



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

<b>Nº de Registro:</b>	<b>Nº de Notificación:</b>
------------------------	----------------------------

**I. INFORMACIÓN GENERAL**

1) Responsables de la actividad

Entidad

Nombre: [Centre de Recerca en Salut Internacional de Barcelona \(CRESIB\)](#)

Dirección postal: [C/Rosselló, 132, 4a planta 08036 Barcelona](#)

b) Representante legal de la entidad

Nombre y apellidos: [Dr Antoni Plasència](#)

NIF: [G64334048](#)

Cargo: [Director](#)

Tel: [93.227.98.92](#)

Fax: -----

Correo electrónico: [oci@cresib.cat](mailto:oci@cresib.cat)

c) Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos: [Juan Manuel Bustamante](#)

NIF: [Y3468956H](#)

Cargo: [Investigador Principal](#)

Tel: [93.227.54.00 \(ext.4569\)](#)

Fax: [93.312.94.10](#)

Correo electrónico: [juan.bustamante@cresib.cat](mailto:juan.bustamante@cresib.cat)

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

Nombre y apellidos: [Sandra Piquer i Gibert](#)

NIF: [38098454N](#)

Cargo: [Coordinadora laboratorios IDIBAPS](#)

Tel: [93.227.54.00 \(ext.4388\)](#)

Fax: [93.3129405](#)

Correo electrónico: [sandra.piquer@idibaps.org](mailto:sandra.piquer@idibaps.org)

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

[Sandra Piquer Gibert](#)



- 2) Debe señalarse si para la ejecución de esta actividad se recibe financiación del Plan Estatal de Investigación Científica y Técnica y de Innovación. 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    X                      NO   

El grupo de investigación que realizará esta actividad está financiado por:

PROGRAMA RAMON y CAJAL. MINISTERIO DE ECONOMIA y COMPETITIVIDAD

Título de proyecto: Tratamiento y Resistencia a la infección en la enfermedad de Chagas.

Referencia: RYC-2011-08844

IP: Juan Bustamante

PROGRAMA ESTATAL DE INVESTIGACIÓN, DESARROLLO E INNOVACIÓN ORIENTADA A LOS RETOS DE LA SOCIEDAD. MINISTERIO DE ECONOMIA y COMPETITIVIDAD

Título de proyecto: Regímenes de dosis reducidas y combinación de terapias para el tratamiento de la infección por Trypanosoma cruzi.

Referencia: SAF2013-48842-R

IP: Juan Bustamante

BRITISH SOCIETY OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY

Título del Proyecto: Development of optimized treatment protocols for Chagas Disease.

Referencia: GA2014\_008P

IP: Juan Bustamante

Por lo que respecta a las instalaciones y los equipos ubicados en ellas IDIBAPS obtiene financiación por parte del Plan Estatal de Investigación Científica y Técnica así como de Fondos Europeos, la Generalitat de Cataluña, empresas privadas, etcõ

- 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:

18 de julio del 2013

b) Número de referencia del expediente:

notificación de la instalación de tipo 3: A/ES/13/I-11

## II. **DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD:**

- 1) Finalidad de la actividad:

Los parásitos serán utilizados para llevar a cabo estudios de evaluación e identificación de compuestos con actividad tripanocida. Esperamos encontrar fármacos que puedan ser potenciales candidatos para estudios preclínicos en animales de experimentación

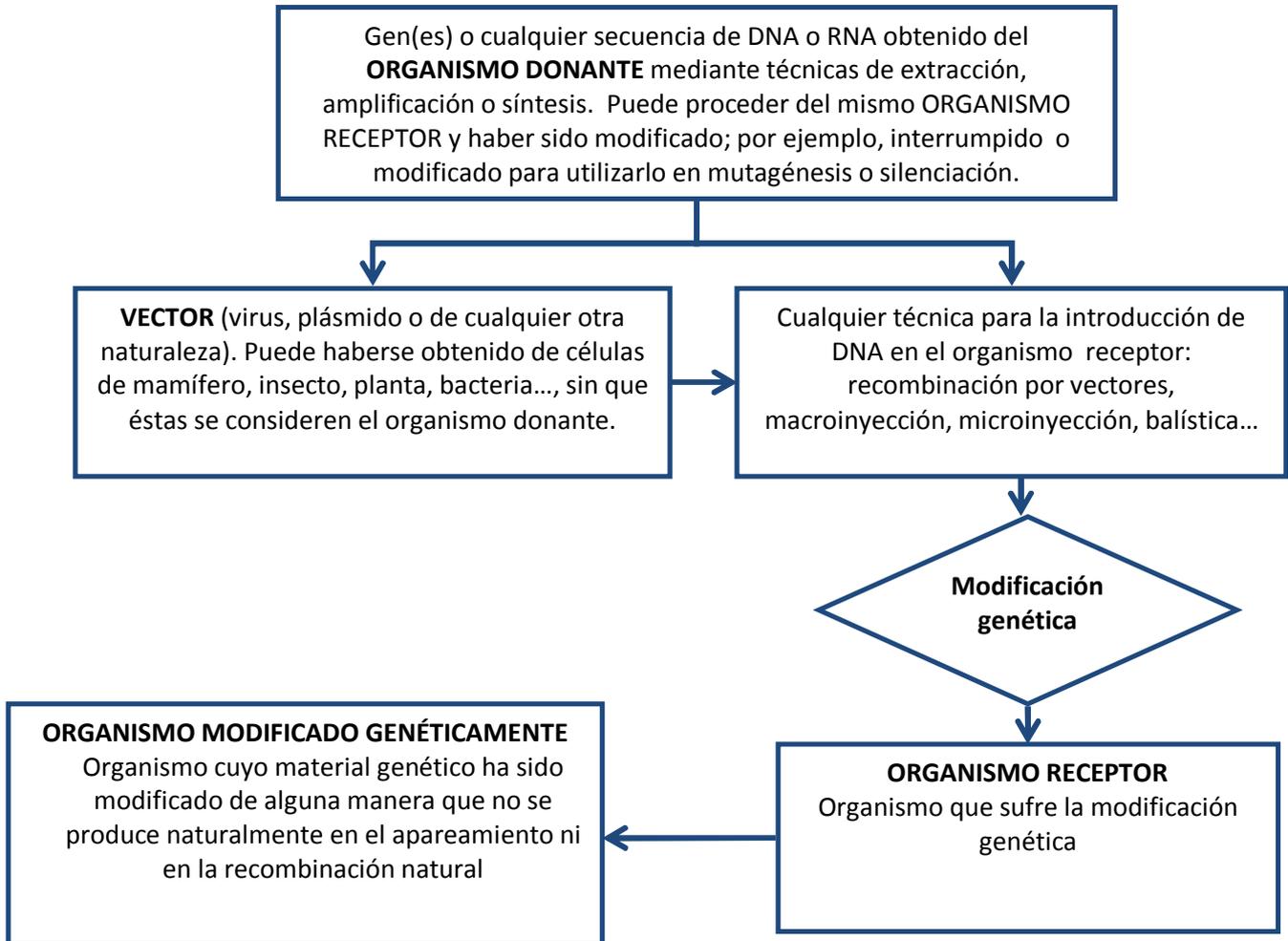


## 2) Clasificación de la actividad

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

## 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) 1) Nombre científico: *Trypanosoma cruzi* cepa CL.

Taxonomía:  
Kingdom



Subkingdom	Protista
Phylum	Protozoa
Subphylum	Sarcomastigophora
Class	Mastigophora
Order	Zoomastigophora
Family	Kinetoplastida
Section	Trypanosomatidae
Genus	<i>Stercoraria</i>
Species	<i>Trypanosoma</i>
	<i>cruzi</i>

Nombre común: *Trypanosoma cruzi*

## 2) Descripción de los métodos de identificación y aislamiento.

### a) Técnicas de aislamiento:

*T. cruzi* se puede cultivar a partir de tejidos o muestras de sangre heparinizadas. Se utilizan diversos medios especializados, además de las líneas celulares Vero (células epiteliales de mamífero que se utilizan como células huésped para mantener los parásitos).

### b) Técnicas de identificación: Exámen microscópico, inmunofluorescencia indirecta (IFA), ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA), PCR, inmunotransferencia (Western blot).

### c) Marcadores genéticos: marcadores de DNA microsatélite.

### d) Marcadores fenotípicos: Los tripomastigotes se presentan en formas cortas y anchas o formas largas y delgadas, en la sangre; en los preparados teñidos, forman una C. Los amastigotes, que se encuentran dentro de las células, son redondos u ovalados, y tienen un diámetro de 1,5 a 4 $\mu$ m.

### e) Estabilidad genética: Estable.

## 3) Posibles modificaciones genéticas anteriores: No

## 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:

Trypanosoma cruzi vivo es potencialmente patógeno para seres humanos y animales. En el caso del organismo muerto o sus productos extracelulares no son considerados patógenos.

