



PARTE A

Tipos 2, 3 y 4

DIRECCION GENERAL DE
CALIDAD Y EVALUACION
AMBIENTAL Y MEDIO NATURAL

COMISIÓN NACIONAL DE
BIOSEGURIDAD

**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: Fundación Privada Instituto de Investigación del Sida Caixa
Dirección postal: Hospital Germans Trias i Pujol. Ctra. del Canyet, S/N. 2ª Planta Edificio Maternal.
08916 Badalona (Barcelona)
CIF: G-60813227

b) Representante legal de la entidad

Nombre y apellidos: Bonaventura Clotet Sala
NIF: 46106081-M
Cargo: Director
Tel: 93 465 63 74
Fax: 93 465 39 68
Correo electrónico: bclotet@irsicaixa.es

c) Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos: Javier Martinez Picado // Nuria Izquierdo Useros
NIF: 46535782-C // 01933549-P
Cargo: Investigador Principal // Investigador Asociado
Tel: 93 465 63 74
Fax: 93 465 39 68
Correo electrónico: jmpicado@irsicaixa.es // nizquierdo@irsicaixa.es



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

Nombre y apellidos: Julià Blanco Arbués

NIF: 37326144L

Cargo: Responsable de Riesgos Laborales

Tel: 93 465 63 74

Fax: 93 465 39 68

Correo electrónico: jblanco@irsicaixa.es

e) Indicar cuál de los anteriores actuará 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

El proyecto con el que se financiará esta investigación es el SAF2016-80033-R, cuyos Investigadores Principales son el Dr. Javier Martínez Picado y la Dra. Nuria Izquierdo Useros y que lleva por título "Nuevas estrategias terapéuticas para bloquear la interacción entre virus envueltos y células mieloides: combatiendo el establecimiento de la infección".

- 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:

Fecha de comunicación: octubre 2016

b) Número de referencia del expediente:

En trámite

II. **DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD:**

- 1) Finalidad de la actividad:

Esta actividad tiene por objeto testar distintos agentes que estamos generando (anticuerpos monoclonales, nanogeles y nanopartículas) para verificar su efectividad para bloquear la interacción del receptor celular Siglec-1 expresado en



células dendríticas con el Virus de la Inmunodeficiencia Humana de Tipo 1 (VIH-1). Con estos experimentos pretendemos identificar nuevos agentes terapéuticos que tengan potencial aplicación para disminuir la diseminación viral dentro del organismo mediada por células dendríticas.

Para alcanzar nuestro objetivo utilizaremos el aislado de laboratorio pNL4-3, cuyo plásmido hemos obtenido a través del repositorio del NIH. El plásmido se transfectará en células HEK-293 T mediante la técnica de fosfato cálcico. La transfección será transitoria y se procederá a la destrucción de las células 48 horas post transfección. El stock viral generado se cuantificará por ELISA midiendo la proteína viral p24 y se congelará para almacenarlo. El stock viral se empleará en ensayos de unión pulsando células dendríticas a 4°C y de captura viral pulsando dichas células a 37°C durante 4 horas. Tras la incubación, las células dendríticas pulsadas se lavarán, lisarán y se medirá el contenido de proteína p24 del VIH-1 asociado al lisado celular utilizando un ELISA. Por tanto, los ensayos planteados a tiempos tan cortos no implican la infección de las células dendríticas expuestas al virus, y solo miden las interacciones previas del virus en ausencia de replicación viral.

Todo el procedimiento se realizará en el laboratorio de bioseguridad de nivel 3 de la Fundación IrsiCaixa, habilitado para manipular virus infecciosos con el nivel de seguridad requerido, cumpliendo con las directrices del real decreto RD664/1997 sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo.

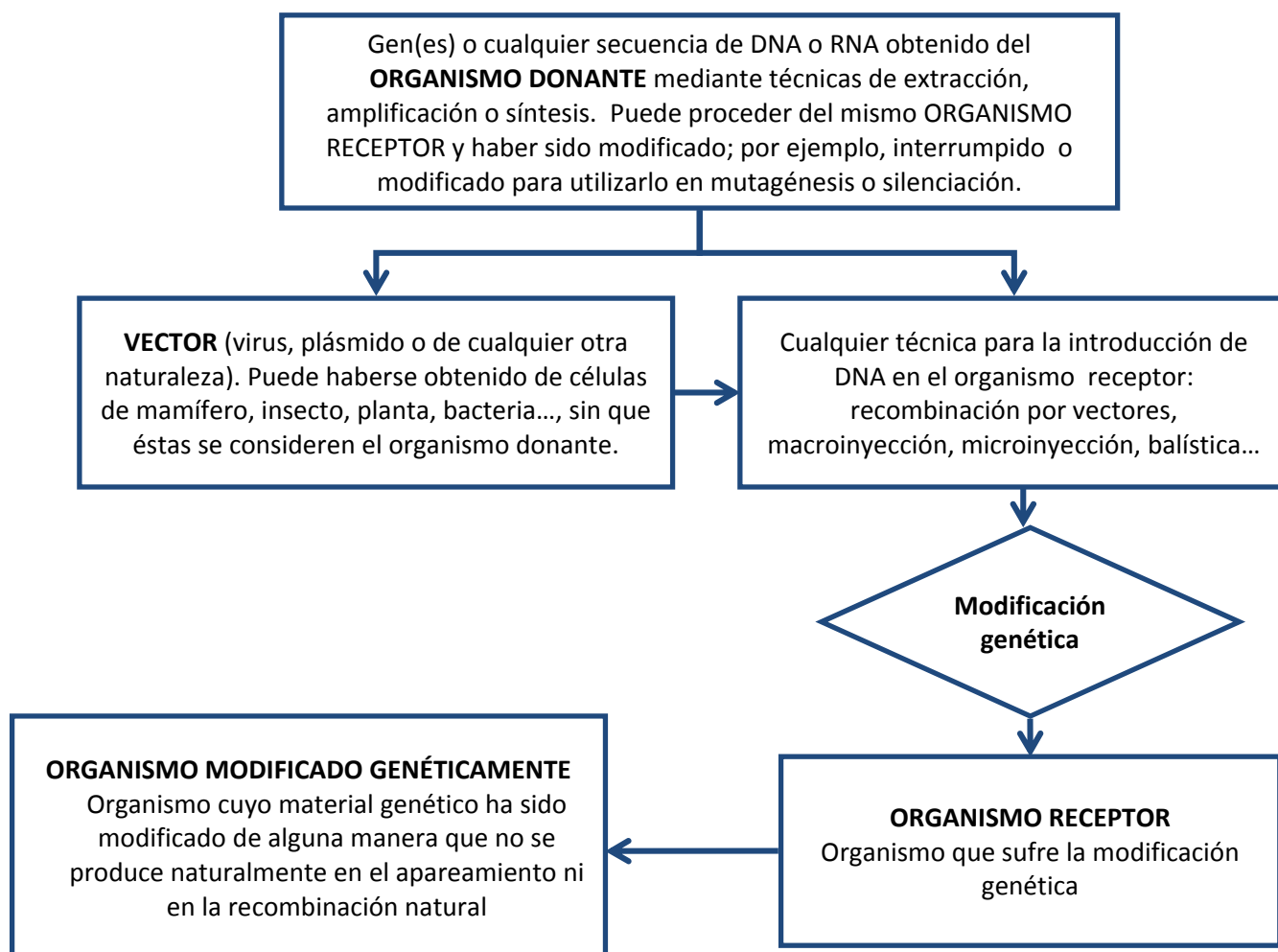
2) Clasificación de la actividad

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 de Tipo I (VIH-1)

