



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

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

I. INFORMACIÓN GENERAL

1) Responsables de la actividad

a) Entidad

Nombre: Universitat Pompeu Fabra (UPF)
Dirección postal: Dr. Aiguader, 88 – 08003 Barcelona

b) Representante legal de la entidad

Nombre y apellidos: Jaume Casals i Pons
NIF: 37317474-C
Cargo: Rector
Tel: 93 542 20 00
Fax: 93 542 20 02
Correo electrónico: rector@upf.edu

c) Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos: Andreas Franz Meyerhans
NIF: Y-0810274-K
Cargo: Investigador Principal del Grupo de Biología de la Infección, Departamento de Ciencias Experimentales y de la Salud, Universitat Pompeu Fabra
Tel: 93 316 08 31
Fax: 93 316 09 01
Correo electrónico: andreas.meyerhans@upf.edu

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

Nombre y apellidos: Andreas Franz Meyerhans
NIF: Y-0810274-K
Cargo: Responsable del laboratorio de contención 62.309.02 con nivel de seguridad biológica de nivel 3
Tel: 93 316 08 31
Fax: 93 316 09 01
Correo electrónico: andreas.meyerhans@upf.edu



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

El responsable científico de la instalación actúa como persona de contacto.

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 NO

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: 22/11/2016.

b) Número de referencia del expediente: A/ES/16/I-21.

II. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD:

1) Finalidad de la actividad:

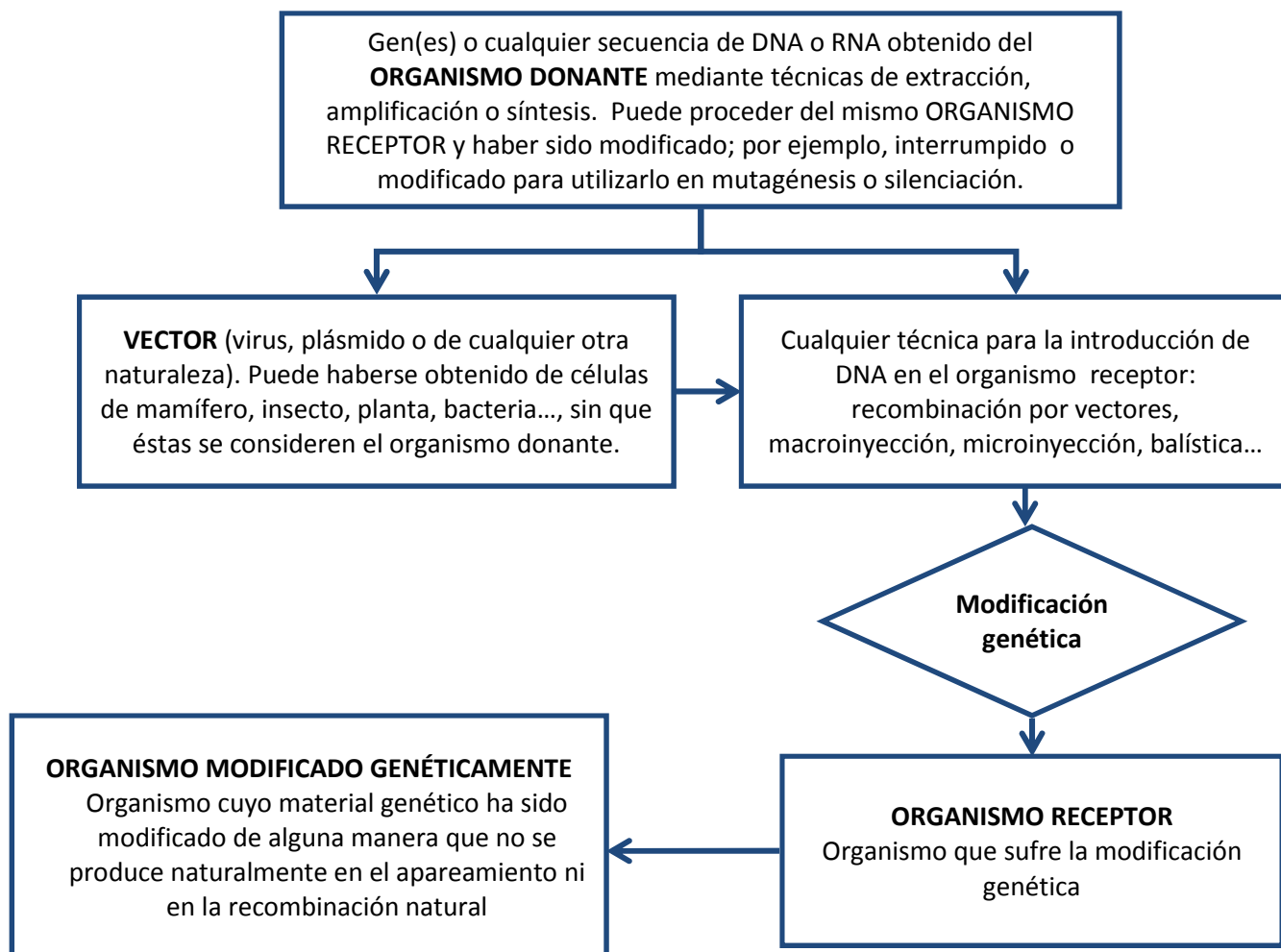
Introducción de material genético viral para expresión y producción de partículas virales infecciosas del VIH a través de la transfección de su material genético en células humanas en condiciones normales y bajo el agregado de sustancias químicas y otras.