- 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.):

La clasificación en la EU es tipo 3. (**Directiva 2000/54/CE**)

La clasificación del NIH es tipo 2. (**NIH \_Appendix B-II-C. Risk Group 2 (RG2) - Parasitic Agents**)

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

Trypanosoma cruzi es el agente etiológico de la enfermedad de Chagas. Entre estos últimos puede infectar a perros, ratones y otros animales silvestres. T. cruzi alterna su ciclo de vida entre un huésped vertebrado (seres humanos y animales) y un huésped invertebrado (insecto vector: triatominos). Cabe destacar que T. cruzi necesita de un vector específico para su transmisión. Estos insectos sólo se encuentran en Latinoamérica y no existen en Europa.

**Puede infectar una variedad de especies animales, pero necesita del vector para transmitirse de forma natural. Es muy importante destacar que T. cruzi no se transmite por vía aérea.**

#### Etapa aguda de la enfermedad.

T. cruzi puede marcar su punto de entrada en el cuerpo humano mediante la inflamación, y cuando esto ocurre en el ojo puede desarrollar conjuntivitis y edema palpebral unilateral. Las manifestaciones generalizadas de la infección se producen concomitantemente, con fiebre, taquicardia, linfadenopatía, leve esplenomegalia y edema. Los recuentos de células blancas comúnmente muestran linfocitosis. La participación del corazón esta caracterizada por el desarrollo de miocarditis. El electrocardiograma muestra frecuentemente bajo voltaje del QRS, con intervalos PR y QT prolongados y cambios en la onda T. El parásito es diseminado y puede ser visto relativamente fácilmente mediante un examen de sangre directa. Sin embargo, en la gran mayoría de los pacientes la fase aguda de la enfermedad es imperceptible principalmente por la escasez de manifestaciones clínicas.

#### Etapa crónica de la enfermedad

Después de 2-4 meses las manifestaciones clínicas agudas desaparecen y los parásitos rara vez se detectan en sangre periférica. La enfermedad entra en la fase crónica, en general, a partir de un largo período de latencia clínica (forma indeterminada). Muchos pacientes infectados presentan manifestaciones relacionada con la participación de ciertos órganos tales como corazón, esófago, colon y sistema nervioso.

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



SI  NO

Porqué: [No es el caso, la cepa es virulenta](#)

7) La cepa/línea celular receptora: ¿está libre de agentes biológicos contaminantes?  
[si](#)

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

[El trabajo con parásitos vivos debe ser realizado siempre en cabinas de flujo de bioseguridad. Los tubos u otros contenedores que contengan parásitos vivos no pueden abrirse fuera de la cabina. Las mucosas nasal, bucal y la piel con heridas, son potenciales sitios de infección para el parásito. Se deben utilizar guantes protectores siempre que se manejen parásitos vivos. Si es necesario centrifugar, se utilizan tubos sellados. Existe también la posibilidad de infección si el parásito es ingerido. Es importante evitar todos los objetos que puedan ser punzantes \(vidrio o metal\).](#)

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](#)

En caso afirmativo:

b) Capacidad de crear estructuras de resistencia o letargo:

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

c) Otros factores que afectan la capacidad de supervivencia:

d) Posibles nichos ecológicos:



- e) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:
- 10) Efectos posibles sobre el medio ambiente:
- a) Implicaciones en procesos ambientales (p.ej. fijación del nitrógeno o regulación del pH del suelo): **No posee**
- b) Interacciones con otros organismos y efectos sobre éstos:  
Los parásitos infectan insectos triatomínicos, que son el vector de la enfermedad. Estos insectos solo se encuentran en Latinoamérica y no existen en España. Puede infectar una gran variedad de especies animales, pero necesita del vector para transmitirse de forma natural.
- 11) Distribución geográfica y tipo de ecosistema en el que se encuentra el organismo receptor:  
Al igual que su vector, *T. cruzi* se puede encontrar en las Américas, desde Estados Unidos hasta Chile y el centro de Argentina. En EE.UU., se cree que este parásito es endémico en aproximadamente la mitad sur del país, al igual que en California.
- 12) Hábitat natural del organismo:  
Existen 3 ciclos básicos en la transmisión de *T. cruzi*. En el ciclo selvático (salvaje), este organismo realiza el ciclo entre las especies silvestres y los insectos triatomínicos que habitan en ambientes selváticos. Los humanos y los animales domésticos se infectan ocasionalmente cuando entran en contacto con estos insectos en el hábitat natural. En ciertas circunstancias, los insectos también pueden invadir los hogares o dependencias cuando son atraídos por la luz, el calor o determinados olores, y pueden contaminar los alimentos. Los insectos triatomínicos silvestres también pueden ser transportados accidentalmente a los hogares de los humanos. El ciclo selvático es responsable de relativamente pocos casos de enfermedad de Chagas. Es el único ciclo en EE. UU. También existe un ciclo de transmisión doméstica en México y partes de Centroamérica y Sudamérica. En este ciclo, algunos insectos vectores han colonizado adobes primitivos, pastos y casas con techos de paja, lo que ocasionó la transmisión entre humanos e insectos. Los ciclos de transmisión entre insectos y animales domésticos (ciclos peridomésticos) también generan la oportunidad de que el parásito infecte a humanos.



#### IV. INFORMACIÓN RELATIVA AL ORGANISMO DONANTE

Nombre científico: *Discosoma sp.*

Taxonomía:

Reino: Animalia

Filo: Cnidaria

Clase: Anthozoa

Subclase: Hexacorallia

Orden: Corallimorpharia

Familia: Discosomatidae

Género: Discosoma

Nombre común: Anémona disco, coral seta o coral champiñón

##### 1) Tipo de material genético obtenido del organismo donante:

Secuencia génica de ADN codificante para la proteína roja fluorescente tdTomato.

##### 3) Método de obtención:

- a) Extracción
- b) PCR
- c) Síntesis in vitro

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

Expresión de la proteína roja de fluorescencia (tdTomato).

##### 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 organismo donante no es patógeno.

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



No, sirven solo para detectar el parásito en ensayos in vitro

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

NO.

## V. INFORMACIÓN RELATIVA A LA MODIFICACIÓN GENÉTICA

1) Tipo de modificación genética:

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

2) Finalidad de la modificación genética:

Conferir fluorescencia a los parásitos de *Trypanosoma cruzi*, para poder ser utilizados en ensayos de descubrimiento de fármacos que puedan ser utilizados en el tratamiento de la enfermedad.

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

La modificación genética se llevo a cabo mediante el método de transfección que en este caso consiste en la introducción de material genético externo en células eucariotas mediante un plásmido. Para generar parásitos de *Trypanosoma cruzi* que expresen la proteína roja fluorescente, tándem dimérica tomate (tandem dimeric tomato red fluorescent protein - tdTomato) se construyó un plásmido a partir de la utilización del vector de expresión pTrex. Un total de  $1 \times 10^7$  parásitos fueron centrifugados a 1.620g durante 15 minutos y suspendidos en 100ml de una solución de células T humanas de Nucleofactor a temperatura ambiente. La resuspensión de parásitos fue luego mezcladas con 10mg de DNA  $\pm$ -33qen dispositivo de Nucleofactor de AMAXA. Los parásitos electroporados cultivados en frascos de cultivos de 25cm<sup>2</sup> en 10ml de medio LDNT. La fluorescencia en los parásitos fue observada semanalmente usando citometría de flujo (FACS).

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

Sí  NO

En caso afirmativo:

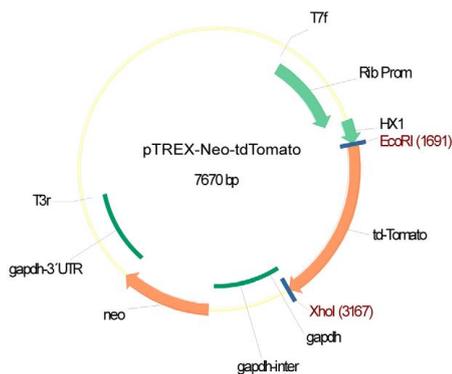
a. Tipo e identidad del vector: vector de expresión pTrex

b. Si se trata de un virus: No 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):

El gen de 1464 pares de bases tdTomato fue generado utilizando amplificación por PCR del primer establecido en 5qAGAATTCATGGCGCCTAGGGTGAGC-3qavance (forward) y 5q TACGTCGACTTAGAGCTCGATATCGACG-3q reverso (reverse) y el vector pCTR2t como un templado (template). El primer de avance tiene un sitio EcoRI y el primer de reverso tiene un sitio Sall. El fragmento de PCR fue digerido y clonado (downstream) apartir del gen promotor de RNAr y de la fracción de HX1 en los sitios EcoRI y Sall en el sitio de multiclonado del plasmido pTrex generando el plasmido pTrex-tdTomato. El plásmido original contiene el gen de resistencia a Neomicina (neo). La dimensión del vector (pares de bases) es de 7670bp (Figura 1).