Taxonomía:

Familia: Retroviridae

Género: Lentivirus

Especie: Virus de la Inmunodeficiencia Humana de Tipo I (VIH-1)

Nombre común: VIH-1



2) Descripción de los métodos de identificación y aislamiento.

a) Técnicas de aislamiento:

El Virus de la Inmunodeficiencia Humana de Tipo I (VIH-1) puede aislarse a partir del crecimiento de linfocitos T CD4 pertenecientes a individuos infectados por dicho virus, que han de ser aislados de su sangre periférica, estimulados con PHA e IL2 y cultivados en incubadores a 37°C y un 5% de CO2 durante al menos una semana para permitir la obtención de virus acumulados en el sobrenadante de dichos cultivos, añadiendo para ello células estimuladas T CD4 donadoras que puedan infectarse para mantener el crecimiento viral.

b) Técnicas de identificación:

En los laboratorios de investigación se suele identificar y cuantificar la cantidad de partículas de VIH-1 acumuladas en los sobrenadantes que provienen del cultivo de células de personas infectadas utilizando la técnica de ELISA que detecta la proteína viral estructural p24. La detección del virus en fluidos biológicos de personas infectadas requiere el empleo de la técnica diagnóstica de carga viral.

c) Marcadores genéticos:

Los 9 genes que componen el genoma del VIH-1 pueden utilizarse como marcadores genéticos y amplificarse por técnicas de biología molecular tales como la PCR, existiendo primers específicos para cada gen (gag, pol, env: tat, Rev, Vif, Nef y Vpr). Dichos genes codifican para componentes de la partícula vírica (genes estructurales) y para elementos que regulan la expresión de los mismos (genes reguladores).

d) Marcadores fenotípicos:

El VIH-1 puede infectar a linfocitos T CD4 que expresan el correceptor CCR5, siendo en ese caso virus R5 trópicos, o a linfocitos T CD4 que expresan el correceptor CXCR4, en cuyo caso se consideran virus X4 trópicos. También existen algunas variantes del VIH-1 que muestran tropismo dual y pueden utilizar indistintamente ambos correceptores.

e) Estabilidad genética:

La estabilidad genética del VIH-1 es reducida ya que se trata de un virus que requiere la retrotranscripción de su material genético de ARN a ADN para integrarse en el genoma de la célula que infecta. La transcriptasa inversa viral es un enzima que introduce una alta tasa de mutaciones cada vez que un virión se retrotranscribe, dando lugar a la aparición de mutaciones que generan la aparición de cuasiespecies virales según se van produciendo las nuevas infecciones.

3) Posibles modificaciones genéticas anteriores:

Las derivadas de la evolución viral tras procesos continuados de replicación en el interior de las personas infectadas.

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-1 es un patógeno para el ser humano.

- 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.):

El VIH-1 se considera un patógeno que pertenece al grupo de riesgo de nivel de seguridad 3.

a) ¿De qué modo se manifiesta la patogenicidad?

El Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1 (VIH-1) es el agente causante del SIDA (acrónimo de síndrome de inmunodeficiencia adquirida). Se dice que alguien padece de SIDA cuando su organismo, debido a la inmunodeficiencia provocada por el VIH, no es capaz de ofrecer una respuesta inmune adecuada contra las infecciones.

Cabe destacar la diferencia entre estar infectado por el VIH y sufrir SIDA. Una persona infectada por el VIH es seropositiva y pasaría a desarrollar un cuadro de SIDA cuando su nivel de linfocitos T CD4, células que ataca el virus, desciende por debajo de 200 células por microlitro de sangre.

El VIH se transmite a través de los siguientes fluidos corporales: sangre, semen, secreciones vaginales y leche materna.

Actualmente existen medicamentos, llamados antirretrovirales, que inhiben enzimas esenciales, la transcriptasa reversa, retrotranscriptasa, integrasa o la proteasa virales, bloqueando la replicación del VIH. De esta manera se frena el progreso de la enfermedad y la aparición de infecciones oportunistas, así que aunque el sida no puede propiamente curarse, sí puede convertirse con el uso continuado de esos fármacos en una enfermedad crónica compatible con una vida larga y casi normal.

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

No existen cepas no virulentas del VIH-1 en estado natural

SI NO

Porqué:

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

No aplica a nuestro caso.

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

Nuestro laboratorio cuenta con más de 15 años de experiencia en el estudio de este retrovirus. En nuestro caso el VIH-1 se manipula en un laboratorio de bioseguridad de nivel 3, donde todo el personal ha recibido la formación necesaria y adquirido amplia experiencia para desarrollar su labor en dichas instalaciones, cumpliendo con las



directrices del real decreto RD664/1997 sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo.

9) Información sobre la capacidad de supervivencia y de reproducción en el medio ambiente:

a) ¿El organismo receptor es capaz de sobrevivir fuera de las condiciones de cultivo?

El VIH-1 puede sobrevivir por periodos de tiempo que dependerán altamente de la concentración de virus que se encuentre en la muestra y las condiciones medioambientales (temperatura y humedad). En cuanto el virus se seca pierde rápidamente su capacidad infectiva (que disminuye varios logaritmos) aunque algunos estudios han demostrado infectividad de muestras altamente concentradas (virus crecidos en laboratorio) hasta una semana después de secarse. De todas formas es necesario que el virus encuentre un linfocito T CD4 con el correceptor adecuado a su tropismo para que pueda volver a infectar en un periodo muy limitado de tiempo.

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 | |

El VIH-1 es capaz de integrarse como provirus en los linfocitos T CD4 a los que infecta.

c) Otros factores que afectan la capacidad de supervivencia:

Los ya descritos.

d) Posibles nichos ecológicos:

El VIH-1 se transmite a través de los siguientes fluidos corporales: sangre, semen, secreciones vaginales y leche materna. El periodo que el virus permanece en dichos fluidos de forma infecciosa dependerá de la concentración viral.

e) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:

El VIH-1 tarda un día aproximadamente desde que infecta un linfocito T CD4 hasta que comienza a producir nuevas partículas virales.

10) Efectos posibles sobre el medio ambiente:

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

Ninguno



b) Interacciones con otros organismos y efectos sobre éstos:

Ninguno

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

El VIH-1 se distribuye por todo el mundo y se encuentra en las personas infectadas por dicho virus.

12) Hábitat natural del organismo:

Células del sistema inmunitario de las personas infectadas por VIH-1.