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) Nombre científico: Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH).
Taxonomía: Genero Lentivirus, familia Retroviridae.
Nombre común: VIH.
- 2) Descripción de los métodos de identificación y aislamiento.
 - a) Técnicas de aislamiento: Existen diversas técnicas de aislamiento viral. La más utilizada es la co-cultivación in vitro de células infectadas de pacientes con células estimuladas de donantes sanos. Ver: <https://www.hiv.lanl.gov/content/nab-reference-strains/html/Protocol-for-HIV-1-Isolation-by-PBMC-Co-Culture-January-2014.pdf>
 - b) Técnicas de identificación: Existen herramientas diagnósticas comerciales que determinan la presencia de VIH en pacientes basadas tanto en la seropositividad (presencia de anticuerpos frente al virus por ELISA) así como técnicas moleculares basadas en la amplificación del genoma de RNA viral por RT-PCR cuantitativa a partir de sangre de individuos infectados. Ambas técnicas se emplean rutinariamente en clínica.
 - c) Marcadores genéticos: Los marcadores genéticos más comúnmente usados son secuencias conservadas de las proteínas virales gag, pol y env. También pueden utilizarse, según el caso, secuencias de las proteínas virales Tat, Vif, o Vpu. En las bases de datos se dispone de secuencias completas de multitud de aislados de VIH. Ver: <https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/mainpage.html>
 - d) Marcadores fenotípicos: Los pacientes infectados presentan viremia (presencia de RNA viral en sangre). La infección por VIH se caracteriza por una continua disminución en las cuentas de linfocitos CD4 en sangre. Estas pueden mantenerse estables, según el caso, bajo terapia antiretroviral.
 - e) Estabilidad genética: El VIH posee un genoma de RNA que se retrotranscribe a DNA mediante la transcriptasa reversa viral. La fidelidad de esta RNA-polimerasa viral es baja y produce típicamente alrededor de 3×10^{-5} cambios de nucleótidos por ciclo de replicación. Por lo tanto, existe una población diversa de cuasiespecies con pequeñas alteraciones genéticas circulando en un mismo paciente.
- 3) Posibles modificaciones genéticas anteriores: El vector parental utilizado es el denominado pNL4.3ΔEnv. Estos vectores son deficientes en la expresión de la proteína viral determinante de entrada (envelope). Brevemente, un cambio de marco de lectura fue introducido cerca de extremo 5' del envelope mediante la ADN polimerasa T4. Como resultado, el OMG no es infectivo por sí mismo. **(ver Laverdure et al., J Virol, adjuntado, para más información).**
- 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:



El VIH se transmite por contacto directo a través de vía sanguínea y/o fluidos corporales. El VIH es patógeno para los seres humanos, causando el Síndrome de la Inmunodeficiencia Humana (SIDA). El VIH puede transmitirse desde y/o hacia primates no-humanos.

- 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.):

Según la OMS y el NIH el VIH se considera un agente biológico de nivel 3.

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

Disminución típica de los linfocitos CD4 en sangre correspondiente a una carga viral alta seguida de un periodo variable de aparente latencia. Sin tratamiento, en general surgen síntomas del Síndrome de la Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA). Ver: <https://www.aids.gov/hiv-aids-basics/hiv-aids-101/signs-and-symptoms/>

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

SI NO

Porqué: Desconocemos la existencia de cepas no virulentas

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

- 8) Experiencia adquirida en relación con la seguridad en la utilización del organismo receptor:
Experiencia propia de los investigadores del Departament de Ciències Experimentals i de la Salut de la Universitat Pompeu Fabra en el trabajo con cultivo celular.