**Figure 1. Representación esquemática del plásmido pTrex-tdTomato**

Secuencia del gen de resistencia a Neomicina (neo):

ATGAGCCATATTCAACGGGAAACGTCTTGCTCTAGGCCGCGATTAATTCCAACATGGATGCTGATTTATATGG  
GTATAAATGGGCTCGCATAATGTCGGCAATCAGGTGCGACAATCTATCGATTGTATGGGAAGCCCGATGCG  
CCAGAGTTGTTTCTGAAACATGGCAAAGGTAGCGTTGCCAATGATGTTACAGATGAGATGGTCAGACTAACT  
GGCTGACGGAATTTATGCCTCTTCCGACCATCAAGCATTATCCGTAATCCTGATGATGCATGGTTACTCACC  
ACTGCGATCCCCGGGAAAACAGCATTCCAGGTATTAGAAGAATATCCTGATTCAGGTGAAAATATTGTTGATGC  
GCTGGCAGTGTTCTGCGCCGTTGCATTGATTCTGTTTGAATTGTCCTTTTAAACAGCGATCGCGTATTTT  
GTCTCGCTCAGGCGCAATCACGAATGAATAACGGTTTTGGTTGATGCGAGTGATTTTGTATGACGAGCGTAATGG  
CTGGCCTGTTGAACAAGTCTGGAAGAAATGCATAAACTTTTGCATTCTCACCGGATTGATCGTCACTCATG  
GTGATTTCTCACTTGATAACCTTATTTTTGACGAGGGGAAATTAATAGGTTGTATTGATGTTGGACGAGTCGGA  
ATCGCAGACCGATACCAGGATCTTGCCATCCTATGGAAGTGCCTCGGTGAGTTTTCTCCTTCATTACAGAAAC  
GGCTTTTTCAAAAATATGGTATTGATAATCCTGATATGAATAAATTGCAGTTTCATTTGATGCTCGATGAGTTTTT  
CTAA

Secuencia del tdTomato (tdTomato):

ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGGTCATCAAAGAGTTCATGCGCTTCAAGGTGCGCATGGAGGGCTCCATG  
AACGGCCACGAGTTCGAGATCGAGGGCGAGGGCGAGGGCCGCCCTACGAGGGCACCCAGACCGCCA  
AGCTGAAGGTGACCAAGGGCGGCCCCCTGCCCTTCGCTGGGACATCCTGTCCCCCAGTTCATGTACG  
GCTCCAAGGCGTACGTGAAGCACCCCGCCGACATCCCCGATTACAAGAAGCTGTCTTCCCCGAGGGCT  
TCAAGTGGGAGCGCGTGATGAACCTTCGAGGACGGCGGTCTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTCCCTGC  
AGGACGGCACGCTGATCTACAAGGTGAAGATGCGCGGCACCAACTTCCCCCCGACGGCCCCGTAATGC  
AGAAGAAGACCATGGGCTGGGAGGCCTCCACCGAGCGCCTGTACCCCGCGACGGCGTGCTGAAGGGC  
GAGATCCACCAGGCCCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACCTGGTGGAGTTCAAGACCATCTACATG  
GCCAAGAAGCCCGTGCAACTGCCCGGCTACTACTACGTGGACACCAAGCTGGACATCACCTCCCACAAC  
GAGGACTACACCATCGTGAACAGTACGAGCGCTCCGAGGGCCGCCACCACCTGTTCTGGGGCATGG  
CACCGGCAGCACCGGCAGCGGCAGCTCCGGCACCGCCTCCTCCGAGGACAACAACATGGCCGTCATCA  
AAGAGTTCATGCGCTTCAAGGTGCGCATGGAGGGCTCCATGAACGGCCACGAGTTCGAGATCGAGGGCG  
AGGGCGAGGGCCGCCCTACGAGGGCACCCAGACCGCCAAGCTGAAGGTGACCAAGGGCGGCCCCCT  
GCCCTTCGCTGGGACATCCTGTCCCCCAGTTCATGTACGGCTCCAAGGCGTACGTGAAGCACCCCGC  
CGACATCCCCGATTACAAGAAGCTGTCTTCCCCGAGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGATGAACCTCGA



GGACGGCGGTCTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTCCCTGCAGGACGGCACGCTGATCTACAAGGTGAA  
GATGCGCGGCACCAACTTCCCCCGACGGCCCCGTAATGCAGAAGAAGACCATGGGCTGGGAGGCCT  
CCACCGAGCGCCTGTACCCCGCGACGGCGTGCTGAAGGGCGAGATCCACCAGGCCCTGAAGCTGAAG  
GACGGCGGCCGCTACCTGGTGGAGTTCAAGACCATCTACATGGCCAAGAAGCCCGTGCAACTGCCCGGC  
TACTACTACGTGGACACCAAGCTGGACATCACCTCCCACAACGAGGACTACACCATCGTGGAACAGTACG  
AGCGCTCCGAGGGCCGCCACCACCTGTTCTGTACGGCATGGACGAGCTGTACAAGTAA

d. Gama de hospedadores del vector:  
Bacterias

e. Características de la movilidad del vector: No posee.

i) factores de movilización

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

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

## 5) Información del inserto:

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

El gen de 1464 pares de bases tdTomato fue generado utilizando amplificación por PCR del primer establecido en 5qAGAATTCATGGCGCCTAGGGTGAGC-3qavance (forward) y 5q TACGTCGACTTAGAGCTCGATATCGACG-3q reverso (reverse) y el vector pCTR2t como un templado (template).

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

Gen de resistencia a Neomicina.

Gen de expresión de proteína roja de fluorescencia (tdTomato): Red fluorescent protein, clonado por PCR.

c. Descripción del método utilizado para la transformación:

La transformación se realizó por electroporación usando un método estándar.

d. Información sobre los genes estructurales presentes en el inserto: Ninguno.

e. Información sobre los elementos reguladores presentes en el inserto: Ninguno.

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.

En caso afirmativo:

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

b. ¿Está integrado en los cromosomas nucleares?

Si.

En caso afirmativo:

- i) Número de copias: Una.
- ii) localización cromosómica: en el locus del ARN ribosomal.
- iii) secuencias colindantes  
Desconocidas.
- iv) ¿La inserción activa o inactiva la expresión de otros genes?: No.

c. Si se trata de un virus: No 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):

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



Aportar toda la documentación al respecto.

La cepa transformada expresa funcionalmente la proteína roja de fluorescencia.

**2) Características genéticas y fenotípicas modificadas del organismo receptor como resultado de la manipulación genética:**

a. ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta a la capacidad de supervivencia fuera de las condiciones de cultivo? En caso afirmativo, especifíquese:

No.

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

No.

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

No.

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

No.

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

No.

f. Marcadores específicos del OMG:

Expresión de la proteína roja de fluorescencia.

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

El parásito continúa expresando la proteína roja de fluorescencia después de meses en cultivo, incluso en ausencia de la droga de selección. Es muy estable genéticamente.

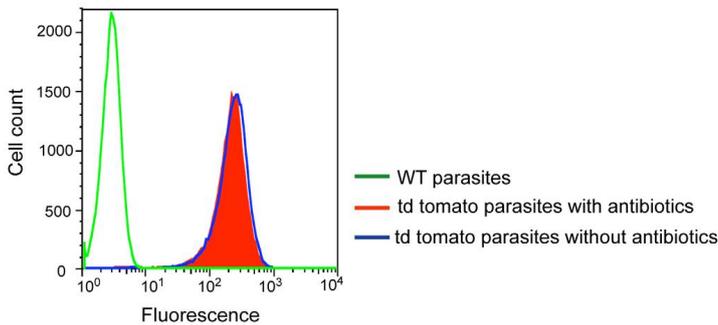
**4) Posibilidad de transferencia de material genético a otros organismos:**

Ninguna.

**5) Descripción de métodos de identificación y aislamiento empleados.**

a. Técnicas utilizadas para la identificación del OMG.

Por citometría de flujo. FACS sorting.(Figura 2)



**Figure 2. Evaluación de la fluorescencia de los parásitos de T. cruzi tdTomato**

- b. Técnicas empleadas para aislar el OMG en el medio ambiente.  
El OMG no se encuentra presente en el medio ambiente.

## VII. DESCRIPCIÓN DE LAS OPERACIONES

### i. Naturaleza de las operaciones:

- a. Enseñanza
- b. Investigación
- c. Desarrollo

### ii. Volumen o cantidad de OMG a utilizar:

- a. Volumen máximo en el caso de microorganismos:  $3.6 \times 10^5$  parásitos.
- b. Número de plantas:
- c. Número de animales:

### iii. Periodo previsto para la actividad de utilización confinada

(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 periodo de tiempo previsto para la optimización del ensayo y la evaluación de compuestos es de 5 años.

### iv. Finalidad de la actividad de utilización confinada, incluidos los resultados esperados:

Los parásitos fluorescentes serán utilizados para llevar a cabo estudios de evaluación e identificación de compuestos con actividad tripanocida. Esperamos encontrar fármacos que puedan ser potenciales candidatos para estudios preclínicos en animales de experimentación



- v. **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:**

Laboratorio de Dr. Rick Tarleton (Tarleton Research Group). Center for Tropical and Emerging Diseases. (CTEGD). Universidad de Georgia, Athens, Georgia. Estados Unidos. Registrado conforme a las normas de NIH.

