitará usar ningún plásmido para el proceso de modificación.

En caso afirmativo:

- Tipo e identidad del vector: Cromosoma artificial bacteriano
- Dimensiones del vector (pares de bases): 7000 nucleótidos
- 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): Descrito en el artículo (1).

- d) Gama de hospedadores del vector: Bacterias
- e) Características de la movilidad del vector:
 - i) factores de movilización: No tiene
 - ii) Si el vector es un bacteriófago, un cósmido o un fásmid, ¿se han inactivado sus propiedades lisogénicas?: No aplica
 - iii) ¿Puede transferir el vector marcadores de resistencia a otros organismos?: No aplica

5) Información del inserto:

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

El inserto que se va a introducir en el cromosoma artificial de bacterias es el gen S del coronavirus HCoV-NL63. La secuencia del gen S es de 4.068 nucleótidos y se va a introducir en el BAC solo dicha secuencia.

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

El inserto corresponde al gen S del virus HCoV-NL63. La función de dicho gen es unirse al receptor celular, paso necesario para la internalización del virus. Por ello este gen es determinante del tropismo y especie del virus.

- c) Descripción del método utilizado para la transformación:

Lipofección. El plásmido que contiene el DNA correspondiente al gen S se va a acomplejar con lípidos para facilitar la entrada de dicho DNA en la célula.

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

El inserto solo contiene el gen S de HCoV-NL63, determinante del tropismo del virus.

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

El inserto solo contiene las secuencias reguladoras de la transcripción correspondientes al gen S de HCoV-NL63.

- 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?

Se va a utilizar un plásmido libre que codifica para el virus TGEV recombinante con tropismo entérico humano, ya que se ha sustituido su gen S por el gen S del HCoV-NL63.

En caso afirmativo:

i) Número de copias

El cromosoma artificial de bacterias con el que se van a transformar dichos organismos es de bajo número de copias, 1 o 2 copias por bacteria.

ii) ¿El plásmido recuperado corresponde al construido?

El plásmido recuperado no es igual al construido, la diferencia es que va a tener el gen S del virus HCoV-NL63 en vez del gen S del virus TGEV.

b) ¿Está integrado en los cromosomas nucleares?

No

En caso afirmativo:

i) Número de copias: No aplica

ii) Localización cromosómica: No aplica

iii) Secuencias laterales: No aplica

iv) ¿La inserción inactiva la expresión de otros genes?: No aplica

c) Si se trata de un virus:

El cromosoma artificial de bacterias que se va a utilizar codifica un virus TGEV recombinante, al que se le ha cambiado el tropismo, por lo que al transfectar células con dicho vector se pueden rescatar virus recombinantes.

i) Es defectivo



- ii) Es potencialmente inducible

Al virus modificado genéticamente se le deletará posteriormente el gen E, esencial para la replicación del virus con el objeto de que el virus rescatado no se pueda propagar. Este virus defectivo se crecerá en células empaquetadoras que se van a construir y que complementen el gen deletado.

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

- i) Determinación de la estructura del inserto (secuenciación)
- ii) Transcripcionales (síntesis de niveles de mRNA)
- iii) Traduccionales (síntesis de niveles de proteínas)

La secuenciación del inserto se va a realizar con anterioridad a la introducción en el cromosoma artificial de bacterias.

Aportar toda la documentación al respecto.

- 2) Características genéticas y fenotípicas modificadas del organismo receptor o parental 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:

Con respecto a los plásmidos parental y modificado, no son diferentes en lo que respecta a la capacidad de supervivencia fuera de las condiciones de cultivo, ya que ninguno de los dos es capaz de crecer fuera de ellas.

El virus recombinante rescatado del plásmido modificado será diferente del virus que se rescata del plásmido inicial, ya que el virus producido no se puede propagar, por haberse deletado un gen esencial, y además este virus crecerá en células humanas *in vitro* y en humanos *in vivo* mientras que el virus parental crece en cerdos.

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

El OMG y el organismo receptor son diferentes en cuanto a que el organismo receptor infecta y se reproduce en la especie porcina, mientras que el OMG infecta y no se reproduce en la especie humana ya que se le ha deletado el gen E.

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

Si es diferente, ya que el virus parental rescatado se puede propagar por el medio ambiente, mientras que el virus generado no se puede propagar por el medio ambiente ya que se le ha deletado un gen esencial.