- 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, como cualquier virus depende de una célula huésped.

En caso afirmativo: No procede.

- b) Capacidad de crear estructuras de resistencia o letargo: NO

- | | |
|-------------------------------|--------------------------|
| 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: No procede.
- d) Posibles nichos ecológicos: Homo sapiens.
- e) Tiempo de generación en ecosistemas naturales: Se desconoce.
- 10) Efectos posibles sobre el medio ambiente:
 - a) Implicaciones en procesos ambientales (p.ej. fijación del nitrógeno o regulación del pH del suelo): No procede.
 - b) Interacciones con otros organismos y efectos sobre éstos: No procede.
- 11) Distribución geográfica y tipo de ecosistema en el que se encuentra el organismo receptor:

El VIH es pandémico. Las regiones más afectadas se encuentran en el África Sub-Sahariana.
- 12) Hábitat natural del organismo:

Poblaciones humanas.

IV. INFORMACIÓN RELATIVA AL ORGANISMO DONANTE

- 1) Nombre científico: Renilla reniformis.
Taxonomía: Género Renilla, Familia Renillidae.
Nombre común: Renilla reniformis o Pensamiento de Mar.

Nombre científico: Photinus pyralis.
Taxonomía: Género Photinus, Familia Lampyridae.
Nombre común: Luciérnaga.

Tipo de material genético obtenido del organismo donante: ADN correspondiente a los genes de la luciferasa

2) Método de obtención:

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

- 3) Función del gen/genes en el organismo donante: La luciferasa es un término genérico para la clase de enzimas oxidativas utilizados en bioluminiscencia. La luciferasa consume/oxida el pigmento luciferina con gasto de ATP (que en la célula suele proceder de la transformación del pirofosfato por el enzima sulfurilasa). La reacción de oxidación libera luz, de color diferente según la composición de la luciferina y luciferasa, lo que explica la producción de varios colores, en distintas especies de organismo.



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: No procede.

i) seres humanos
ii) animales
iii) plantas

b) ¿De qué modo se manifiesta la patogenicidad?: No procede.

c) Las secuencias insertadas: ¿están implicadas de alguna forma en las propiedades patógenas o nocivas del organismo? No.

5) ¿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) Delección de material genético
c) Sustitución de bases
d) Fusión celular
e) Otros, especifíquese

2) Finalidad de la modificación genética:

Nombre OMG: **HIV-Luc(Reni)ASLuc(Fire)**

Insertar los genes de la luciferasa junto al material genético del virus para que pueda ser expresado en células de mamífero. En biología molecular la Luciferasa se usa principalmente como un gen reportero en estudios sobre la regulación de la transcripción y la replicación. En este caso concreto, medir la actividad luminiscente de la luciferasa equivale a medir el nivel de expresión de proteínas virales, simplificando así la cuantificación de la expresión viral. **Ver Laverdure et al., J Virol, adjuntado.**

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

Métodos de biología molecular y clonación estándares. En breve, el gen de la luciferasa de la luciernaga fue introducido en orientación antisentido bajo el control del promotor HIV 3'LTR y el gen de la renilla fue introducido en la posición del envelope (ver figura en 4.c). Se adjunta el artículo científico del grupo que ha generado el OMG donde se describe. **Ver Laverdure et al., J Virol, adjuntado.**

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

SÍ NO

En caso afirmativo:

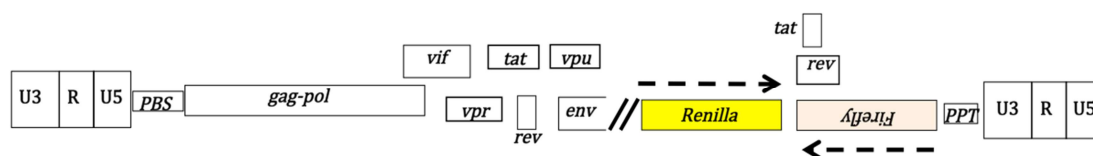
a. Tipo e identidad del vector: vector pNL4.3 Δ env. **Ver Laverdure et al., J Virol, adjuntado.**