- vi. **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 aplicable<sup>1</sup> (tipo de transporte, manejo y embalaje, documentación de acompañamiento e identificación o/y etiquetado).**

En la actualidad el microorganismo no se encuentra en nuestras instalaciones.

El transporte del microorganismo desde el organismo remitente a nuestras instalaciones se realizará siguiendo el protocolo definido para el transporte de patógenos infecciosos. Trypanosoma cruzi expresando tdTomato está clasificado como "Dangerous Goods Division 6.2" al ser infeccioso para humanos y animales y estar genéticamente modificado. El código es UN2814 (infectious to humans). Risk group 3: high individual and low community risk (i.e. causes serious disease but does not spread readily, effective treatment and prevention available). El transporte se realizará con empaquetado definido como Packing Instruction 602, que consiste en tres componentes: - un receptáculo primario con la sustancia infecciosa con suficiente material absorbente entre el receptáculo primario y el secundario. - un receptáculo secundario - un contenedor exterior de al menos 100 x 100 mm El receptáculo primario o el secundario serán capaces de resistir una presión interna produciendo un diferencial de no menos de 95 kPa para líquidos entre -40°C y +55°C. El contenedor exterior estará marcado con "inner packagings comply with prescribed specifications". Una lista enumerando los contenidos será incluida entre el receptáculo secundario y el contenedor exterior. El número UN2814, el nombre de envío o técnico y la declaración de envío (3 copias). Si es necesario se enviará el MTA correspondiente cuando se haya realizado el envío.

- vii. **Descripción de los métodos de manejo de los OMG (incluyendo descripción de las fases de cultivo y concentración máxima de OMG en el cultivo):**

El microorganismo se cultivará in vitro en laboratorios tipo P3. Todo el personal será entrenado a tal efecto para cumplir con la normativa vigente actualmente en la instalación en cuanto a la manipulación de otros microorganismos tipo 3. Se trabajará en placas multipocillo y en frascos de cultivo. Placas y frascos de cultivo previamente sembrados con células provenientes de una línea establecida de mamífero (células Vero) se inoculan con tripomastigotes del OMG expresando la proteína tdTomato. Tras 8-12 hs aproximadamente, se retiran todos los parásitos que no hayan conseguido ser internalizados mediante suaves lavados con buffer de lavado. En el caso de los experimentos de screening de compuestos antitripanocidas, se agregarán los compuestos en cada pocillo experimental. Al cabo de 72 hs. se medirá la fluorescencia debida a la presencia de parásitos intracelulares, para validar el efecto de los compuestos en el crecimiento de los parásitos intracelulares.

- viii. **Descripción de las medidas de confinamiento y protección que vayan a aplicarse**

---

<sup>1</sup> Legislación vigente que afecta al transporte de OMG:

- 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. El formulario necesario para acompañar a los OMG en el transporte, puede encontrarse en el siguiente enlace: (<http://www.biodiv.org/biosafety/cop-mop/result.aspx?id=8288&lg=1> )
- Normativa nacional e internacional (OACI/IATA, OMI/MDG, TPF/RID y TPD/ADR) para el transporte de mercancías peligrosas y, en particular, de sustancias infecciosas y muestras para diagnóstico.



El laboratorio de seguridad biológica contención 3 (laboratorios LSB-3) está situado en la planta -1 del edificio CEK del IDIBAPS. La entrada del laboratorio está señalizada con el símbolo universal de advertencia de riesgo biológico.

El acceso a dicho laboratorio está restringido mediante control biométrico de forma que sólo se permite el acceso al personal autorizado.

La conducción de agua es independiente del resto de laboratorios del edificio CEK y en la planta -3 se dispone de un digestor donde son tratados los efluentes.

Las conducciones de aire en el laboratorio LSB-3 también son independientes del resto de laboratorios del edificio CEK y la aportación de aire a la sala se realiza a través de cinco filtros y la extracción por tres filtros, en ambos casos son filtros absolutos, HEPA H13. El laboratorio está diseñado para tener una presión negativa de 25Pa entre la zona de trabajo y el pasillo y de 10Pa entre el transfer y el pasillo.

La regulación del flujo y de la presión requerida es controlada a través del programa informático %Scada de clima+. A su vez, este programa permite el control de la presión negativa de la sala y se activa una alarma cuando la presión es inferior a los 10Pa negativos.

El laboratorio LSB-3 está dividido en tres zonas bien diferenciadas: Zona transfer, zona de trabajo y zona de limpieza

Los espacios entre mobiliario y equipos son accesibles para facilitar una correcta limpieza. Las superficies de trabajo son impermeables al agua, resistentes al calor moderado y a los disolventes orgánicos, ácidos y álcalis, como también a los productos desinfectantes utilizados para descontaminar superficies e instrumentos. Las cabinas de seguridad biológica están instaladas a la distancia necesaria de la puerta de entrada para evitar fluctuaciones. Se dispone de un autoclave de doble puerta, donde serán introducidos los materiales para ser desinfectados. Para la entrada y salida de material se dispone de SAS de paso biológico y SAS de paso de puertas hinchables que permiten la esterilización con formol y UV según sea necesario. El laboratorio LSB-3 dispone de teléfono y una ventana de observación de la zona de trabajo, de manera que se pueda ver sus ocupantes así como comunicar los accidentes o incidentes que se puedan producir. Los laboratorios IDIBAPS disponen de un programa de control de insectos y ratones.

Los usuarios deberán apuntarse en el registro de acceso al laboratorio LSB-3 a la entrada y a la salida. Si el acceso se realiza en fin de semana o fuera del horario laboral el personal también debe registrarse en la recepción del centro ubicada en la planta 0 del edificio CEK para que el personal de seguridad pueda localizarlos en caso de emergencia.

El número mínimo de personas en el LSB-3 será de 2 y el máximo permitido será de 4.

Los usuarios deberán vestirse antes de acceder al laboratorio con los EPI requeridos: ropa de trabajo, bata, gorro, cubrezapatos, mascarilla y doble guante. El acceso se realizará a través del transfer. Las instalaciones están diseñadas para tener una presión negativa entre las diferentes habitaciones de la sección.

El primer usuario que entre en el laboratorio deberá realizar una revisión general de la sala, verificar el correcto funcionamiento de los incubadores y de los congeladores, comprobar el correcto funcionamiento del enclavamiento de las puertas y comprobar que el valor del marcador digital del interior de la sala sea superior a 20Pa negativos. Si el valor de la presión es inferior a los 10Pa negativos o suena la alarma avisar al coordinador/a de los laboratorios IDIBAPS o al personal responsable de vigilancia y control de los LSB-3.

En los laboratorios LSB-3 se seguirán las normas de seguridad biológica y los protocolos de uso de los equipos. Todos los protocolos serán de lectura obligatoria y a la vez todo el personal investigador y ajeno será formado y informado de las normas en un curso realizado por los miembros de la Comisión de P3 de IDIBAPS.

Cuando se realicen procedimientos que puedan generar aerosoles o salpicaduras se utilizarán cabinas de seguridad biológica de tipo II. Por ejemplo: después de la centrifugación, pulverización, agitación, sonicación o apertura de recipientes de materiales infecciosos donde sus presiones internas puedan ser diferentes a la presión ambiental.

Se centrifugarán con tapa de seguridad cuando se utilicen concentraciones altas o volúmenes grandes de agentes infecciosos y deben abrirse en el interior de la cabina de seguridad biológica

Los usuarios deben seguir el plan de mantenimiento de los equipos aprobado por la comisión del laboratorio LSB-3 y el Comité de Bioseguridad del IDIBAPS. Las instalaciones (climatización y electricidad) y los equipos



de los LSB-3 seguiran un plan de mantenimiento anual y de verificación realizadas por empresas externas especializadas.

Cada usuario será responsable de mantener limpia la superficie de trabajo, durante y después de cada uso. Una empresa de limpieza realizará limpiezas periódicas a las instalaciones, siguiendo el protocolo establecido por la Comisión de P3 de IDIBAPS.

Todo el material sólido y líquido (pipetas, frascos, placas, tubos, etc...) que haya tenido contacto con material infeccioso se debe limpiar pasando lejía al 10% por el interior para neutralizar el agente. Una vez neutralizado se puede eliminar en el contenedor de residuos biológicos.

La descontaminación de los residuos de los LSB-3 se hará a través del autoclave de la sala y su eliminación se realizará a través de la empresa CONSENUR que realiza la recogida y gestión de los residuos químicos y sanitarios (grupo III y IV). El contario fue entregado en la Actividad B que corresponde a los indicados en la **notificación de la instalación de tipo 3: A/ES/13/I-11.**

Cualquier derrame o incidente que provoque una sobreexposición del personal investigador a materiales infectados deberá ser comunicado al coordinador/a de los laboratorios IDIBAPS o al personal responsable de vigilancia y control de los LSB-3. Se seguirá el circuito de accidente biológico establecido y redactado por PRL de IDIBAPS.