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

Los virus rescatados son diferentes ya que uno necesita los nutrientes que necesita una célula de cerdo para crecer y el virus generado necesita los nutrientes que necesita una célula humana para crecer. De todas formas, el virus generado necesita el aporte de la proteína E de TGEV.

- e) Marcadores específicos del OMG:

El OMG tendrá el gen S del virus HCoV-NL63 en lugar del gen S del virus rTGEV, cepa C11. Además contendrá los marcadores genotípicos expresados en el apartado II. 2. c).

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

No se conoce, pero se prevé que la estabilidad genética del inserto sea alta, aunque podría sufrir algunas modificaciones puntuales en su secuencia en el paso de replicación.

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

El virus resultante no se prevé que se integre en el cromosoma del huésped, por lo que no se transferirá material genético al mismo. El virus generado podría transferir material genético a otros virus que infectaran el organismo, pero no se prevé que esto tenga consecuencias significativas.

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

El OMG en teoría podría infectar el intestino delgado de humanos, pero como se hará defectivo en el gen esencial E en caso de que infectara, no se podría propagar, por lo que no será patógeno en los mismos.

- 6) Descripción de métodos de identificación y aislamiento empleados.

- a) Técnicas utilizadas para la identificación del OMG.

Microscopía de fluorescencia mediante anticuerpos específicos de la proteína S del virus HCoV-NL63.

RT-PCR empleando oligonucleótidos complementarios de la secuencia del gen S del virus HCoV-NL63.

- b) Técnicas empleadas para aislar el OMG en el medio ambiente.

El OMG se aislará a partir de un BAC. Partiendo de dicho BAC, se extraerá el inserto, correspondiente al cDNA del virus modificado genéticamente. Con este cDNA se



transformarán células BHK-21 (línea celular de riñón de hamster), de las que se rescatará el virus infeccioso creciéndolo en células hepáticas humanas Huh-7.

El OMG no existirá en el medio ambiente, ya que su utilización se centrará en animales de experimentación y posteriormente en humanos y al haberse delecionado un gen esencial, no se podrá propagar al medio ambiente.

VII. DESCRIPCIÓN DE LAS OPERACIONES

1) Naturaleza de las operaciones:

- | | | |
|------------------|-------------------------------------|------------------------|
| a) Enseñanza | <input type="checkbox"/> | Volumen máximo: |
| b) Investigación | <input checked="" type="checkbox"/> | Volumen máximo: 250 ml |
| c) Desarrollo | <input type="checkbox"/> | Volumen máximo: |

2) Periodo propuesto para la utilización confinada:

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

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

Construcción segura de un vector viral basado en el virus de la gastroenteritis porcina transmisible (TGEV) que infecte células humanas con objeto de utilizarlo en vacunas o terapia génica. El virus generado será deficiente en un gen esencial, por lo que se espera que no se pueda propagar en el organismo, a otras zonas no deseadas.

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

En primer lugar se creará el virus HCoV-NL63 en células hepáticas humanas Huh-7 en pequeños volúmenes (menores a 25 ml) y en frasco cerrados para extraer el RNA y clonar el gen S del virus. El gen S clonado se utilizará para reemplazar el gen S del cromosoma artificial de bacterias (BAC) que codifica el virus rTGEV-C11.

En segundo lugar se creará el virus en volúmenes de 250 ml para concentrarlo y fijarlo. Con el fin de comprobar la identidad del virus se tomarán microfotografías electrónicas de contraste negativo y de transmisión en cortes de células infectadas.

Por último se delecionará el gen esencial E para hacer al virus defectivo e hiperatenuarlo.

5) Descripción de las medidas de confinamiento y protección que vayan a aplicarse incluida la información relativa a la gestión de los residuos (tratamiento, forma y destino final):

Todos los residuos biológicos que se generen serán inmediatamente inactivados dentro de los recintos de contención (cabinas de bioseguridad) mediante la utilización de



germicidas de amplio espectro usados en rotación. Posteriormente, los residuos líquidos ya inactivados se enviarán a la planta de tratamiento de efluentes líquidos del laboratorio y los sólidos se autoclavarán. Los procedimientos de autoclavado y esterilización por calor en la planta "Biowaste" se han validado previamente y se validarán periódicamente mediante la utilización de kits de esporas del microorganismo testigo *Bacillus stearothermophilus*. Estas validaciones se han realizado a nivel interno (servicio de bioseguridad del CNB) y a nivel externo (empresas especializadas en validaciones de estos sistemas). Para mayor información remitirse a la solicitud de autorización de la instalación.