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

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 plasmido de expresión Luc(Reni)/AsLuc(Fire)E⁻ se deriva del pNL4.3 y es defectivo al tener truncado el gen que codifica para el envelope de HIV. El plasmido fue provisto por Jean Michel Mesnard, Centre d'études d'agents Pathogènes et Biotechnologies pour la Santé, Montpellier, Francia. La construcción y caracterización del vector están descritas en: Laverdure, Sylvain, Antoine Gross, Charlotte Arpin-André, Isabelle Clerc, Bruno Beaumelle, Benoit Barbeau, and Jean-Michel Mesnard. "HIV-1 antisense transcription is preferentially activated in primary monocyte-derived cells." *Journal of virology* 86, no. 24 (2012): 13785-13789. Esquema de la construcción: (Mapa y secuencia no disponible)



Información adicional, ver Laverdure et al., J Virol, adjuntado.

d. Gama de hospedadores del vector: bacteria

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

i) factores de movilización

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

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

4) Información del inserto:



- a) Dimensiones del inserto, mapa de restricción y secuencia: **ver Laverdure et al., J Virol, adjuntado.**
- b) Origen y función específica de cada parte del inserto: **ver Laverdure et al., J Virol, adjuntado.**
- c) Descripción del método utilizado para la transformación: Las partículas víricas son obtenidas mediante co-transfección lipídica de los plásmidos Luc(Reni)/AsLuc(Fire)E⁻ y un plásmido codificante para la proteína envelope nativa en células humanas 293T. Estos últimos son el plásmido p-CMV-VSV-G, codificando para la proteína de entrada del virus de la stomatitis vesicular, y el p-CMV-X4 codificando para la proteína de entrada de HIV de tropismo CXCR4. 48 horas luego de la transfección, los sobrenadantes de las células conteniendo las partículas víricas son almacenados a -80°C en el correspondiente laboratorio de bioseguridad.
- d) Información sobre los genes estructurales presentes en el inserto: Genes de la luciferasa.
- e) Información sobre los elementos reguladores presentes en el inserto: **No aplica.**
- f) ¿El inserto ha sido secuenciado completamente? Sí.
- g) ¿Contiene secuencias que no son necesarias para la función deseada? **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? No.

En caso afirmativo:

i) número de copias:

ii) localización cromosómica:

iii) secuencias colindantes

iv) ¿La inserción activa o inactiva la expresión de otros genes?:

c) Si se trata de un virus: **Luc(Reni)/AsLuc(Fire)E⁻**

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. **Ver Laverdure et al., J Virol, adjuntado.**

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 procede.
- e) ¿Es diferente el OMG en cuanto a las características nutricionales? En caso afirmativo, especifíquese: No
- f) Marcadores específicos del OMG: No procede.

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

El OMG es estable en cultivos celulares. De todas formas existe una probabilidad baja de pérdida del inserto durante el proceso de replicación celular.

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

Nula. El inserto no tiene capacidad autónoma de transferirse.

5) Descripción de métodos de identificación y aislamiento empleados.

- a) Técnicas utilizadas para la identificación del OMG: técnicas de biología molecular: detección de luciferasa, detección de genoma viral mediante qPCR, etc.
- b) Técnicas empleadas para aislar el OMG en el medio ambiente: No procede.

VII. DESCRIPCIÓN DE LAS OPERACIONES

1) Naturaleza de las operaciones:

- a) Enseñanza
- b) Investigación
- c) Desarrollo



2) Volumen o cantidad de OMG a utilizar:

- a) Volumen máximo en el caso de microorganismos: < 1.0L / día.
- b) Número de plantas: No procede.
- c) Número de animales: No procede.

3) 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).

Tiempo indefinido.

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

Introducción de material genético viral para expresión y producción de partículas virales no replicativas del VIH a través de la transfección de su material genético en células humanas en condiciones normales y bajo el agregado de sustancias químicas y otras. Cuantificación de la actividad viral mediante la medición de la expresión de los genes de la luciferasa.

5) Origen del OMG: indicar si el OMG procede de otro centro o empresa (señalar nombre y ubicación), y si es así, si dicho centro o empresa está registrado conforme a la normativa española y/o europea vigente sobre OMG:

El plásmido que codifica y expresa el OMG fue provisto sin restricciones por Jean Michel Mesnard, Centre d'études d'agents Pathogènes et Biotechnologies pour la Santé, Montpellier, Francia.

6) Información sobre el transporte de los OMG en el caso de que provengan de, o se destinen a otros centros o instalaciones, así como descripción de las medidas adoptadas durante el mismo en virtud de la legislación aplicable¹ (tipo de transporte, manejo y embalaje, documentación de acompañamiento e identificación o/y etiquetado).

El plásmido que codifica para el OMGs se envía en un paquete que contiene viales con DNA plasmídico. El envío se hace a una temperatura de 4°C y se enviaron mediante la compañía FeDEX con la documentación adecuada indicando su contenido biológico y su no peligrosidad.