## **VIII.- INFORMACIONES ADICIONALES RELATIVAS A LA UBICACIÓN DE LA INSTALACIÓN**

### **1) Proximidad a fuentes de peligro potenciales: Ninguna.**

El plano de situación fue entregado en la Actividad B que corresponde a los indicados en la **notificación de la instalación de tipo 3: A/ES/13/I-11.**

### **2) Descripción de las condiciones climáticas predominantes:**

La temperatura de los laboratorios LSB-3 está controlada entre 21 y 25°C para el buen funcionamiento de los equipos.

El laboratorio está diseñado para tener una presión negativa de 25Pa entre la zona de trabajo y el pasillo y de 10Pa entre el transfer y el pasillo.

### **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:**

Existe una sección ubicada en la planta -1 del edificio. Esta dividida en tres habitaciones:

- El tranfer de personal con control de acceso con lector biométrico y doble puerta con cierre automático. A la vez, subdividido en dos habitaciones, antesala o zona limpia y zona sucia.
- Laboratorio de trabajo P3. Dónde se desarrolla las técnicas de laboratorio y equipado con los instrumentos y equipos necesarios.
- Zona de lavado. Limpieza del material de laboratorio y zona de entrada y salida de material bilógico.

Se desarrollará actividad con organismos clasificados tipo III y con organismos Tipo II con los cuales se recomienda trabajar en laboratorios de contención 3.

## **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 fueron las expuestas en la Actividad B que corresponde a los indicados en la **notificación de la instalación de tipo 3: A/ES/13/I-11**. Se detallan apartado 10 y 12 del protocolo de funcionamiento del laboratorio LSB-3. También se adjunto **notificación de la instalación de tipo 3: A/ES/13/I-11** el Manual de prevención de riesgos en el laboratorio, redactado por el Servicio de Prevención de Riesgos Laborales.

Dentro de las buenas prácticas de laboratorio se tendrá en cuenta los siguientes aspectos:

- Evaluación del riesgo de los agentes biológicos que se manipulen.
- Identificación con el símbolo y signo internacional de advertencia de peligro biológico.
- En el laboratorio se debe llevar ropa protectora apropiada (batas sin abertura delantera o envoltentes, trajes de dos piezas de tipo pijama, monos, gorros y, si corresponde, protección para el calzado).
- Toda manipulación abierta de material potencialmente infeccioso debe realizarse dentro de una Cabina de Seguridad Biológica.
- Tener un inventario actualizado de las muestras

## 2) Formación del personal adscrito:

En cuanto a las normas de autoprotección, se seguirán las indicadas en el manual de formación y información de prevención de riesgos laborales para el personal de laboratorio investigador y técnico de laboratorio entregado en la Actividad B que corresponde a los indicados en la **notificación de la instalación de tipo 3: A/ES/13/I-11**. Se detallan en el ANEXO 13\_Actividad B\_Formación y información PRL de la Actividad B. Se hace entrega de gafas de seguridad y se pone a disposición de todo el personal manuales de actuación en caso de vertidos accidentales y los siguientes equipos de trabajo de protección individual para su utilización en las distintas actividades aplicables:

- **Guantes (nitrilo) conforme EN 374:1, 2 y 3**
- **Protección respiratoria máscaras: FFP1(con carbón activo), FFP2 y FFP3**
- **Máscara completa dotada con filtro universal y material absorbente para la recogida de derrames químicos (chemizorb).**
- **Ropa de abrigo para acceder a cámaras frigoríficas y de congelación**
- **Guantes antitérmicos para la manipulación de material/equipos calientes (autoclave)**
- **Guantes para la manipulación de material frío (muestras congeladas)**
- **Guantes para la manipulación de nitrógeno líquido**
- Protección auditiva (sonicador)

El personal de nueva incorporación debe leer y aceptar las normas básicas de trabajo en laboratorios+ así como asistir a una sesión informativa sobre este tema.

El personal de nueva incorporación es informado sobre el trabajo que va a realizar, técnicas que empleará, equipos de trabajo, agentes químicos, biológicos y físicos implicados en las tareas a desarrollar. Dicha información la recibe a partir del responsable científico, o del personal técnico del laboratorio al cual se va a incorporar.

## 3) Programas de limpieza/desinfección/descontaminación:

Viene descrito en el apartado 15 del Protocolo funcionamiento del laboratorio de seguridad biológica nivel 3 de contención entregado en la Actividad B que corresponde a los indicados en la **notificación de la instalación de tipo 3: A/ES/13/I-11**. La limpieza de la sala y la limpieza y desinfección de los filtros HEPA del sistema de ventilación de la sala y de las cabinas de seguridad Biológica están detallados en el protocolo normalizado de trabajo entregado en la **notificación de la instalación de tipo 3: A/ES/13/I-11**. ANEXO 10a\_Actividad B\_PNT Descontaminación filtros Hepa

Además el servicio de seguridad biológica velará por el cumplimiento de las normas de control de acceso, manipulación, descontaminación, esterilización, sanitización, etc.

También se adjunto en la notificación de instalación el protocolo interno P-011\_Protocolo de limpieza de los laboratorios LSB-3, donde se detalla las limpiezas y descontaminaciones programadas de la sala.



Para el edificio del CEK se dispone de un contrato para el control de plagas con la empresa DEPEC, contrato entregado en la **notificación de la instalación de tipo 3: A/ES/13/I-1**. ANEXO 12\_Actividad B\_Contrato control de plagas

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

El personal labmanger (responsables de vigilancia y control) es el encargado del buen funcionamiento de los laboratorios LSB-3 y del control de los aparatos, autoclave y residuos.

Se adjunto con el Protocolo funcionamiento del laboratorio de seguridad biológica nivel 3 de contención entregado en el ANEXO 6 de la **notificación de la instalación de tipo 3: A/ES/13/I-1** las fichas de uso y mantenimiento de cada uno de los equipos y instrumentos que dispone la instalación, detallando la periodicidad del mantenimiento preventivo, las validaciones y revisiones.

Los incubadores serán revisados anualmente.

La centrifuga de alta velocidad es revisada anualmente por la empresa Calservice contrato entregado en el **ANEXO 7** de la **notificación de la instalación de tipo 3: A/ES/13/I-1**

El SAS será revisado periódicamente por personal técnico de la empresa Telstar contrato entregado en el **ANEXO 8** de la **notificación de la instalación de tipo 3: A/ES/13/I-1**

El autoclave es revisado periódicamente por personal técnico de la empresa MATACHANA contrato entregado en el **ANEXO 9** de la **notificación de la instalación de tipo 3: A/ES/13/I-1**

Los filtros HEPA del sistema de clima y de las cabinas de seguridad biológica se descontaminaran y se revisaran periódicamente según el protocolo entregado como **ANEXO 10** de la **notificación de la instalación de tipo 3: A/ES/13/I-1**.

#### 5) Programas de inspección y control del confinamiento:

El personal de mantenimiento de IDIBAPS realizará unas tareas de mantenimiento de componentes de la sala.

##### CUADRO DE MANDO Y PROTECCIÓN LSB-3

Se realizará una parada técnica una vez al año y se realizaran las siguientes acciones:

- Verificar la resistencia de tierra
- Reapretar los contactos eléctricos
- Comprobar la ausencia de calentamientos anormales
- Verificar intensidad y tiempo de disparo de la protecciones
- Verificar la resistencia de aislamiento de los conductores
- Limpieza de cuadro
- Revisión luminarias de emergencia
- Revisión de estado general

##### CLIMATIZADORES Y EXTRACCIÓN LSB-3

Los filtros que componen els sistema de climatización tendrán el siguiente mantenimiento:

- Cada tres meses se revisarán las correas y cambiarán los prefiltros de aire.
- Cada seis meses se revisarán los filtros F7 y F9 de aire y se comprobará el funcionamiento de la válvulas de calor/frío.
- Anualmente se realizará:
  1. Limpieza de filtros de agua
  2. Revisión del aislamiento térmico
  3. Reapriete de bornes
  4. Cambio de correas

Una empresa externa realizará la revisión y cambio de los filtros HEPA de extracción y impulsión, cada 2 y 4 años respectivamente (pendiente de contratación).

## X. GESTION E INACTIVACIÓN DE RESIDUOS

### 1) Encargado de la gestión de residuos:



gestión interna: Sí  NO   
gestión por una empresa externa: Sí  NO

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

La descontaminación de los residuos de los LSB-3 se hará a través del autoclave de la sala y su eliminación se realizará a través de la **empresa CONSENU**R que realiza la recogida y gestión de los residuos químicos y sanitarios (grupo III y IV). El contrato fue entregado en la Actividad B que corresponde a los indicados en en ANEXO 11 de la **notificación de la instalación de tipo 3: A/ES/13/I-11**.

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

Existen procedimientos sobre gestión de residuos:

Todo lo que concierne a la gestión de los residuos generados se especifica en los apartados 13 y 14 del Protocolo funcionamiento del laboratorio de seguridad biológica nivel 3 de contención entregado en la Actividad B que corresponde a los indicados en la **notificación de la instalación de tipo 3: A/ES/13/I-11**. Este documento es de obligada lectura para todo el personal investigador.

o Inactivación de residuos biológicos contaminados para líquidos

El personal investigador será responsable de presentar el procedimiento de inactivación de los agentes biológicos con los que trabaja. Este procedimiento quedará reflejado en la ficha de inactivación entregados en la Actividad B que corresponde a los indicados los ANEXO 5 en la **notificación de la instalación de tipo 3: A/ES/13/I-11**.