IV. **INFORMACIÓN RELATIVA AL ORGANISMO DONANTE**

1) Nombre científico: Virus de la Inmunodeficiencia Humana de Tipo I (VIH-1)

Taxonomía:

Familia: Retroviridae

Género: Lentivirus

Especie: Virus de la Inmunodeficiencia Humana de Tipo I (VIH-1)

Nombre común: VIH-1

2) Tipo de material genético obtenido del organismo donante:

Plásmido pNL4-3 del NIH Repository Reagents ([www. aidsreagent.org](http://www.aidsreagent.org)) con número de catálogo 114.

3) Método de obtención:

a) Extracción

b) PCR

c) Síntesis *in vitro*



El fragmento 5´SmaI-EcoRI del DNA proviral NY5 (5´ SmaI en secuencias flanqueantes hasta 3´ EcoRI) y el fragmento 3´ proviral LAV (5´ EcoRI hasta 3´ NruI en secuencias flanqueantes) se clonaron en el plásmido pUC18 en el sitio de restricción PvuII después de eliminar los lugares poli-linker.

Referencia: Adachi A, Gendelman HE, Koenig S, Folks T, Willey R, Rabson A, Martin MA. Production of acquired immunodeficiency syndrome-associated retrovirus in human and nonhuman cells transfected with an infectious molecular clone. *J Virol* **59**:284-291, 1986.

4) Función del gen/genes en el organismo donante

Dirigir la síntesis de virus VIH-1 completo con capacidad replicativa e infecciosa.

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 | <input checked="" type="checkbox"/> |
| ii) | animales | <input type="checkbox"/> |
| iii) | plantas | <input type="checkbox"/> |

b) ¿De que modo se manifiesta la patogenicidad?

El Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1 (VIH-1) es el agente causante del SIDA (acrónimo de síndrome de inmunodeficiencia adquirida). Se dice que alguien padece de SIDA cuando su organismo, debido a la inmunodeficiencia provocada por el VIH, no es capaz de ofrecer una respuesta inmune adecuada contra las infecciones.

Cabe destacar la diferencia entre estar infectado por el VIH y sufrir SIDA. Una persona infectada por el VIH es seropositiva y pasaría a desarrollar un cuadro de SIDA cuando su nivel de linfocitos T CD4, células que ataca el virus, desciende por debajo de 200 células por microlitro de sangre.

El VIH se transmite a través de los siguientes fluidos corporales: sangre, semen, secreciones vaginales y leche materna.

Actualmente existen medicamentos, llamados antirretrovirales, que inhiben enzimas esenciales, la transcriptasa reversa, retrotranscriptasa, integrasa o la proteasa virales, bloqueando la replicación del VIH. De esta manera se frena el progreso de la enfermedad y la aparición de infecciones oportunistas, así que aunque el sida no puede propiamente curarse, sí puede convertirse con el uso continuado de esos fármacos en una enfermedad crónica compatible con una vida larga y casi normal.

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

Sí, ya que la secuencia codifica para el genoma completo del VH-1, es replicativo y puede infectar células humanas que presenten el receptor CD4 y el correceptor CXCR4.



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

No, ya que el VIH-1 es un virus que se encuentra en las personas infectadas y el VIH-1 NL4.3 receptor es un virus adaptado y diseñado en el laboratorio que se ha construido a partir de dos tipos de virus VIH-1 diferentes y que sólo se utiliza para investigación.

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:

Generación de un plásmido pNL4-3 cuya transfección transitoria en células HEK 293T produce la síntesis de partículas virales VIH-1 replicativas e infecciosas.

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

El fragmento 5´SmaI-EcoRI del DNA proviral NY5 (5´ SmaI en secuencias flanqueantes hasta 3´ EcoRI) y el fragmento 3´ proviral LAV (5´ EcoRI hasta 3´ NruI en secuencias flanqueantes) se clonaron en el plásmido pUC18 en el sitio de restricción PvuII después de eliminar los lugares poli-linker.

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

SÍ NO

En caso afirmativo:

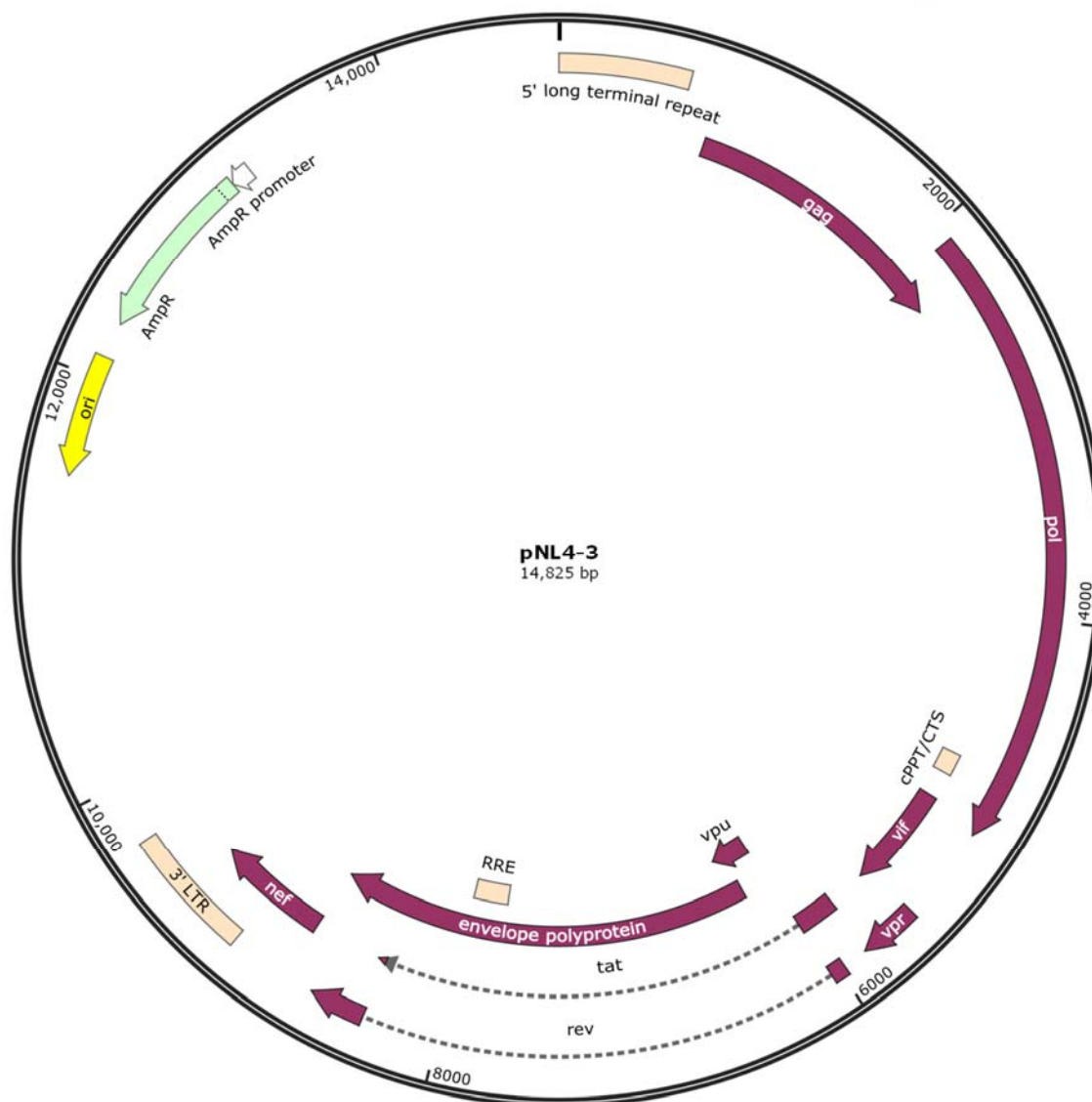
a. Tipo e identidad del vector:

Plásmido pNL4-3 del NIH Repository Reagents (www.aidsreagent.org) con número de catálogo 114.

b. Si se trata de un virus:

Es defectivo en replicación SÍ NO

c. Aportar mapa de restricción del vector (funciones y posición de genes estructurales, genes marcadores, elementos reguladores, sitios de inserción, origen de replicación, origen, función y secuencia de otros elementos presentes en el vector):



d. Gama de hospedadores del vector:
El vector contiene un genoma viral de VIH-1 completo que tiene como hospedador al hombre.

e. Características de la movilidad del vector:

i) factores de movilización

Ninguno que sepamos

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



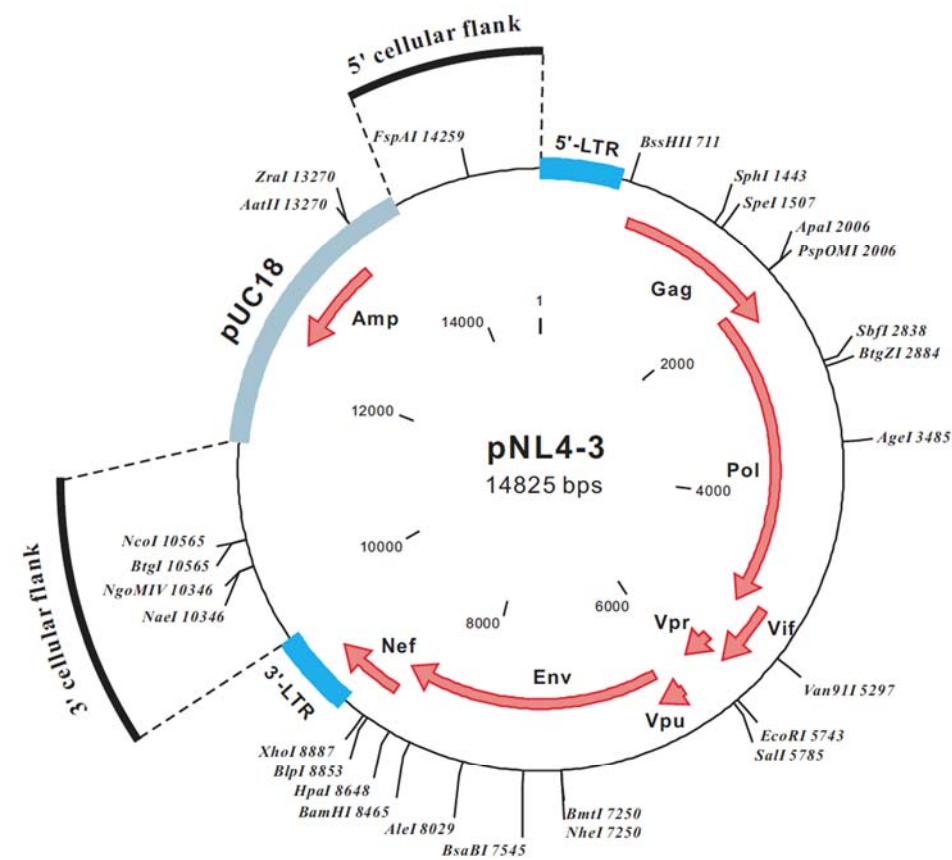
iii) ¿Puede el vector transferir marcadores de resistencia a otros organismos?

La utilización prevista del vector no implica la transferencia de marcadores de resistencia.

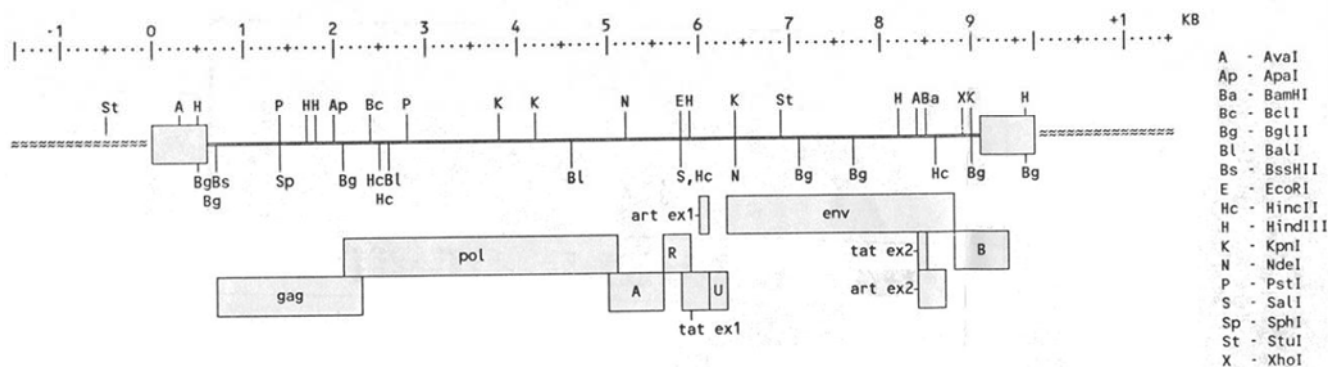
5) Información del inserto:

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

Dimensiones inserto y Mapa de restricción:



ORGANIZATION AND RESTRICTION SITES OF pNL4-3 PROVIRAL GENOME





Secuencia:

TGGAAGGGCTAATTTGGTCCCAAAAAAGACAAGAGATCCTTGATCTGTGGATCTACCACACACAAGGCTACTTCCCTGATTGGCAG
AACTACACACCAGGGCCAGGGATCAGATATCCACTGACCTTTGGATGGTGTCTTCAAGTTAGTACCAGTTGAACCAGAGCAAGTAGA
AGAGGCCAATGAAGGAGAGAACAACAGCTTGTACACCCTATGAGCCAGCATGGGATGGAGGACCCGGAGGGGAGAAGTATTAGTGT
GGAAGTTTGACAGCCTCCTAGCATTTCGTACATGGCCCCGAGAGCTGCATCCGGAGTACTACAAAGACTGCTGACATCGAGCTTTC
TACAAGGGACTTTCCGCTGGGGACTTTCCAGGGAGGTGTGGCCTGGGCGGGACTGGGGAGTGGCGAGCCCTCAGATGCTACATATA
AGCAGCTGCTTTTTGCTGTACTGGGTCTCTCTGGTTAGACCAGATCTGAGCCTGGGAGCTCTCTGGCTAACTAGGGAACCCACTG
CTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCCTTGAGTGTCAAAGTAGTGTGTGCCCGTCTGTTGTGTGACTCTGGTAACTAGAGATCCCTCAG
ACCTTTTTAGTCAGTGTGGAAAATCTCTAGCAGTGGCGCCCCGAACAGGGACTTGAAAGCGAAAAGTAAAGCCAGAGGAGATCTCTCG
ACGCAGGACTCGGCTTGCTGAAGCGCGCACGGCAAGAGGCGAGGGGCGGGGACTGGTGTAGTACGCCAAAAATTTTACTAGCGGAG
GCTAGAAGGAGAGAGATGGGTGCGAGAGCGTCCGTATTAAGCGGGGAGAATTAGATAAATGGGAAAAAATTCGGTTAAGGCCAGG
GGGAAAGAAAACAATATAAACTAAAACATATAGTATGGGCAAGCAGGGAGCTAGAACGATTTCGAGTTAATCCTGGCCTTTTAGAGA
CATCAGAAGGCTGTAGACAATACTGGGACAGCTACAACCATCCCTTCAGACAGGATCAGAAGAAGCTTAGATCATTATATAATACA
ATAGCAGTCCCTCTATTGTGTGCATCAAAGGATAGATGTAAGACACCAAGGAAGCCTTAGATAAGATAGAGGAAGAGCAAAAACA
AAGTAAGAAAAAGGCACAGCAAGCAGCAGCTGACACAGGAAAACAACAGCCAGGTCAGCCAAAAATTACCCTATAGTGCAGAACCTCC
AGGGGCAATGGTACATCAGGCCATATCACCTAGAACTTTAAATGCATGGGTAAAAGTAGTAGAAGAGAAGGCTTTTCAGCCAGAA
GTAATACCCATGTTTTTCAGCATTATCAGAAGGAGCCACCCCAAGATTTAAATACCATGCTAAAACAGTGGGGGGACATCAAGC
AGCCATGCAAATGTTAAAAGAGACCATCAATGAGGAAGCTGCAGAATGGGATAGATTGCATCCAGTGCATGCAGGGCCTATTGCAC
CAGGCCAGATGAGAGAACCAAGGGGAAGTGCATAGCAGGAAGTACTAGTACCCTTCAGGAACAAATAGGATGGATGACACATAAT
CCACCTATCCCAGTAGGAGAAATCTATAAAAGATGGATAATCCTGGGATTTAAATAAAATAGTAAGAATGTATAGCCCTACCAGCAT
TCTGGACATAAGACAAGGACCAAGGAACCTTTAGAGACTATGTAGACCGATTCTATAAACTCTAAGAGCCGAGCAAGCTTCAC
AAGAGGTAAAAAATTTGGATGACAGAAACCTTGTGGTCCAAAATGCGAACCCAGATTGTAAGACTATTTTAAAAGCATTGGGACCA
GGAGCGACACTAGAAGAAATGATGACAGCATGTGAGGAGTGGGGGGACCCGGCCATAAAGCAAGAGTTTTGGCTGAAGCAATGAG
CCAAGTAACAAATCCAGCTACCATAATGATACAGAAAGGCAATTTTAGGAACCAAGAAAGACTGTTAAGTGTTCATTTGTGGCA
AAGAAGGGCACATAGCCAAAAATTCAGGGCCCCTAGGAAAAAGGGCTGTTGGAAATGTGGAAAGGAAGGACACCAAATGAAAAGAT
TGTACTGAGAGACAGGCTAATTTTTTAGGGAAGATCTGGCCTTCCCACAAGGGAAGGCCAGGGAATTTTCTTCAGAGCAGACCAGA
GCCAACAGCCCCACCAGAAGAGAGCTTCAGGTTTGGGGAAGAGACAACAACCTCCCTCTCAGAAGCAGGAGCCGATAGACAAGGAAC
TGTATCCTTTAGCTTCCCTCAGATCACTCTTTGGCAGCGACCCCTCGTCACAATAAAGATAGGGGGGCAATTAAGGAAGCTCTAT
TAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGAAGAAATGAATTTGCCAGGAAGATGGAAACCAAAAATGATAGGGGGAAATGGAGGT
TTTTACAAAGTAAGCAGTATGATCAGTACTCAGTAAATTCGCGGATATAAAGCTATAGGTACAGTATTAGTAGGACCTACACC
TGTCACATAAATTTGAAGAAATCTGTTGACTCAGATTGGCTGCACCTTTAAATTTTCCATTAGTCTTATTGAGACTGTACCAGTAA
AATTAAGCCAGGAATGGATGGCCCAAAAGTTAAACAATGGCCATTGACAGAAGAAAAAATAAAGCATTAGTAGAAATTTGTACA
GAAATGGAAAAGGAAGGAAAAATTTCAAAAATTTGGGCCTGAAAATCCATAACAATACTCCAGTATTTGCCATAAAGAAAAAGACAG
TACTAAATGGAGAAAAATAGTAGATTTAGAGAACTTAATAAGAGAAGTCAAGATTTCTGGGAAAGTTCAATTAGGAATACCACATC
CTGCAGGGTTAAAACAGAAAAAATCAGTAACAGTACTGGATGTGGGCGATGCATATTTTTTCAGTTCCCTTAGATAAAGACTTCAGG
AAGTATACTGCATTTACCATACTAGTATAAACAATGAGACACCAGGGATTAGATATCAGTACAATGTGCTTCCACAGGGATGGAA
AGGATCACCAGCAATATTCAGTGTAGCATGACAAAATCTTAGAGCCTTTTAGAAAACAAAATCCAGACATAGTCATCTATCAAT
ACATGGATGATTTGTATGTAGGATCTGACTTAGAAATAGGGCAGCATAGAACAATAAGAGGAAGTGCAGACAACATCTGTTGAGG
TGGGGATTTACCACACCAGACAAAAACATCAGAAAGAACCTCCATTCCTTTGGATGGGTTATGAACTCCATCCTGATAAATGGAC
AGTACAGCCTATAGTGTGCCAGAAAAGGACAGCTGGACTGTCAATGACATACAGAAATTAGTGGGAAAAATGAATTGGGCAAGTC
AGATTTATGCAGGGATTAAGTAAGGCAATTTATGTAACCTTCTTAGGGGAACCAAGCACTAACAGAAAGTAGTACCCTAACAGAA
GAAGCAGAGCTAGAACTGGCAGAAAACAGGGAGATTCTAAAAGAACCAGGATCATGGAGTGTATTATGACCCATCAAAAAGACTTAAT
AGCAGAAATACAGAAGCAGGGGCAAGGCCAATGGACATATCAAATTTATCAAGAGCCATTTAAAAATCTGAAAAACAGGAAAAGTATG
CAAGAATGAAGGTGCCACACTAATGATGTGAAACAATTAACAGAGGCAGTACAAAAAATAGCCACAGAAAGCATAGTAATATGG
GGAAAGACTCCTAAATTTAAATTAACCATACAAAAAGGAAACATGGGAAGCATGGTGGACAGAGTATTGGCAAGCCACCTGGATTCC
TGAGTGGGAGTTTGTCAATACCCCTCCCTTAGTGAAGTTATGGTACCAGTTAGAGAAAGAACCCATAATAGGAGCAGAAAATTTCT
ATGTAGATGGGGCAGCCCAATAGGGAACATAAATTAGGAAAAGCAGGATATGTAAGTGCAGAGGAAAGACAAAAAGTTGTCCCCTA
ACGGACACAACAATCAGAAGACTGAGTTACAAGCAATTCATCTAGCTTTGCAGGATTCGGGATTTAGAAGTAAACATAGTGCAGAGA
CTCACAATATGCATTGGGAATCATTCAAGCACAACCAGATAAAGAGTGAATCAGAGTTAGTCAAGTCAAAATAATAGAGCAGTTAATAA
AAAAGGAAAAAGTCTACCTGGCATGGGTACCAGCACACAAAGGAATTTGGAGGAAATGAACAAGTAGATAAATTTGGTCAAGTGTGGAA
ATCAGGAAAGTACTATTTTTAGATGGAATAGATAAGGCCCAAGAAAGCAATGAGAAATATCACAGTAATTTGGAGAGCAATGGCTAG
TGATTTTTAACCTACCCTGTAGTAGCAAAAAGAAATAGTAGCCAGCTGTGATAAATGTGAGCTAAAAGGGGAAGCCATGCATGGAC
AAGTAGACTGTAGCCAGGAATATGGCAGCTAGATTGTACACATTTAGAAGGAAAAGTTATCTTGGTAGCAGTTTCATGTAGCCAGT
GGATATATAGAAGCAGAAGTAATTCAGCAGAGACAGGGCAAGAAACAGCATACTTCCCTCTTAAAATTAGCAGGAAGATGGCCAGT
AAAAACAGTACATACAGACAATGGCAGCAATTTACCAGTACTACAGTTAAGGCCCGCTGTTGGTGGGCGGGGATCAAGCAGGAAT
TTGGCATTCCCTACAATCCCCAAAGTCAAGGAGTAATAGAATCTATGAATAAAGAAATTAAGAAAAATTTATAGGACAGGTAAGAGAT