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

El plásmido que codifica y expresa el OMG es transfectado en células humanas 293T mediante transfección lipídica. Con ayuda de expresión de proteínas del envelope viral

¹ 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.



mediante co-transfección de plásmidos expresando las proteínas de entrada (ver arriba). El plásmido conteniendo la secuencia modificada replica y genera partículas virales defectuosas en el envelope que son empaquetadas junto al envelope donado in trans y excretadas al medio de cultivo celular. 48 a 72 horas luego, los sobrenadantes conteniendo el virus son recolectados y procesados vía filtración y centrifugación. Según el caso, las células se lisan y se evalúa la actividad luciferasa, que equivale a medir la actividad viral.

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

El laboratorio de contención 62.309.02 cuenta con las medidas de acción preventiva propias del nivel 3 de contención biológica, de acuerdo con el anexo IV al Real Decreto 664/1997, de 12 de Mayo, sobre Protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo.

La gestión de residuos se basa en el Manual de Residuos del Parque de Investigación Biomédica de Barcelona (ver Anexo XV) y se lleva a cabo por la empresa especializada CESPA.

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

1) Proximidad a fuentes de peligro potenciales:

Se adjunta croquis de situación (ver Anexo XVI) y plano 1:5.000: (ver Anexo XVII).

2) Descripción de las condiciones climáticas predominantes:

El clima en Barcelona es Mediterráneo, del tipo bajo central. La precipitación mediana anual está alrededor de los 600mm, siendo los valores más elevados cerca de la cordillera del litoral. La estación lluviosa al año, es el otoño, seguida de la primavera, y la seca el verano sobre todo en julio. Con respecto a las temperaturas, los inviernos son suaves, con medias de 9°C a 11°C, las temperaturas son más bajas en las zonas próximas a Besós y a la Zona Franca donde las mínimas son más frías y los veranos calurosos, entre los 23°C y 24°C por término medio, comportando una amplitud térmica anual moderada. Casi nunca hiela en el centro de Barcelona.

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:

El laboratorio donde se manipularán los organismos es el laboratorio de contención 62.309.02, que cuenta con las medidas de acción preventiva propias del nivel 3 de contención biológica, de acuerdo con el anexo IV al Real Decreto 664/1997, de 12 de Mayo, sobre Protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo.

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

1) Adopción de las Buenas Prácticas de Laboratorio:



El personal que trabaja en la zona de utilización confinada de organismos genéticamente modificados dispone de una norma de prevención (NP-05.2: Manual del laboratorio de Contención 62.309.02 con nivel de seguridad biológica de clase 3), y de una colección de instrucciones básicas de uso del laboratorio de contención. Correspondiendo, respectivamente, a los Anexos:

Anexo III: Manual de Bioseguridad.

Anexo IV: instrucción básica para utilizar el laboratorio de contención 62.309.02.

Anexo V: Instrucción básica para entrar y salir del laboratorio de contención 62.309.02.

Anexo VI: instrucción básica para actuar en emergencias en el laboratorio de contención 62.309.02.

2) Formación del personal adscrito:

El edificio Parc de Recerca Biomèdica de Barcelona dispone de un Plan de autoprotección. El responsable de su elaboración e implantación es el Consorci Parc de Recerca Biomèdica de Barcelona, como titular del edificio. Desde el año 2007, se difunden dos veces al año, con motivo del simulacro de emergencia y en el período vacacional de verano, unas normas básicas de autoprotección. También están disponibles en la intranet de la Universidad. Se adjuntan como Anexo:

Anexo XII: Informe de análisis de los riesgos y de las condiciones de protección del laboratorio de nivel 3 de contención biológica ubicado en el edificio PRBB (Barcelona).

3) Programas de limpieza/desinfección/descontaminación:

El personal que trabaja en la zona de utilización confinada de organismos genéticamente modificados dispone de una norma de prevención (NP-05.2: Manual del laboratorio de Contención 62.309.02 con nivel de seguridad biológica de clase 3), que contiene subapartados específicos con el procedimiento de limpieza de los principales equipos de trabajo.

Anexo III: Manual de Bioseguridad (apartado 4.5.2.7.6: pautas específicas de actuación con equipos de trabajo).