Los residuos líquidos generados en la sala (sobrenadantes de cultivos,...) serán eliminados con desinfectante Environ Vesphene a una dilución 1/34, en el contenedor de residuo líquido que se ubicará en el interior de la cabina. Se llenará de residuo hasta un 75% de su capacidad, una vez lleno se cerrará correctamente y se pondrá dentro del contenedor negro de 30l. Una vez el contenedor esté lleno se pasará por el SAS y será tratado como un residuo biológico. El desinfectante utilizado a la concentración indicada elimina a todo tipo de agentes infecciosos.

El centro dispone de un digestor (autoclave a 150°C) para poder inactivar los efluentes de las picas de la sala de lavado y ducha.

o Autoclave para sólidos y sólidos y líquidos

Todo el material sólido y líquido (pipetas, frascos, placas, tubos, etc...) que haya tenido contacto con material infeccioso se debe limpiar pasando lejía al 10% por el interior para neutralizar el agente. Una vez neutralizado la descontaminación de los residuos de los LSB-3 se hará a través del autoclave de la sala y su eliminación se realizará a través de la empresa CONSENUR .

o La gestión de residuos se realiza con gestores autorizados.

La descontaminación de los residuos de los LSB-3 se hará a través del autoclave de la sala y su eliminación se realizará a través de la **empresa CONSENU**R que realiza la recogida y gestión de los residuos químicos y sanitarios (grupo III y IV). El contrato fue entregado en la Actividad B que corresponde a los indicados en en ANEXO 11 de la **notificación de la instalación de tipo 3: A/ES/13/I-11**.

o Se adjuntan procedimientos (gestión interna y gestión externa).



Todo lo que concierne a la gestión de los residuos generados se especifica en los [apartados 13 y 14 del Protocolo funcionamiento del laboratorio de seguridad biológica nivel 3 de contención entregado en la Actividad B](#) que corresponde a los indicados en la **notificación de la instalación de tipo 3: A/ES/13/I-11**. Este documento es de obligada lectura para todo el personal investigador.

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

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

Tipo de incidencia		Análisis/observaciones
Intrusión.		El acceso al laboratorios LSB-3 es restringido, de modo que sólo puede acceder personal autorizado mediante sistema de huella digital.
Derrame de material biológico		Durante el derrame es factible que se generen aerosoles y salpicaduras pudiendo afectar directamente a los trabajadores del laboratorio LSB-3. Las probabilidades de que se produzca esta incidencia fuera de las cabinas de seguridad biológica es menor ya que fuera de estas no debe trabajarse con material en abierto.
Emisión de agentes biológicos	Interior área de contención	La probabilidad de que se produzca esta incidencia fuera de las cabinas de seguridad biológica es baja ya que fuera de estas no debe trabajarse con material en abierto. Esta incidencia se podría producir en caso de fallo en el funcionamiento de una cabina de seguridad biológica o de un derrame de material infeccioso fuera de cabina (incidencia ya analizada).
	Exterior área de contención	La probabilidad de que se produzca esta incidencia es todavía más baja; esta incidencia se podría producir como concatenación de las incidencias anteriores sumadas al fallo de sendos ventiladores de extracción, conectados en paralelo, del laboratorio LSB-3, perdiéndose los niveles de depresión en el laboratorio respecto del exterior.
Accidente	Accidente biológico	Se entiende accidente con riesgo biológico como aquel en el que se ha producido un contacto con un agente biológico, ya sea de forma percutánea o a través de mucosas: <ul style="list-style-type: none"><li>- Percutánea: pinchazos, cortes o contacto con piel no intacta.</li><li>- A través de mucosas: salpicaduras.</li><li>- Contacto / inhalación de aerosoles.</li></ul>
	Accidente no biológico.	Se entiende como tal, toda lesión no definida como accidente biológico.
Derrame de productos químicos.		Las sustancias empleadas en los laboratorios LSB-3 son alícuotas de p-formaldehído, glutaraldehído y algunas soluciones de MgCl <sub>2</sub> y NaCl. Los volúmenes de los recipientes que las contienen son de 50 ml máximo

<p><b>Incendio y otro tipo de emergencias que puedan ocasionar daños estructurales en los laboratorios LSB-3 (terremotos, explosiones)</b></p>	<p>En los laboratorios LSB-3 se estima una carga térmica de fuego baja. Principalmente, un inicio de un incendio puede deberse a un fallo eléctrico de la instalación o como consecuencia de una técnica con llama abierta. En los laboratorios LSB-3 hay un autoclave de vapor (equipo a presión).</p>
<p><b>Tipo de incidencia</b></p>	<p><b>Recursos previstos</b></p>
<p><b>Intrusión.</b></p>	<p>El acceso al laboratorios LSB-3 es restringido de modo que sólo puede acceder personal autorizado mediante sistema de huella digital. El personal autorizado para acceder a los laboratorios LSB-3 deberá conocer y aplicar lo reflejado en este procedimiento.</p>
<p><b>Derrame de material biológico</b></p>	<p>Deberá disponerse del siguiente material para la recogida del derrame, sin perjuicio de otros equipos de protección personal especificados en los procedimientos de trabajo:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Desinfectante de eficacia probada y activa según el tipo de agente infeccioso.</li> <li>- Guantes conforme EN 374: 1, 2 y 3.</li> <li>- Guantes anticorte (en caso de rotura de material de vidrio).</li> <li>- Gafas de seguridad EN 166 con montura integral.</li> <li>- Mascarilla FFP3.</li> <li>- Bata desechable.</li> <li>- Protección desechable de calzado.</li> </ul> <p>El personal autorizado para acceder a los laboratorios LSB-3 deberá conocer y aplicar lo reflejado en este procedimiento.</p>
<p><b>Emisión de agentes biológicos</b></p>	<p>La instalación dispone de:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Aviso acústico por flujo demasiado bajo o demasiado alto en las cabinas de seguridad biológica (Nuair NU-437-400E).</li> <li>- Aviso acústico por pérdida de nivel de depresión negativa requerido en el interior del laboratorio LSB-3.</li> </ul> <p>El personal autorizado para acceder a los laboratorios LSB-3 deberá conocer y aplicar lo reflejado en este procedimiento.</p>
<p><b>Accidente</b></p>	<p>La antecámara dispone de un lavaojos y una ducha de emergencia. En la antecámara hay un botiquín con material básico para primeros auxilios. El personal autorizado para acceder a los laboratorios LSB-3 deberá conocer y aplicar lo reflejado en este procedimiento.</p>
<p><b>Derrame de productos químicos.</b></p>	<p>Deberá disponerse del siguiente material para la atención del derrame:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Absorbedor inerte.</li> <li>- Guantes conforme EN 374:1, 2 y 3.</li> <li>- Gafas de seguridad EN 166.</li> <li>- Máscara de protección respiratoria con filtro universal, en su grado de protección más alto (A2B2E2K1P3).</li> </ul> <p>El personal autorizado para acceder a los laboratorios LSB-3 deberá conocer y aplicar lo reflejado en este procedimiento.</p>



<b>Incendio y otro tipo de emergencias que puedan ocasionar daños estructurales en el Laboratorios LSB-3(terremotos, explosiones)</b>	<p>En área de laboratorio y en antecámara hay instalados detectores de humo conectados a la central de alarmas del edificio.</p> <p>En el caso de ser precisa una evacuación rápida del laboratorio, en función de la gravedad de la emergencia y la capacidad para contenerla, en la salida de los laboratorios LSB-3 hay un pulsador tipo %eta+ que permite anular el bloqueo de las puertas de laboratorio y antecámara. Igualmente, en el pasillo a la entrada de la antecámara hay otro pulsador tipo %eta+, que para ser activado requiere de desbloqueo mediante llave en posesión del personal de Mantenimiento y de Seguridad del edificio CEK.</p> <p>En la antecámara de los laboratorios LSB-3 se dispone de un extintor portátil de anhídrido carbónico. Se desaconseja el uso de otro agente extintor (polvo, agua).</p> <p>El personal autorizado para acceder a los laboratorios LSB-3 deberá conocer y aplicar lo reflejado en este procedimiento.</p> <p>El personal autorizado para la entrada en los laboratorios LSB-3 contará con conocimientos básicos en el uso del extintor portátil impartidos dentro de la formación específica para trabajar en dicho laboratorio.</p>
---	--

## 2) Equipamiento de seguridad (especifíquese):

Todo lo que concierne a los equipos de seguridad, barreras primarias y secundarias de los LSB-3 es detallado en el [apartado 12](#) del Protocolo funcionamiento del laboratorio de seguridad biológica nivel 3 de contención entregado en la Actividad B que corresponde a los indicados en la **notificación de la instalación de tipo 3: A/ES/13/I-11**. Este documento es de obligada lectura para todo el personal investigador.