CAGGCTGAACATCTTAAGACAGCAGTACAAATGGCAGTATTTCATCCACAATTTTAAAAGAAAAGGGGGGATTGGGGGGTACAGTGC
AGGGGAAAGAATAGTAGACATAATAGCAACAGACATACAAACCTAAAGAATTACAAAAACAAATTACAAAAATTCAAAATTTTCGGG
TTTATTACAGGGACAGCAGAGATCCAGTTTGGAAAGGACCAGCAAAGCTCCTCTGGAAAGGTGAAGGGGCAGTAGTAATACAAGAT
AATAGTGACATAAAAAGTAGTGCCAAGAAGAAAAGCAAAGATCATCAGGGATTATGGAAAACAGATGGCAGGTGATGATTGTGTGGC
AAGTAGACAGGATGAGGATTAACACATGGAAAAGATTAGTAAAACACCATATGTATATTTCAAGGAAAAGCTAAGGACTGGTTTTAT
AGACATCACTATGAAAGTACTAATCCAAAAATAAGTTTCAGAAGTACACATCCCCTAGGGGATGCTAAATTAGTAATAACAACATA
TTGGGGTCTGCATACAGGAGAAAAGAGACTGGCATTGGGTTCAGGGAGTCTCCATAGAATGGAGGAAAAAGAGATATAGCACACAAG
TAGACCCTGACCTAGCAGACCAACTAATTCATCTGCCTATTTTGGATTGTTTTTTCAGAATCTGCTATAAGAAAATACCATATTAGGA
CGTATAGTTAGTCCCTAGGTGTGAATATCAAGCAGGACATAACAAGGTAGGATCTCTACAGTACTTGGCACTAGCAGCATTAATAAA
ACCAAAACAGATAAAGCCACCTTTGCCTAGTGTAGGAACTGACAGAGGACAGATGGAAACAAGCCCCAGAAGACCAAGGGCCACA
GAGGGAGCCATAACAATGAATGGACACTAGAGCTTTTAGAGGAACCTAAGAGTGAAGCTGTTAGACATTTTCTAGGATATGGCTCC
ATAACTTAGGACAACATATCTATGAAACTTACGGGGATACTTGGGCAGGAGTGGAAAGCCATAATAAGAATTTCTGCAACAACATGCTG
TTTATCCATTTTCAGAATTGGGTGTGCACATAGCAGAATAGGCGTTACTCGACAGAGGAGAGCAAGAAATGGAGCCAGTAGATCCTA
GACTAGAGCCCTGGAAGCATCCAGGAAGTCAGCCTAAAACCTGCTTGTACCAATTGCTATTGTAAAAAGTGTGCTTTTCATTGCCAA
GTTTTGTTTCATGACAAAAGCCTTAGGCATCTCCTATGGCAGGAAGAAGCGGAGACAGCGACGAAGAGCTCATCAGAACAGTCAGAC
TCATCAAGCTTCTCTATCAAAGCAGTAAGTAGTACATGTAATGCAACCTATAATAGTAGCAATAGTAGCATTAGTAGTAGCAATAA
TAATAGCAATAGTTGTGTGGTCCATAGTAATCATAGAATATAGGAAAATATTAAGACAAAAGAAAAATAGACAGGTTAATTGATAGA
CTAATAGAAAGAGCAGAAGACAGTGGCAATGAGAGTGAAGGAGAAGTATCAGCACTTGTGGAGATGGGGGTGGAAATGGGGCACCA
TGCTCCTTGGGATATTGATGATCTGTAGTGTACAGAAAAATTGTGGGTTCACAGTCTATTATGGGGTACCTGTGTGGAAGGAAGCA
ACCACCCTCTATTTTGTGCATCAGATGCTAAAGCATATGATACAGAGGTACATAATGTTTGGGCCACACATGCCTGTGTACCCAC
AGACCCCAACCCACAAGAAGTAGTATTGGTAAATGTGACAGAAAATTTTAAACATGTGGAAAAATGACATGGTAGAACAGATGCATG
AGGATATAATCAGTTTATGGGATCAAAGCCTAAAGCCATGTGTAATAATTAACCCCACTCTGTGTTAGTTTAAAGTGCCTGATTTG
AAGAATGATACTAATACCAATAGTAGTAGCGGGAGAATGATAATGGAGAAAGGAGAGATAAAAAACTGCTCTTTCAATATCAGCAC
AAGCATAAGAGATAAGGTGCAGAAAAGAAATATGCATTCTTTTATAAACTTGTATATAGTACCAATAGATAATACCAGCTATAGGTTGA
TAAGTTGTAACACCTCAGTCATTACACAGGCCTGTCCAAAGGTATCCTTTGAGCCAATTTCCCATACATTATTGTGCCCCGGCTGGT
TTTGCGATTCTAAAATGTAATAATAAGACGTTCAATGGAACAGGACCATGTACAAATGTGAGCACAGTACAATGTACACATGGAAT
CAGGCCAGTAGTATCAACTCAACTGCTGTTAAATGGCAGTCTAGCAGAAGAAGATGTAGTAATTAGATCTGCCAATTTTCACAGACA
ATGCTAAAACCATAAATAGTAGCAGCTGAACACATCTGTAGAAAATTAATTTGTACAAGACCCCAACAATAACAAGAAAAAGTATCCGT
ATCCAGAGGGGACCAGGAGAGCATTGTTTACAATAGGAAAAATAGGAAATATGAGACAAGCACATTTGTAACATTAGTAGAGCAAA