4) Programas de mantenimiento de aparatos para el confinamiento:

La Universitat Pompeu Fabra tiene repartidos el mantenimiento de las salas de contención biológica y el resto de laboratorios de la forma siguiente:

El mantenimiento de las instalaciones troncales, electricidad, climatización (incluidos filtros Hepa), datos, detección de incendios, agua, desguaces, etc. lo tiene delegado al gestor del edificio Parque de Investigación Biomédica de Barcelona (PRBB) al formar parte del edificio, pagando este servicio onjuntamente con el alquiler. El PRBB tiene contratado para este trabajo a la empresa Dalkia (antes Agefred).

El mantenimiento del equipamiento científico está contratado a la empresa TBS, complementado con los contratos de mantenimiento específicos del equipamiento especial (Matachana y Telsar), con los fabricantes del equipo.

5) Programas de inspección y control del confinamiento:



Estudio inicial de comprobación de la estanqueidad del laboratorio de contención (Anexo XIII-A / B) i seguimiento periódico y certificado de la eficacia de los filtros HEPA de las cabinas de bioseguridad (Anexo XIV).

X.- GESTION E INACTIVACIÓN DE RESIDUOS

1) Encargado de la gestión de residuos:

Gestión interna:	SÍ	<input type="checkbox"/>	NO	<input checked="" type="checkbox"/>
Gestión por una empresa externa:	SÍ	<input checked="" type="checkbox"/>	NO	<input type="checkbox"/>

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

Cespa Gestión de Residuos, S.A.

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

Los residuos infecciosos y no infecciosos generados en el laboratorio de contención son residuos sanitarios específicos del grupo III.

Para la eliminación de residuos líquidos, mediante decantación, y de pequeños residuos sólidos que han estado en contacto con material infeccioso, es necesario:

- Decantar los residuos en el recipiente de plástico autoclavable, ubicado en el interior de las cabinas de seguridad biológica.
- Inactivar el contenido con Perasafe al 1%.
- Introducir las pipetas Pasteur o calibradas, puntas de pipeta, tubos Eppendorf o tubos Sarsted y demás material pequeño en los recipientes de decantación de las cabinas.

Las pipetas largas deberán lavarse (aspirante y liberando) con la dilución de Perasafe, como mínimo dos veces antes de ser descartadas dentro del recipiente.

Los tubos pequeños, después de eliminar el líquido de su interior, se introducirán abiertos en el recipiente de decantación.

Este material se dejará inactivar durante 8 h dentro de la cabina.

- No superar con los residuos sólidos el nivel de líquido que hay dentro del recipiente de decantación.
- Sustituir el recipiente de decantación cuando se llene en dos tercios de su capacidad.
- Cerrar el recipiente y autoclavarlo.

El material plástico de mayor volumen se eliminará en función de su estanqueidad. Las placas y frascos se descontaminarán poniendo Perasafe al 1% en los pozos de las placas y los frascos, y dejándoles un mínimo de 8 horas en la cabina u otros recipientes que por sí mismos cierren herméticamente. Todos los contenedores de residuos deben estar rotulados



con el nombre del usuario, contenido y fecha. Al día siguiente habrá que tirar el material al contenedor específico de residuos sólidos (negro con tapa amarilla).

Los objetos punzantes y/o cortantes se utilizarán únicamente en los casos en que sea estrictamente necesario, y tendrán recipientes especiales situados en el interior de las cabinas (amarillo con tapa roja).

Los contenedores específicos se cerrarán y se autoclavarán.

Los papeles de pipetas u otros papeles no contaminados se depositarán en la papelera, que contendrá una doble bolsa, la externa de autoclave y la interna de residuos urbanos. Nunca se llenará más de la mitad de su capacidad, para que puedan ser manipuladas con seguridad. Ambas bolsas tendrán que cerrarse antes de autoclavarlas, minimizando su manipulación, y poner cinta indicadora de esterilización en su exterior.

Todo el material sólido o líquido de rechazo, aunque ya no sea estrictamente infeccioso, debe salir de la zona de contención convenientemente autoclavado.

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

1) Condiciones en las que podría producirse un accidente:

La causa más probable es por derramamiento de un cultivo que contenga el OMG. Si éste se produce en el interior de la cabina se deben seguir las recomendaciones previstas en el protocolo de trabajo en cabina. Si se produjera fuera de la cabina se deben de seguir las recomendaciones de seguridad del protocolo de trabajo de la P3.

En otro tipo de accidentes que se puedan producir, como por ejemplo un incendio en el interior de la sala de cultivos, el OMG no tendría ningún efecto en la salud humana o el medio ambiente ya que no se liberaría al exterior sino que quedaría destruido.