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

En el protocolo de funcionamiento de los laboratorios LSB-3 entregado en la Actividad B que corresponde a los indicados en la **notificación de la instalación de tipo 3: A/ES/13/I-11** se incluye el [apartado 17](#) donde se establecen los siguientes apartados:

- Análisis de incidencias, donde se refleja los tipos de emergencias que se ha considerado pueden ocurrir en el laboratorio.
- Recursos materiales y humanos precisos para hacer frente a las incidencias.
- Protocolos de actuación por parte del personal del laboratorio y personal de los equipos de emergencia del edificio en función de las emergencias que se han analizado.
- Implantación, fundamentada en que el personal autorizado para trabajar en el laboratorio es conocedor del contenido dicho capítulo.

También con el protocolo de funcionamiento del laboratorios LSB-3 se adjunta el Manual de prevención de riesgos en el laboratorio, redactado por el Servicio de Prevención de Riesgos Laborales también entregado en la Actividad B que corresponde a los indicados en la **notificación de la instalación de tipo 3: A/ES/13/I-11** .

## 4) Planes de emergencia:

En la Actividad B que corresponde a los indicados en la **notificación de la instalación de tipo 3: A/ES/13/I-11** se adjunto el protocolo interno de los laboratorios IDIBAPS P-008\_Protocolo de actuación en caso de emergencia en LSB-3 y evacuación del edificio y Manual de Prevención donde se describen los planes de emergencia del edificio CEK en caso de derrame químico o biológico, accidente laboral y evacuación del edificio.

Barcelona, 19 de diciembre del 2014



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

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

**Cumplimentar un formulario tipo C por cada actividad tipo 2, 3 o 4. En caso de actividades tipo 1, deben seguirse las instrucciones recogidas en el apartado III.1.a de la Guía para la remisión de solicitudes de registro de instalaciones.**

**I. RESPONSABLES DE LA ACTIVIDAD**

**1) Entidad**

Nombre: [Centre de Recerca en Salut Internacional de Barcelona \(CRESIB\)](#)  
Dirección postal: [C/Rosselló, 132, 4a planta 08036 Barcelona](#)

**2) Representante legal de la entidad**

Nombre y apellidos: [Dr Antoni Plasència](#)  
NIF: [G64334048](#)  
Cargo: [Director](#)  
Tel: [93.227.98.92](#)  
Fax: -----  
Correo electrónico: [oci@cresib.cat](mailto:oci@cresib.cat)

**3) Responsable científico de la actividad**

Nombre y apellidos: [Juan Manuel Bustamante](#)  
NIF: [Y3468956H](#)  
Cargo: [Investigador Principal](#)  
Tel: [93.227.54.00 \(ext.4569\)](#)  
Fax: [93.312.94.10](#)  
Correo electrónico: [juan.bustamante@cresib.cat](mailto:juan.bustamante@cresib.cat)

**4) Responsable de bioseguridad de la instalación donde se realizará la actividad**

Nombre y apellidos: [Sandra Piquer i Gibert](#)  
NIF: [38098454N](#)  
Cargo: [Coordinadora laboratorios IDIBAPS](#)  
Tel: [93.227.54.00 \(ext.4388\)](#)  
Fax: [93.3129405](#)  
Correo electrónico: [sandra.piquer@idibaps.org](mailto:sandra.piquer@idibaps.org)

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

[Sandra Piquer](#)



## II. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD.

### 1) **Objetivo de la actividad:**

Los parásitos fluorescentes serán utilizados para llevar a cabo estudios de evaluación e identificación de compuestos con actividad tripanocida. Esperamos encontrar fármacos que puedan ser potenciales candidatos para estudios preclínicos en animales de experimentación.

### 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 periodo de tiempo previsto para la optimización del ensayo y la evaluación de compuestos es de 5 años.

## 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.

### 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: *Trypanosoma cruzi cepa CL.*

El *Trypanosoma cruzi* es patógeno para los seres humanos. Además es capaz de infectar diversos animales entre los que se encuentran ratas y ratones. Ha de estar vivo, una vez muerto no es patogénico, tampoco es patogénico ninguno de sus productos extracelulares.

La clasificación de grupo de riesgo en la EU es tipo 3. La clasificación del NIH es tipo 2.

Es relevante destacar que *T. cruzi* necesita de un vector específico para su transmisión: los insectos triatominos. Estos insectos sólo se encuentran en Latinoamérica y no existen en España. Puede infectar una gran variedad de especies animales, pero necesita del vector para transmitirse de forma natural.

*Trypanosoma cruzi* es el causante etiológico de la enfermedad de Chagas. Esta patología tiene una fase aguda y otra crónica. La fase aguda ocurre inmediatamente después de la infección, puede durar hasta varias semanas o meses y se pueden encontrar los parásitos en la sangre circulante. La infección puede ser leve o asintomática. Puede haber fiebre o inflamación alrededor del sitio de inoculación (lugar donde el parásito penetró la piel o la membrana mucosa). En casos poco frecuentes, la inflamación aguda puede dar lugar a una fuerte inflamación del músculo cardíaco o del cerebro y de la capa que lo recubre.

Después de la fase aguda, la mayoría de personas infectadas entran en una etapa prolongada y asintomática de la enfermedad (llamada "crónica indeterminada"), durante la cual se encuentran muy pocos parásitos o no se encuentra ninguno en la sangre. Durante esta etapa, la mayoría de los afectados no saben que tienen la infección. Muchas personas pueden no presentar síntomas durante toda la vida y nunca presentar los síntomas asociados a la enfermedad de Chagas. Sin embargo, se calcula que entre un 20% y un 30% de las personas infectadas presentarán problemas médicos debilitantes y a veces potencialmente mortales a lo largo de la vida. Las complicaciones de la enfermedad de Chagas crónica pueden ser: anomalías del ritmo cardíaco que pueden causar muerte repentina; dilatación del corazón, el cual no bombea bien la sangre; dilatación del esófago o del colon, que causa dificultades para comer o para evacuar. En las personas con sistemas inmunitarios deprimidos (por ejemplo, debido al SIDA o a la quimioterapia), la enfermedad de Chagas puede reactivarse con los parásitos que se encuentran en el torrente sanguíneo. Esta situación puede potencialmente agravar la enfermedad.

#### b) Organismo donante: *Discosoma sp.* No ofrece ninguna peligrosidad



- c) Inserto: Gen de expresión de proteína roja de fluorescencia (tdTomato)
- d) Vector: vector de expresión pTrex.
- e) Organismo modificado genéticamente resultante: T. cruzi tdTomato.
- f) Efectos para la salud humana y la sanidad animal y vegetal

El Trypanosoma cruzi que se genera tras la transfección del plásmido pTrex tdTomato (T. cruzi tdTomato) es capaz de infectar a las células susceptibles de la infección por T. cruzi. Los efectos sobre la salud serían los mismos que produce en una infección por T. cruzi, produciendo la enfermedad de Chagas, cuya descripción está detallada en el punto 1a de esta sección.

- g) Efectos para el medio ambiente.

No presenta ninguna peligrosidad adicional a la descrita para el organismo receptor. Las secuencias insertadas no están implicadas en absoluto en las propiedades patógenas o nocivas del organismo. Sólo sirven como reportero para detectar el parásito en ensayos in vitro. Los organismos donante y receptor no intercambian material genético de forma natural. Además, el parásito es inactivado fácilmente ya que es muy sensible a la acción de detergentes, alcohol 70 y lejía.

## 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 | <input type="checkbox"/>            |
| Tipo 2 | <input type="checkbox"/>            |
| Tipo 3 | <input checked="" type="checkbox"/> |
| Tipo 4 | <input type="checkbox"/>            |

## 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).

Poco probable ya que la manipulación de los OMG se realizará siempre en una cabina de bioseguridad BIOII/A y dentro de la instalación de bioseguridad Biológica de nivel 3. Todo el personal será entrenado a tal efecto para cumplir con la normativa vigente actualmente en la instalación en cuanto a la manipulación de otros microorganismos tipo 3.

- b) Concentración y escala utilizadas.

Poco probable Se trabajará en placas multipocillo de hasta 200 microlitros, y con frascos de cultivo de 10 ml.

- 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).

Poco probable. El microorganismo se cultivará in vitro siempre dentro de las instalaciones de bioseguridad Biológica de nivel 3 donde se encuentran todos los aparatos necesarios para su manipulación y almacenamiento como cabina de bioseguridad BIOII/A, Incubadores de CO<sub>2</sub> específicos, congeladores de -80 y -20, y centrifugas para la manipulación de OGM de tipo 3.