6) Resultados previstos:

Se prevé obtener un virus modificado, capaz de infectar el tracto entérico humano, pero defectivo, lo que implica que el virus no se podrá propagarse en dicho tejido. Con ello, el vector viral se podrá utilizar para vacunación y para terapia génica.

VIII. INFORMACIONES ADICIONALES RELATIVAS A LA UBICACIÓN DE LA INSTALACIÓN

1) Proximidad a fuentes de peligro potenciales:

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

- El laboratorio está equipado con todos los medios e infraestructura de contención necesarios, resaltándose el sistema de tratamiento de aire y el sistema de inactivación biológica de efluentes líquidos. Es más, consideramos que el nivel de contención obtenido excede en determinados parámetros el exigido por la legislación para las operaciones confinadas de tipo 3.

- Estos medios e infraestructura ya se han validado previamente por una empresa externa y serán validados por ésta empresa u otras anualmente o tras averías. Igualmente, el servicio de Seguridad Biológica validará periódicamente a nivel interno todos los métodos y sistemas de inactivación biológica y esterilización mediante la utilización de microorganismos testigo utilizando diferentes métodos.

- La instalación dispone de un completo reglamento de funcionamiento donde se especifican las normas de higiene, protección, contención y gestión de residuos, tanto para el personal usuario como para el propio servicio de seguridad biológica. Con ello se pretende realizar una gestión integral en Bioseguridad. Todos los protocolos de manipulación, transporte y conservación de agentes biológicos y OMG, limpieza y sanitización de zona, esterilización e inactivación biológica se encuentran protocolizados por escrito y se dispone de programas de actuación para aquellos procedimientos en que sea conveniente.



- La instalación dispone de un plan de emergencias y evacuación que ha intentado cubrir todos los procedimientos de actuación ante supuestos de incidente, accidente y emergencia.
- Tanto el laboratorio, como las instalaciones que aseguran las necesarias medidas de contención secundaria, disponen de variados medios de alarma “in situ” y en la consola de control central del edificio ante la ruptura accidental de las barreras de contención secundaria.
- El índice de ocupación de las dependencias cercanas al laboratorio es muy bajo al tratarse de servicios de apoyo a la investigación o de laboratorios de técnicas especiales de uso común. No hay ningún laboratorio con un grupo de investigación anexo a la instalación.
- El Centro Nacional de Biotecnología (CNB) se encuentra enclavado en una zona relativamente nueva del Campus de la Universidad Autónoma de Madrid. Esta zona se caracteriza por la amplitud existente entre los edificios que la constituyen, fundamentalmente otros centros de investigación.
- No existen zonas residenciales cercanas al CNB.
- No existen en las cercanías cultivos, explotaciones ganaderas, cotos, reservas de caza, o zonas naturales protegidas o con especial interés ecológico.

2) Descripción de las condiciones climáticas predominantes:

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

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

Las operaciones indicadas se realizarán en uno de los tres sublaboratorios del laboratorio de cultivos “in vitro” de nivel 3 de contención biológica con autorización del 7/03/01; número de notificación: A/ES/00/I-8

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

1) Adopción de las Buenas Prácticas de Laboratorio:

Las normas a seguir serán las expuestas en el reglamento de funcionamiento del laboratorio de cultivos “in vitro” de nivel 3 de contención biológica incluido en la solicitud de autorización.



2) Formación del personal adscrito:

El personal adscrito ha recibido la formación e información indicada en “Descripción de la información suministrada a los trabajadores”, apartado que se adjuntó a la documentación para la solicitud de autorización del laboratorio de cultivos “in vitro” de nivel 3 de contención biológica.

Todo el personal implicado tiene experiencia en la manipulación de los agentes biológicos que se indican en esta solicitud y su formación académica es licenciatura o doctorado.

3) Programas de limpieza/desinfección/descontaminación:

Viene descrito en el apartado 6.F del reglamento de funcionamiento de la instalación que se incluyó en la documentación correspondiente a la solicitud del laboratorio

4) Programas de mantenimiento de aparatos para el confinamiento:

Vienen descritos en los apartados 6.B, 6.C, 6.D y 6.G. del Reglamento de funcionamiento de la instalación que se ha incluido en la documentación correspondiente a la solicitud del laboratorio

5) Programas de inspección y control del confinamiento:

Vienen descritos en el apartado 6.D. del Reglamento de funcionamiento de la instalación y más específicamente en “Procedimientos y planes de comprobación de la eficacia permanente de las medidas de confinamiento”.