2) Equipamiento de seguridad (especifíquese):

La zona de utilización confinada de organismos genéticamente modificados dispone de un botiquín portátil de primeros auxilios, dotados de acuerdo a lo establecido en el anexo VI del Real Decreto 486/1997, de 14 de Abril, sobre disposiciones mínimas de Seguridad y Salud en los Lugares de Trabajo.

3) Descripción de la información suministrada a los trabajadores:

El personal que trabaja en la zona de utilización confinada de organismos genéticamente modificados dispone de una norma de prevención (NP-05.2: Manual del laboratorio de Contención 62.309.02 con nivel de seguridad biológica de clase 3), que contiene un capítulo específico sobre medidas de emergencia donde se detallan; protocolo de actuación en caso de vertido de agentes biológicos, protocolo de actuación en caso de contacto accidental y protocolo de gestión interna y de notificación de accidentes e incidentes, así como una instrucción básica de actuación.

Anexo III: Manual de Bioseguridad.



Anexo VI: instrucción básica para actuar en emergencias en el laboratorio de contención 62.309.02.

4) Planes de emergencia:

El protocolo de actuación en caso de contacto accidental se ha coordinado con el Servicio de Prevención de Riesgos Laborales del Parc de Salut Mar de Barcelona, y con los servicios asistenciales de la Mutua de Accidentes de Trabajo y Enfermedades Profesionales, a la que la UPF se ha asociado. Está detallado en la norma de prevención (NP-05.2: Manual del laboratorio de Contención 62.309.02 con nivel de seguridad biológica de clase 3), apartado 4.5.2.7.9: Medidas de emergencia.

Anexo III: Manual de Bioseguridad.



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

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: Universitat Pompeu Fabra (UPF)
Dirección postal: Dr. Aiguader, 88 – 08003 Barcelona

2) Representante legal de la entidad

Nombre y apellidos: Jaume Casals Pons
NIF: 37317474-C
Cargo: Rector
Tel: 93 542 20 00
Fax: 93 542 20 02
Correo electrónico: rector@upf.edu

3) Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos: Andreas Franz Meyerhans
NIF: Y-0810274-K
Cargo: Investigador Principal del Grupo de Biología de la Infección, Departamento de Ciencias Experimentales y de la Salud, Universitat Pompeu Fabra
Tel: 93 316 08 31
Fax: 93 316 09 01
Correo electrónico: andreas.meyerhans@upf.edu

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

Nombre y apellidos: Andreas Franz Meyerhans
NIF: Y-0810274-K
Cargo: Responsable del laboratorio de contención 62.309.02 con nivel de seguridad biológica de nivel 3
Tel: 93 316 08 31
Fax: 93 316 09 01
Correo electrónico: andreas.meyerhans@upf.edu



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

El responsable de bioseguridad de la instalación actúa como persona de contacto.

II. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD.

1. Objetivo de la actividad:

Introducción de material genético viral para expresión y producción de partículas virales no replicativas del VIH a través de la transfección de su material genético en células humanas en condiciones normales y bajo el agregado de sustancias químicas y otras. Cuantificación de la actividad viral mediante la medición de la expresión de los genes de la luciferasa.

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).

Indeterminada.

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. Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH)
- b) Organismo donante. Renilla reniformis y Photinus pyralis.
- c) Inserto. Secuencias correspondientes a los genes de la luciferasa.
- d) Vector. plásmido pNL4.3, **ver documento A y Laverdure et al., J Virol, adjuntado**, para información detallada.
- e) Organismo modificado genéticamente resultante. Virus del VIH expresando el gen de la luciferasa.
- f) Efectos para la salud humana y la sanidad animal y vegetal. El OMG no es infeccioso para las personas al ser defectivo en su replicación (Ver Documento A)
- g) Efectos para el medio ambiente. No procede.

Ver Laverdure et al., J Virol, adjuntado, para información detallada.

2. Clasificación inicial del organismo modificado genéticamente:

Para establecer esta primera valoración se tendrá en cuenta lo dispuesto en el artículo 4 de la Directiva 2009/41/CE y, en caso de ser aplicable, otros sistemas de clasificación nacionales e internacionales existentes (por ejemplo, la Directiva 2000/54/CE sobre protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo).