Todo el personal será entrenado a tal efecto para cumplir con la normativa vigente actualmente en la instalación en cuanto a la manipulación de otros microorganismos tipo BSL3. Se trabajará en placas multipocillo y en frascos de cultivo. Placas y frascos de cultivo previamente sembrados con células provenientes de una línea establecida de mamífero (células Vero) se inoculan con tripomastigotes del



OMG expresando la proteína tdTomato. Tras 8-12 hs aproximadamente, se retiran todos los parásitos que no hayan conseguido ser internalizados mediante suaves lavados con buffer de lavado. En el caso de los experimentos de screening de compuestos antitripanocidas, se agregarán los compuestos en cada pocillo experimental. Al cabo de 72 hs. se medirá la fluorescencia debida a la presencia de parásitos intracelulares, para validar el efecto de los compuestos en el crecimiento de los parásitos intracelulares.

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

*T. cruzi* ha sido clasificado como agente biológico del grupo 3 según la Directiva 2000/54/CE

La clasificación del NIH es tipo 2.

Todas las manipulaciones con cultivos del OMG se realizarán en laboratorios con instalaciones declaradas con grado 3 con número de notificación A/ES/13/I-11.

#### 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.)

La situación del edificio CEK donde se encuentran los laboratorios IDIBAPS está descrita en el Plano de situación entregado en la Actividad B que corresponde a los indicados en la notificación de la instalación de tipo 3: A/ES/13/I-11.

El laboratorio de seguridad biológica contención 3 (laboratorios LSB-3) está situado en la planta -1 del edificio CEK del IDIBAPS. La entrada del laboratorio está señalizada con el símbolo universal de advertencia de riesgo biológico.

La conducción de agua es independiente del resto de laboratorios del edificio CEK y en la planta -3 se dispone de un digestor donde son tratados los efluentes.

Las conducciones de aire en el laboratorio LSB-3 también son independientes del resto de laboratorios del edificio CEK y la aportación de aire a la sala se realiza a través de cinco filtros y la extracción por tres filtros, en ambos casos son filtros absolutos, HEPA H13. El laboratorio está diseñado para tener una presión negativa de 25Pa entre la zona de trabajo y el pasillo y de 10Pa entre el transfer y el pasillo.

La regulación del flujo y de la presión requerida es controlada a través del programa informático %Scada de clima+. A su vez, este programa permite el control de la presión negativa de la sala y se activa una alarma cuándo la presión es inferior a los 10Pa negativos.

La temperatura de los laboratorios LSB-3 está controlada entre 21 y 25°C para el buen funcionamiento de los equipos.

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

Tipo de incidencia	Análisis/observaciones
Intrusión.	El acceso al laboratorios LSB-3 es restringido, de modo que sólo puede acceder personal autorizado mediante sistema de huella digital.
Derrame de material biológico	Durante el derrame es factible que se generen aerosoles y salpicaduras pudiendo afectar directamente a los trabajadores del laboratorio LSB-3. Las probabilidades de que se produzca esta incidencia fuera de las cabinas de seguridad biológica es menor ya que fuera de estas no debe trabajarse con material en abierto.

<b>Emisión de agentes biológicos</b>	<b>Interior área de contención</b>	La probabilidad de que se produzca esta incidencia fuera de las cabinas de seguridad biológica es baja ya que fuera de estas no debe trabajarse con material en abierto. Esta incidencia se podría producir en caso de fallo en el funcionamiento de una cabina de seguridad biológica o de un derrame de material infeccioso fuera de cabina (incidencia ya analizada).
	<b>Exterior área de contención</b>	La probabilidad de que se produzca esta incidencia es todavía más baja; esta incidencia se podría producir como concatenación de las incidencias anteriores sumadas al fallo de sendos ventiladores de extracción, conectados en paralelo, del laboratorio LSB-3, perdiéndose los niveles de depresión en el laboratorio respecto del exterior.
<b>Accidente</b>	<b>Accidente biológico</b>	Se entiende accidente con riesgo biológico como aquel en el que se ha producido un contacto con un agente biológico, ya sea de forma percutánea o a través de mucosas: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Percutánea: pinchazos, cortes o contacto con piel no intacta.</li> <li>- A través de mucosas: salpicaduras.</li> <li>- Contacto / inhalación de aerosoles.</li> </ul>
	<b>Accidente no biológico.</b>	Se entiende como tal, toda lesión no definida como accidente biológico.
<b>Derrame de productos químicos.</b>	Las sustancias empleadas en los laboratorios LSB-3 son alícuotas de p-formaldehído, glutaraldehído y algunas soluciones de MgCl <sub>2</sub> y NaCl. Los volúmenes de los recipientes que las contienen son de 50 ml máximo	
<b>Incendio y otro tipo de emergencias que puedan ocasionar daños estructurales en los laboratorios LSB-3 (terremotos, explosiones)</b>	En los laboratorios LSB-3 se estima una carga térmica de fuego baja. Principalmente, un inicio de un incendio puede deberse a un fallo eléctrico de la instalación o como consecuencia de una técnica con llama abierta. En los laboratorios LSB-3 hay un autoclave de vapor (equipo a presión).	

c) Equipos de seguridad, sistemas de alarma y métodos de confinamiento adicionales.

<b>Tipo de incidencia</b>	<b>Recursos previstos</b>
<b>Intrusión.</b>	El acceso al laboratorio LSB-3 es restringido de modo que sólo puede acceder personal autorizado mediante sistema de huella digital. El personal autorizado para acceder a los laboratorios LSB-3 deberá conocer y aplicar lo reflejado en este procedimiento.
<b>Derrame de material biológico</b>	Deberá disponerse del siguiente material para la recogida del derrame, sin perjuicio de otros equipos de protección personal especificados en los procedimientos de trabajo: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Desinfectante de eficacia probada y activa según el tipo de agente infeccioso.</li> <li>- Guantes EN 374:1,2 y 3.</li> </ul>



	<ul style="list-style-type: none"><li>- Guantes anticorte (en caso de rotura de material de vidrio).</li><li>- Gafas de seguridad EN 166 con montura integral.</li><li>- Mascarilla FFP3.</li><li>- Bata desechable.</li><li>- Protección desechable de calzado.</li></ul> <p>El personal autorizado para acceder a los laboratorios LSB-3 deberá conocer y aplicar lo reflejado en este procedimiento.</p>
<b>Emisión de agentes biológicos</b>	<p>La instalación dispone de:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>- Aviso acústico por flujo demasiado bajo o demasiado alto en las cabinas de seguridad biológica (Nuair NU-437-400E).</li><li>- Aviso acústico por pérdida de nivel de depresión negativa requerido en el interior del laboratorio LSB-3.</li></ul> <p>El personal autorizado para acceder a los laboratorios LSB-3 deberá conocer y aplicar lo reflejado en este procedimiento.</p>
<b>Accidente</b>	<p>La antecámara dispone de un lavaojos y una ducha de emergencia. En la antecámara hay un botiquín con material básico para primeros auxilios.</p> <p>El personal autorizado para acceder a los laboratorios LSB-3 deberá conocer y aplicar lo reflejado en este procedimiento.</p>
<b>Derrame de productos químicos.</b>	<p>Deberá disponerse del siguiente material para la atención del derrame:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>- Absorbente inerte.</li><li>- Guantes conforme EN 374:1, 2 y 3.</li><li>- Gafas de seguridad EN 166.</li><li>- Máscara de protección respiratoria con filtro universal, en su grado de protección más alto (A2B2E2K1P3).</li></ul> <p>El personal autorizado para acceder a los laboratorios LSB-3 deberá conocer y aplicar lo reflejado en este procedimiento.</p>
<b>Incendio y otro tipo de emergencias que puedan ocasionar daños estructurales en el Laboratorios LSB-3 (terremotos, explosiones)</b>	<p>En área de laboratorio y en antecámara hay instalados detectores de humo conectados a la central de alarmas del edificio.</p> <p>En el caso de ser precisa una evacuación rápida del laboratorio, en función de la gravedad de la emergencia y la capacidad para contenerla, en la salida de los laboratorios LSB-3 hay un pulsador tipo %eta+ que permite anular el bloqueo de las puertas de laboratorio y antecámara. Igualmente, en el pasillo a la entrada de la antecámara hay otro pulsador tipo %eta+, que para ser activado requiere de desbloqueo mediante llave en posesión del personal de Mantenimiento y de Seguridad del edificio CEK.</p> <p>En la antecámara de los laboratorios LSB-3 se dispone de un extintor portátil de anhídrido carbónico. Se desaconseja el uso de otro agente extintor (polvo, agua).</p> <p>El personal autorizado para acceder a los laboratorios LSB-3 deberá conocer y aplicar lo reflejado en este procedimiento.</p> <p>El personal autorizado para la entrada en los laboratorios LSB-3 contará con conocimientos básicos en el uso del extintor portátil impartidos dentro de la formación específica para trabajar en dicho laboratorio.</p>

d) Planes de emergencia (para actividades tipo 3 y 4).



Los laboratorios IDIBAPS disponen de un [protocolo de actuación en caso de emergencia en LSB-3 y evacuación del edificio y Manual de Prevención](#) y corresponden a los indicados en la **notificación de la instalación de tipo 3: A/ES/13/I-11**. En ellos se describen los planes de emergencia del edificio CEK en caso de derrame químico o biológico, accidente laboral y evacuación del edificio.

Barcelona, 19 de diciembre de 2014