Esta información se ha incluido en la documentación correspondiente a la solicitud del laboratorio

Además el servicio de seguridad biológica velará por el cumplimiento de las normas de control de acceso, manipulación, descontaminación, esterilización, sanitización, etc. según se indica en diferentes apartados del citado Reglamento.

6) Gestión de residuos (describir el sistema utilizado para cada tipo de residuo y quien lo lleva a cabo):

Todo lo concerniente a la gestión de los residuos generados se especifica en los apartados 4.F y 6.H del Reglamento de funcionamiento de la instalación que se ha incluido en la documentación correspondiente a la solicitud del laboratorio

7) Inactivación de residuos (método, forma final, destino):

Todo lo concerniente a la gestión de los residuos generados se especifica en los apartados 4.F y 6.H del Reglamento de funcionamiento de la instalación que se ha incluido en la documentación correspondiente a la solicitud del laboratorio



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

- 1) Condiciones en las que podría producirse un accidente:

Vienen indicadas en el Plan de emergencias y evacuación incluido en la documentación correspondiente a la solicitud del laboratorio

- 2) Equipamiento de seguridad (especifíquese):

Viene indicado en el Plan de emergencias y evacuación incluido en la documentación correspondiente a la solicitud del laboratorio

- 3) Descripción de la información suministrada a los trabajadores:

- Documentación:
 - Manual de Protección Radiológica, Seguridad Biológica y Química del CNB.
 - Reglamento de Funcionamiento y Plan de Emergencias del laboratorio de cultivos “in vitro” de nivel 3 de contención biológica del CNB
 - Procedimientos Normalizados de Trabajo del Servicio de Seguridad Biológica del CNB.
- Cursos y seminarios:
 - Seminarios generales sobre normas de seguridad frente a agentes biológicos, químicos y radiactivos impartido por el Servicio de Protección Radiológica y Seguridad Biológica del CNB.
 - Seminarios específicos sobre el Reglamento de Funcionamiento y Plan de Emergencias del laboratorio de cultivos “in vitro” de nivel 3 de contención biológica del CNB

- 4) Planes de emergencia:

El Plan de emergencias y evacuación del laboratorio se ha incluido en la documentación correspondiente a la solicitud del laboratorio.

REFERENCIAS

1. Wang, K., C. Boysen, H. Shizuya, M. I. Simon, and L. Hood. 1997. Complete nucleotide sequence of two generations of a bacterial artificial chromosome cloning vector. *BioTechniques* 23:992-994.





**EVALUACIÓN DE RIESGO DE OPERACIONES DE UTILIZACIÓN CONFINADA DE
ORGANISMOS MODIFICADOS GENETICAMENTE (Ver NOTA (1))**

Nº de Registro:	Nº de Notificación:
-----------------	---------------------

A. Notificador

1. Nombre del Centro, Institución o Empresa:

Centro Nacional de Biotecnología (CNB). Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

2. Domicilio del notificador:

Centro Nacional de Biotecnología (CSIC).
Campus Universidad Autónoma. Cantoblanco.
28049-Madrid

3. Responsable de la actividad de utilización confinada:

Dr. Luis Enjuanes Sánchez
Profesor de Investigación (CSIC)

Firma del notificador:

Persona de contacto:

Fernando Usera Mena, responsable del Servicio de Protección Radiológica y Seguridad Biológica del CNB

Tel: 915854541

Fax: 915854506

Correo electrónico: fusera@cnb.uam.es



B. Descripción de la actividad.

1. Objetivo de la actividad:

En primer lugar se creará el virus HCoV-NL63 en células de riñón de mono LLC-MK2 en pequeños volúmenes (menores a 25 ml) para extraer el RNA y clonar el gen S del virus. El gen S clonado se utilizará para reemplazar el gen S del cromosoma artificial de bacterias (BAC) que codifica el virus rTGEV-C11.

En segundo lugar se creará el nuevo virus rTGEV en volúmenes de 250 ml como máximo para concentrarlo y fijarlo. Con el fin de comprobar la identidad del virus, se tomarán microfotografías electrónicas de contraste negativo y de transmisión en cortes de células infectadas.