Tipo 1
Tipo 2



Tipo 3
Tipo 4

3. Probabilidad de que se produzcan efectos nocivos y gravedad de los mismos, en función de: Desarrollar con la extensión que proceda, siguiendo el orden propuesto.

a) Características de la/s actividad/es (medidas de confinamiento y control, y exposición humana y ambiental): las actividades se desarrollan en el correspondiente laboratorio de seguridad de nivel 3 de acuerdo a los protocolos establecidos (ver apartado 5).

b) Concentración y escala utilizadas: el título del OMG varía de acuerdo a la eficiencia de producción. Normalmente se obtiene un título de 10^6 - 10^7 TCID₅₀/mL de sobrenadante.

c) Condiciones de cultivo (se tendrá en cuenta el entorno potencialmente expuesto, la presencia de especies susceptibles, supervivencia del OMG y efectos sobre el entorno físico):

Los cultivos se desarrollan en el correspondiente laboratorio de seguridad de nivel 3 de acuerdo a los protocolos establecidos (ver apartado 5). La causa más probable es por derramamiento de un cultivo que contenga el OMG. Si éste se produce en el interior de la cabina se deben seguir las recomendaciones previstas en el protocolo de trabajo en cabina. Si se produjera fuera de la cabina se deben de seguir las recomendaciones de seguridad del protocolo de trabajo del P3.

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

Laboratorio de contención con nivel de Seguridad biológica de clase 3: laboratorio preparado para trabajar con agentes biológicos en un nivel 3 de contención física. El laboratorio objeto de autorización se dedica al tratamiento de muestras clínicas y a la investigación en virología en general, actividades que requieren ciertas limitaciones de trabajo.

Según establece el RD 664/1997 para este tipo de laboratorios, cumple con las condiciones siguientes: filtración del aire extraído del espacio de trabajo con filtros HEPA, acceso restringido al personal autorizado, procedimientos de desinfección específicos, control eficiente de vectores, superficies impermeables al agua y de fácil limpieza y resistente a ácidos, alcalinos y disolventes y desinfectantes, almacén de seguridad para agentes biológicos, cabinas de seguridad biológica. También dispone de una autoclave propia para poder esterilizar todo el material que sale de la sala.

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.)

El laboratorio de contención 62.309.02 se encuentra en el tercer piso del Parc de Recerca Biomèdica de Barcelona. Este edificio, ubicado en el barrio de la Barceloneta, está en el Paseo Marítimo, delante del mar. A su izquierda se encuentra el Hospital del



Mar. Hay diversos colegios en la zona, así como equipamientos municipales (mercados, gimnasios...).

El clima en Barcelona es Mediterráneo, del tipo bajo central. La precipitación mediana anual está alrededor de los 600mm, siendo los valores más elevados cerca de la cordillera del litoral. La estación lluviosa al año, es el otoño, seguida de la primavera, y la seca el verano sobre todo en julio. Con respecto a las temperaturas, los inviernos son suaves, con medias de 9°C a 11°C, las temperaturas son más bajas en las zonas próximas a Besós y a la Zona Franca dónde las mínimas son más frías y los veranos calurosos, entre los 23°C y 24°C por término medio, comportando una amplitud térmica anual moderada. Casi nunca hiela en el centro de Barcelona. La humedad relativa de la ciudad suele estar entre el 60 al 75%.

b) Condiciones en las que podría producirse un accidente.

La causa más probable es por derramamiento de un cultivo que contenga el OMG. Si éste se produce en el interior de la cabina se deben seguir las recomendaciones previstas en el protocolo de trabajo en cabina. Si se produjera fuera de la cabina se deben de seguir las recomendaciones de seguridad del protocolo de trabajo de la P3.

En otro tipo de accidentes que se puedan producir, como por ejemplo un incendio en el interior de la sala de cultivos, el OMG no tendría ningún efecto en la salud humana o el medio ambiente ya que no se liberaría al exterior sino que quedaría destruido.

No se contempla la posibilidad de salida de material contaminado ni la posibilidad de lesión con objeto punzante

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

Sala de cultivos con presión negativa. Doble puerta para acceder a la sala. Sistema de radiación ultra violeta general. Cabinas de flujo laminar. Batas de laboratorio específicas para la sala de cultivos de tipo III. Guantes individuales y de un solo uso.

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

El personal que trabaja en la zona de utilización confinada de organismos genéticamente modificados dispone de una norma de prevención (NP-05.2: Manual del laboratorio de Contención 62.309.02 con nivel de seguridad biológica de clase 3), que contiene un capítulo específico sobre medidas de emergencia donde se detallan; protocolo de actuación en caso de vertido de agentes biológicos, protocolo de actuación en caso de contacto accidental y protocolo de gestión interna y de notificación de accidentes e incidentes, así como una instrucción básica de actuación.

Anexo III: Manual de Bioseguridad.

Anexo VI: instrucción básica para actuar en emergencias en el laboratorio de contención 62.309.02.