Por último se deleccionará el gen esencial E para hacer al virus defectivo en propagación o deleccionando el gen 7 para atenuarlo.

El objetivo general es la construcción segura de un vector viral basado en el virus de la gastroenteritis porcina transmisible (TGEV) que infecte células humanas con objeto de utilizarlo en vacunas o terapia génica.

2. Duración de la actividad:

Se preve un periodo de dos años desde la recepción de la autorización de la actividad confinada.



C. Evaluación de riesgo (Ver NOTA (2))

1. Identificación de las propiedades nocivas del OMG, en función de las características del:
(Ver NOTA (3))

1.1. Organismo receptor.

El organismo receptor, rTGEV-C11, es una variante del virus de la gastroenteritis porcina transmisible TGEV. El virus recombinante rTGEV-C11 se construyó por ingeniería genética partiendo de un clon cDNA del virus silvestre TGEV. El clon se ensambló en un cromosoma artificial de bacterias (BAC). Las únicas diferencias del recombinante con respecto al silvestre consisten en la sustitución de cuatro bases en las posiciones 6752, 18997, 20460 y 21369. Estos cambios puntuales no afectan significativamente al comportamiento del virus TGEV.

- Naturaleza de la patogenicidad, virulencia, infecciosidad, alergenicidad, toxicidad y vectores de transmisión de enfermedades:

El plásmido receptor es un cromosoma artificial de bacterias que codifica para el virus TGEV, este cromosoma artificial de bacterias se creará en la especie *E. coli*, no patógena. El virus que se rescata del plásmido receptor es patógeno en cerdos, causando gastroenteritis. Este virus es poco virulento y por ello solo es patógeno en lechones, que tienen el sistema inmune poco desarrollado.

No se han descrito casos de alergenicidad y toxicidad.

No se conocen vectores de transmisión de la enfermedad tales como artrópodos.

- Naturaleza de los vectores autóctonos y los agentes adventicios en los casos en que puedan movilizar el material genético insertado, y frecuencia de movilización: No aplica
- Naturaleza y estabilidad de las mutaciones inactivadoras, si se producen:

El plásmido receptor no tiene ninguna mutación inactivadora.

- Toda modificación genética previa:

Existen cuatro marcadores genéticos en el virus codificado en el BAC que se va a utilizar como vector:

- Cambio de A por G en la posición 6752 del cDNA, correspondiente al gen 1a del virus.
- Cambio de T por C en la posición 18997 del cDNA, correspondiente al gen 1b del virus.
- Cambio de G por T en la posición 20460 del cDNA, correspondiente al gen S del virus.
- Cambio de T por C en la posición 21369 del cDNA correspondiente al gen S del virus.

- Gama de hospedadores (si procede):

El hospedador del plásmido es la bacteria *E.coli*. El virus rescatado del plásmido infecta lechones y jabalíes.



- Todo rasgo fisiológico significativo que pueda alterarse en el MMG final y, si procede, su estabilidad:

En el MMG se va a alterar de forma controlada su tropismo, que va a pasar de ser porcino a humano.

- Hábitat natural y distribución geográfica:

El plásmido utilizado para la modificación no existe en la naturaleza. Respecto al virus rTGEV rescatado, su hábitat natural son las granjas porcinas y los bosques en los que habitan los jabalíes.

- Participación significativa en procesos ambientales (Fijación del nitrógeno, regulación del pH., etc):

El virus rescatado así como el plásmido parental no tienen efecto sobre el medio ambiente.

- Interacción con otros organismos del entorno y efectos sobre éstos (incluyendo las probables propiedades competitivas, patogénicas o simbióticas):

El virus rescatado es patógeno en especies como el cerdo y el jabalí.

- Capacidad de formar estructuras de supervivencia (como esporas o esclerocios):

El virus rescatado no es capaz de formar estructuras de supervivencia, pero es capaz de transmitirse por el aire, teniendo efecto solo sobre los organismos indicados.

1.2. Organismo donante.

El coronavirus humano respiratorio HCoV-NL63 proviene de un aislado de un paciente infantil de siete meses de edad con bronquitis (ref. Van der Hoek L, Pyrc K, Jebbink MF, Vermeulen-Oost W, Berkhout RJ. Identification of a new human coronavirus. Nat Med. 2004;10:368–373). Del genoma de este virus se clonará por RT-PCR el gen S que codifica para las espículas, determinantes del tropismo del virus. Este gen S se introducirá en el cromosoma artificial de bacterias (BAC) que codifica para el virus rTGEV-C11, con objeto de cambiar el tropismo de éste último, reemplazando el gen S que confería tropismo por el ganado porcino.

- Naturaleza de la patogenicidad, virulencia, infecciosidad, toxicidad y vectores de transmisión de enfermedades:

El HCoV-NL63 es un patógeno humano que causa infecciones agudas en el tracto respiratorio. No se ha descrito que pueda infectar a plantas, ni otras especies animales. Este virus se ha clasificado como perteneciente al Grupo 2 de riesgo por la propia ATCC.

Respecto a la virulencia, infecta principalmente a niños produciendo catarro aunque en algunos casos puede llegar a producir bronquitis.

No se conocen efectos alérgicos y tóxicos.



No se han descrito vectores que transmitan la enfermedad tales como artrópodos.

- Naturaleza de los vectores autóctonos:
 - ✓ Secuencia: No aplica
 - ✓ Frecuencia de movilización y especificidad: No aplica
 - ✓ Presencia de genes que confieren resistencia a las sustancias antimicrobianas, incluidos los antibióticos: No aplica
- Gama de hospedadores: Niños de corta edad.
- Otros rasgos fisiológicos pertinentes:

1.3. Inserto.

- Identidad y función específicas del inserto (genes):

El inserto que se pretende introducir en el cromosoma artificial de bacterias corresponde al gen S de HCoV-NL63. La función del producto de este gen S es unirse al receptor de la célula humana para permitir la internalización del virus, por ello es determinante del tropismo del mismo.

- Nivel de expresión del material genético insertado:

El gen S se va a introducir junto a las secuencias reguladoras del mismo, por lo que se preve que el nivel de expresión sea alto, al igual que el nivel de expresión de este gen en el virus silvestre.

- Fuente del material genético e identidad del organismo u organismos donantes y características, si procede:

El organismo donante del gen S es el coronavirus HCoV-NL63.

- Historia de las modificaciones genéticas previas, si procede:

El virus HCoV-NL63 no tiene modificaciones genéticas previas. Se va a partir de un virus pasado en cultivos celulares.

- Situación del material genético insertado (posibilidad de activación o desactivación de los genes del hospedador debido a la inserción):

El material genético que se va a insertar se va a insertar en la posición del gen S del virus TGEV codificado por el cromosoma artificial de bacterias. Este plásmido no se integra en el cromosoma del huésped, por lo que no se preve que se produzca inactivación o activación de ningún gen del hospedador, aunque sí se podría producir alguna variación en la expresión de algunos genes del hospedador como consecuencia de la expresión del virus, aspecto que se va a estudiar previamente en animales de experimentación.



1.4. Vector.

- Naturaleza y fuente del vector: Cromosoma artificial de bacterias
- Estructura y cantidad de todo ácido nucleico del vector y/o donante que quede en la construcción final del microorganismo modificado:
- Si está presente en el MMG final, frecuencia de movilización del vector insertado y/o capacidad de transferencia de material genético: El vector no está presente en el MMG final

1.5. Organismo modificado genéticamente resultante.

1.5.1. Efectos para la salud humana.

- Efectos tóxicos o alergénicos previstos del MMG y/o sus productos metabólicos:

El organismo modificado genéticamente no se preve que tenga efectos tóxicos o alergénicos sobre el hospedador.

- Comparación de la patogenicidad del microorganismo modificado con la del receptor o (en su caso) del organismo parental:

Mientras que el virus rescatado a partir del plásmido parental infecta la especie porcina, el virus rescatado a partir del plásmido modificado infecta la especie humana.

- Capacidad de colonización prevista:

El MMG será capaz de colonizar la especie humana, pero no de propagarse en ella por haberse delecionado el gen E, el virus rescatado no tiene capacidad de propagarse por el medio ambiente, por lo que solo se encontrará en los seres humanos en los que se haya introducido deliberadamente.

- Si el microorganismo es patógeno para personas inmunocompetentes:

El organismo modificado genéticamente no se prevee que sea patógeno para personas inmunocompetentes.

- Enfermedades causadas y mecanismos de transmisión, incluidas la capacidad de invasión y la virulencia:

✓ Dosis infecciosa: No aplica

✓ Posible alteración de la ruta de infección o de la especificidad tisular: Ninguna

✓ Posibilidad de supervivencia fuera del hospedador humano: El virus no puede salir del hospedador humano ya que se le ha delecionado un



gen esencial.

- ✓ Estabilidad biológica: No aplica
- ✓ Pautas de resistencia a los antibióticos: No aplica
- ✓ Alergenicidad: No se espera que el virus cause reacciones alérgicas, ya que no se ha descrito que los dos virus de los que deriva, TGEV y HCoV-NL63 las causen.
- ✓ Toxigenicidad: No se espera que el virus sea tóxico, ya que los virus de los que deriva, TGEV y HCoV-NL63, no lo son.
- ✓ Disponibilidad de terapias apropiadas y de medidas profilácticas: No aplica

1.5.2. Efectos para el medio ambiente.

- Ecosistemas a los que el microorganismo podría pasar accidentalmente a partir de la utilización confinada:

El virus generado no se podrá propagar, por lo que aunque accidentalmente pudiera escapar a algún ecosistema del medio ambiente no causaría ningún problema.

- Supervivencia, multiplicación y grado de diseminación previstos para el microorganismo modificado en los ecosistemas correspondientes:

El virus es casi imposible que se propague, puesto que al haberse delecionado el gen E, gen esencial, es incapaz de salir de la célula una vez que ha entrado. En el caso de que llegara a diseminarse accidentalmente por medio del aire, podría sobrevivir en el medio ambiente, dentro de los humanos, pero no se diseminaría a otros seres, ya que no podría salir de las células de los mismos.

- Resultados previstos para la interacción entre el microorganismo modificado y los organismos o microorganismos que pudieran verse expuestos en caso de liberación accidental al entorno:

En caso de que se liberaran al entorno, no se producirían interacciones, ya que la cantidad de virus que entrarían en los organismos, sería insuficiente para interactuar significativamente con los mismos.

- Efectos conocidos o previstos sobre plantas y animales como, por ejemplo, patogenicidad, toxicidad, alergenidad, vector de patógenos, pautas alteradas de resistencia a los antibióticos, alteraciones de tropismos o especificidad de hospedador, y colonización:

El virus generado no se espera que sea patógeno en animales, por no poderse propagar por el organismo. Para plantas tampoco sería patógeno porque no puede entrar en las mismas, por no tener estas los receptores



apropiados.

Tampoco se esperan casos de toxicidad y alergenicidad en los mismos.

- Implicaciones conocidas o previstas en procesos biogeoquímicos: No aplica

2. Clasificación inicial del organismo modificado genéticamente: (Ver NOTA (4))

- Tipo 1
Tipo 2
Tipo 3
Tipo 4

Se clasifica como de Actividad Tipo 3 (actividad de alto riesgo en la que el grado 3 de confinamiento es suficiente para proteger la salud humana y el medio ambiente) las operaciones relacionadas con la obtención, caracterización e hiperatenuación del nuevo OMG. Una vez se haya comprobado que el OMG es deficiente en propagación mediante la delección del gen esencial E, o la hiperatenuación por delección del gen 7, la actividad puede clasificarse como Tipo 2 (actividad de bajo riesgo en la que el grado 2 de confinamiento es suficiente para proteger la salud humana y el medio ambiente).

3. Probabilidad de que se produzcan efectos nocivos y gravedad de los mismos, en función de: (Ver NOTA (5))

3.1. Características de la actividad (medidas de confinamiento y control, y exposición humana y ambiental).

La actividad se va a llevar a cabo, hasta que se haya delecionado el gen esencial E, en el laboratorio de grado de confinamiento 3, por lo que el organismo modificado estará confinado a este espacio y no saldrá en ningún momento del mismo.

3.2. Concentración y escala utilizadas.

El virus generado se crecerá en volúmenes de 250 ml para concentrarlo (hasta 100 veces) y tomar fotografías de contraste negativo.

3.3. 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).

El virus HCoV-NL63 se crecerá en células de riñon de mono LLC-MK2 y el virus generado, se crecerá en células hepáticas humanas Huh-7. La única especie susceptible durante el desarrollo de la actividad es la especie humana, por ello se trabajará en el laboratorio de bioseguridad de nivel 3, con todas las medidas necesarias para evitar cualquier riesgo. Al trabajar en dicho laboratorio, los efectos sobre el entorno físico son mínimos.

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



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

5. Determinación del riesgo en el caso de que se produzca una liberación accidental: (Ver NOTA (6))

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

1) Proximidad a fuentes de peligro potenciales:

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

- El laboratorio está equipado con todos los medios e infraestructura de contención necesarios, resaltándose el sistema de tratamiento de aire y el sistema de inactivación biológica de efluentes líquidos. Es más, consideramos que el nivel de contención obtenido excede en determinados parámetros el exigido por la legislación para las operaciones confinadas de tipo 3.

- Estos medios e infraestructura ya se han validado previamente por una empresa externa y serán validados por ésta empresa u otras anualmente o tras averías. Igualmente, el servicio de Seguridad Biológica validará periódicamente a nivel interno todos los métodos y sistemas de inactivación biológica y esterilización mediante la utilización de microorganismos testigo utilizando diferentes métodos.

- La instalación dispone de un completo reglamento de funcionamiento donde se especifican las normas de higiene, protección, contención y gestión de residuos, tanto para el personal usuario como para el propio servicio de seguridad biológica. Con ello se pretende realizar una gestión integral en Bioseguridad. Todos los protocolos de manipulación, transporte y conservación de agentes biológicos y OMG, limpieza y sanitización de zona, esterilización e inactivación biológica se encuentran protocolizados por escrito y se dispone de programas de actuación para aquellos procedimientos en que sea conveniente.

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

- Tanto el laboratorio, como las instalaciones que aseguran las necesarias medidas de contención secundaria, disponen de variados medios de alarma "in situ" y en la consola de control central del edificio ante la ruptura accidental de las barreras de contención secundaria.

- El índice de ocupación de las dependencias cercanas al laboratorio es muy bajo al tratarse de servicios de apoyo a la investigación o de laboratorios de técnicas especiales de uso común. No hay ningún laboratorio con un grupo de investigación anexo a la instalación.



- El Centro Nacional de Biotecnología (CNB) se encuentra enclavado en una zona relativamente nueva del Campus de la Universidad Autónoma de Madrid. Esta zona se caracteriza por la amplitud existente entre los edificios que la constituyen, fundamentalmente otros centros de investigación.

- No existen zonas residenciales cercanas al CNB.

- No existen en las cercanías cultivos, explotaciones ganaderas, cotos, reservas de caza, o zonas naturales protegidas o con especial interés ecológico.

2) Descripción de las condiciones climáticas predominantes:

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

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

Las operaciones indicadas se realizarán en uno de los tres sublaboratorios del laboratorio de cultivos "in vitro" de nivel 3 de contención biológica con autorización del 7/03/01; número de notificación: A/ES/00/I-8

5.2. Condiciones en las que podría producirse un accidente.

Vienen indicadas en el Plan de emergencias y evacuación incluido en la documentación correspondiente a la solicitud del laboratorio.

5.3. Equipos de seguridad, sistemas de alarma y métodos de confinamiento adicionales.

Viene indicado en el Plan de emergencias y evacuación incluido en la documentación correspondiente a la solicitud del laboratorio.

5.4. Planes de emergencia.

El Plan de emergencias y evacuación del laboratorio se ha incluido en la documentación correspondiente a la solicitud del laboratorio



NOTAS al Modelo de Evaluación de riesgo de operaciones de utilización confinada de organismos modificados genéticamente

- (1) Para la elaboración de la evaluación de riesgo de la actividad propuesta se tendrá en cuenta toda la información suministrada, en su caso, en el formulario relativo a la Notificación de Operaciones con organismo modificados genéticamente (Parte A), así como el relativo a la Notificación de Instalaciones donde se realizan operaciones con organismos modificados genéticamente (Parte B).
- (2) Para llevar a cabo dicha evaluación se tendrá en cuenta el procedimiento establecido en el Anexo III de la Directiva 98/81/CE, de 26 de octubre de 1998 y la Decisión de la Comisión 2000/608/CE, de 27 de septiembre, relativa a las notas de orientación para la evaluación de riesgo descrita en el Anexo III de la Directiva 98/81/CE.
- (3) Desarrollar con la extensión que proceda, siguiendo el orden propuesto.
- (4) Para establecer esta primera valoración se tendrá en cuenta lo dispuesto en el artículo 5.3 de la Directiva 98/81/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).
- (5) Desarrollar con la extensión que proceda, siguiendo el orden propuesto.
- (6) Desarrollar con la extensión que proceda, siguiendo el orden propuesto.