ATGGAATGCCACTTTAAAACAGATAGCTAGCAAATTAAGAGAACAATTTGAAATAATAAAAACAATAATCTTTAAGCATATCCCTCAG
GAGGGACCCAGAAATTTGTAACGCACAGTTTTTAATTGTGGAGGGGAATTTTTCTACTGTAATTC AACACAACCTGTTTAATAGTACT
TGGTTTTAATAGTACTTGGAGTACTGAAGGGTCAAATAACACTGAAGGAAGTGACACAATCACACTCCCATGCAGAATAAAAACAATT
TATAAACATGTGGCAGGAAGTAGGAAAAGCAATGTATGCCCTCCCCTCAGTGGACAAAATTAGATGTTTCATCAAATATTACTGGGC
TGCTATTAACAAGAGATGGTGGTAATAACAACAATGGGTCCGAGATCTTCAGACCTGGAGGAGGCGATATGAGGGACAATTGGAGA
AGTGAATTATATAAATATAAAGTAGTAAAAATTGAACCATTAGGAGTAGCACCCACCAAGGCAAAGAGAAGAGTGGTGCAGAGAGA
AAAAAGAGCAGTGGGAATAGGAGCTTTGTTCTTGGGTTCTTGGGAGCAGCAGGAAGCACTATGGGCGCAGCGTCAATGACGCTGA
CGGTACAGGCCAGACAATTATTGTCTGATATAGTGCAGCAGCAGAACAATTTGCTGAGGGCTATTGAGGCGCAACAGCATCTGTTG
CAACTCACAGTCTGGGGCATCAAACAGCTCCAGGCAAGAATCCTGGCTGTGGAAAGATACCTAAAGGATCAACAGCTCCTGGGGAT
TTGGGGTTGCTCTGGAAGACTCATTGACCACTGCTGTGCCTTGGAAATGCTAGTTGGAGTAATAAATCTCTGGAACAGATTTGGA
ATAACATGACCTGGATGGAGTGGGACAGAGAAATTAACAATTAACAAGCTTAATACACTCCTTAATTGAAGAATCGCAAAACCAG
CAAGAAAAGAATGAACAAGAATTATTGGAATTAGATAAATGGGCAAGTTTGTGGAATTGGTTTTAACATAACAAATTTGGCTGTGGTA
TATAAAATTAATTCATAATGATAGTAGGAGGCTTGGTAGGTTTAAAGAATAGTTTTTGTCTGACTTTCTATAGTGAATAGAGTTAGGC
AGGGATATTCACCATTATCGTTTTAGACCCACCTCCCAATCCCAGGGGACCCGACAGGCCCGAAGGAATAGAAGAAGAAGGTGGA
GAGAGAGACAGAGACAGATCCATTGATTAGTGAACGGATCCTTAGCACTTATCTGGGACGATCTGCGGAGCCTGTGCCTCTTCAG
CTACCACCGCTTGAGAGACTTACTCTTGATTGTAACGAGGATTGTGGAACCTCTGGGACGCAGGGGGTGGGAAGCCCTCAAATATT
GGTGAATCTCCTACAGTATTGGAGTCAGGAACCTAAGAATAGTGTCTGTTAACTTGTCTCAATGCCACAGCCATAGCAGTAGCTGAG
GGGACAGATAGGGTTATAGAAGTATTACAAGCAGCTTATAGAGCTATTTCGCCACATACCTAGAAGAATAAGACAGGGCTTGGAAAG
GATTTTGTCTATAAGATGGGTGGCAAGTGGTCAAAAAGTAGTGTGATTGGATGGCCTGCTGTAAGGGAAAAGAAATGAGACGAGCTGAG
CCAGCAGCAGATGGGGTGGGAGCAGTATCTCGAGACCTAGAAAAACATGGAGCAATCACAAGTAGCAATACAGCAGCTAAACAATGC
TGCTTGTGCCCTGGCTAGAAGCACAAAGAGGAGGAAGAGGTGGGTTTTCCAGTACACCTCAGGTACCTTTAAGACCAATGACTTACA
AGGCAGCTGTAGATCTTAGCCACTTTTTAAAAGAAAAGGGGGGACTGGAAGGGCTAATTCACTCCCAAAGAAGACAAGATATCCTT
GATCTGTGGATCTACCACACACAAGGCTACTTCCCTGATTGGCAGAATAACACACCAGGGCCAGGGGTGAGATATCCACTGACCTT
TGGATGGTGTCTACAAGCTAGTACCAGTTGAGCCAGATAAGGTAGAAGAGGCCAATAAAGGAGAGAACACCAGCTTGTACACCCTG
TGAGCCTGCATGGAATGGATGACCCTGAGAGAGAAGTGTAGAGTGGAGTTTTGACAGCCGCTAGCATTTCATCACGTGGCCCGA
GAGCTGCATCCGGAGTACTTCAAGAAGTGTGACATCGAGCTTGTACAAGGGACTTTCCGCTGGGGACTTTCCAGGGAGGCGTGG
CCTGGGCGGGACTGGGGAGTGGCGAGCCCTCAGATGCTGCATATAAGCAGCTGCTTTTTGCTGTACTGGGTCTCTCTGTTAGAC
CAGATCTGAGCCTGGGAGCTCTCTGGCTAACTAGGGAACCCACTGCTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCTTGAGTGTCTCAAGTAGT



GTGTGCCCGTCTGTTGTGTGACTCTGGTAACTAGAGATCCCTCAGACCCTTTTAGTCAGTGTGGAAAATCTCTAGCACCAGGAGG
TAGAGGTTGCAGTGAGCCAAGATCGCGCCACTGCATTCCAGCCTGGGCAAGAAAACAAGACTGTCTAAAATAATAATAAAGTTA
AGGGTATTAATATATATTTATACATGGAGGTCAATAAAATATATATATTTGGGCTGGGCGCAGTGGCTCACACCTGCGCCCGCCCT
TTGGGAGGCCGAGGCAGGTGGATCACCTGAGTTTGGGAGTTCCAGACCAGCCTGACCAACATGGAGAAACCCCTTCTCTGTGTATT
TTTAGTAGATTTTATTTTATGTGTATTTTATTACAGGTATTTCTGGAAAACCTGAAACTGTTTTTCTCTACTCTGATACCACAAG
AATCATCAGCACAGAGGAAGACTTCTGTGATCAAATGTGGTGGGAGAGGGAGGTTTTCCACCAGCACATGAGCAGTCAGTTCTGCCG
CAGACTCGGCGGGTGTCTTCCGGTTCAGTTCCAACACCCGCTGCCTGGAGAGAGGTGAGACCACAGGGTGAGGGCTCAGTCCCAA
GACATAAACACCCAAGACATAAACACCCAACAGGTCCACCCCGCTGCTGCCAGGCAGAGCCGATTACCAAGACGGGAATTAGG
ATAGAGAAAGAGTAAGTCACACAGAGCCGGCTGTGCGGGAGAACGGAGTTCTATTATGACTCAAATCAGTCTCCCAAGCATTTCGG
GGATCAGAGTTTTTAAGGATAACTTAGTGTGTAGGGGGCCAGTGAGTTGGAGATGAAAGCGTAGGGAGTCGAAGGTGTCTTTTGC
GCCAGTCAGTTCTTGGGTGGGGGCCACAAGATCGGATGAGCCAGTTTATCAATCCGGGGGTGCCAGCTGATCCATGGAGTGCAGG
GTCTGCAAAAATCTCAAGCACTGATTGATCTTAGTTTTACAATAGTGTATTACCCCAAGAACAAATTTGGGAAGGTGAGAATC
TTGTAGCCTGTAGCTGCATGACTCCTAAACCATAATTTCTTTTTTGTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTATTTTTTGGAGACAGGGTCTCACTGTCT
ACCTAGGCTGGAGTGCAGTGGTGCAATCACAGCTCACTGCAGCCTCAACGTCGTAAGCTCAAGCGATCTCCACCTCAGCCTGCC
TGGTAGCTGAGACTACAAGCGACGCCCCAGTTAATTTTTTGTATTTTTTGGTAGAGGCAGCGTTTTTGCCGTGTGGCCCTGGCTGGTCT
CGAACTCTGGGCTCAAGTGATCCAGCCTCAGCCTCCCAAAGTGCTGGGACAACCGGGGCCAGTCACTGCACCTGGCCCTAAACCA
TAATTTCTAATCTTTTGGCTAATTTGTTAGTCTACAAAGGCAGTCTAGTCCCCAGGCAAAAAGGGGGTTTTGTTTTCGGGAAAAGGGC
TGTTACTGTCTTTGTTTTCAAACATAAACTAAGTTCTCTAAACTTAGTTTCGGCCTACACCAGGAATGAACAAGGAGAGCTTGG
AGGTTAGAAGCACGATGGAATTGGTTAGGTGAGATCTCTTTACTGTCTGAGTTATAATTTTTGCAATGGTGGTTCAAAGACTGCC
GCTTCTGACACCAGTCGCTGCATTAATGAATCGGCCAACGCGGGGAGAGGCGGTTTTGCGTATTGGGCGCTCTTCCGCTTCTCTCG
CTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTCTGCTCGGCTGCGGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTAATACGGTTATCCACAGAATC
AGGGGATAACGCAGGAAAGAACATGTGAGCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCGTTGCTGGCGTTTTTCC
ATAGGCTCCGCCCCCTGACGAGCATCACAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAAACCCGACAGGACTATAAAGATAACCAG
GCGTTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCCTCTCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCCGATACTGTCCGCTTTCTCCCTTCGGG
AAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTCGGTGTAGGTGCTTCCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAAC
CCCCGTTTCCAGCCGACCGCTGCGCCTTATCCGTAACATCGTCTTGGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTATCGCCACTGGCA
GCAGCCACTGGTAACAGGATAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACAC
TAGAAGAACAGTATTTGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCCGAAAAGAGTGGTAGCTCTTGATCCGGCAAAACAAA
CCACCGCTGGTAGCGTGGTTTTTTTTTGTGTTGCAAGCAGCAGATTACGCGCAAAAAGAGGATCTCAAGAAGATCTTTGATCTTT
TCTACGGGCTGACGCTCAGTGGAAACGAAAACCTCACGTTAAGGGATTTTTGGTTCATGAGATTATCAAAAAGGATCTTCACTAGAT
CCTTTTTAAATTAATAAATGAAGTTTTAAATCAATCTAAAGTATATATAGTAAACTTGGTCTGACAGTTACCAATGCTTAATCAGTG
AGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTTCGTTTATCCATAGTTGCCTGACTCCCCGTCGTGTAGATAACTACGATACGGGAGGGC
TTACCATCTGGCCCCAGTGTGCAATGATACCGCGAGACCCACGCTCACCAGGCTCCAGATTTATCAGCAATAAACCCAGCCAGCCGG
AAGGGCCGAGCGCAGAAGTGGTCTGCAACTTTATCCGCCTCCATCCAGTCTATTAATTGTTGCGGGAAAGCTAGAGTAAGTAGTT
CGCCAGTTAATAGTTTGCGCAACGTTGTTGCCATTGCTACAGGCATCGTGGTGTACGCTCGTCTGTTGGTATGGCTTCATTCAGC
TCCGGTTCCCAACGATCAAGGCGAGTTACATGATCCCCATGTTGTGCAAAAAGCGGTTAGCTCCTTCCGTCCTCCGATCGTTGT
CAGAAGTAAGTTGGCCGAGTGTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATTTCTTACTGTGATGCCATCCGTAAGATGCT
TTTCTGTGACTGGTGTGACTCAACCAAGTCACTTGTGAGAATAGTGTATGCGGCGACCGAGTTGCTCTTGGCCGGCGTCAATACGG
GATAATACCGCGCCACATAGCAGAATTTAAAAGTGTCTCATATTGAAAACGTTCTTCCGGGGCGAAAACCTCTCAAGGATCTTACC
GCTGTTGAGATCCAGTTCGATGTAACCCACTCGTGCACCCAACTGATCTTTCAGCATCTTTTACTTTTACCAGCGTTTTCTGGGTGAG
CAAAAACAGGAAGGCAAAATGCCGCAAAAAGGGGAATAAGGGCGACACGGAAATGTTGAATACTCATACTCTTCTTTTTTCAATAT
TATTGAAGCATTTATCAGGGTTATTGTCTCATGAGCGGATACATATTTGAATGTATTTAGAAAAATAAAACAAATAGGGGTTCCGCG
CACATTTCCCCGAAAAGTGCCACCTGACGCTAAGAAACCATTATTATCATGACATTAACCTATAAAAATAGGCGTATCACGAGGC
CCTTTCGTCTCGCGCTTTCCGGTGTGACGGTGAACCTCTGACACATGCAGCTCCCGGAGACGGTACAGCTTGTCTGTAAGCG
GATGCCGGGAGCAGACAAGCCCGTCAAGGCGCGTCAAGGGGCTGTTGGCGGGTGTGCGGGCTGGCTTAACTATGCGGCATCAGAGCA
GATTGTACTGAGAGTGCACCATATGCGGTGTGAATAACCGCACAGATGCGTAAGGAAAATAACCGCATCAGGCGCCATTTCGCCAT
TCAGGCTGCGCAACTGTTGGGAAGGGCGATCGGTGCGGGCCTCTTTCGATTAACGCCAGGGGAGGCAGAGATTGCAAGTGAAGTGA
ATCGCAGCACTGCACCTCAGCCTGGGCGACAGAGTAAGACTCTGTCTCAAAAATAAAAATAAATAAATCAATCAGATATTCCAATCT
TTTTCTTTATTTATTTATTTATTTTCTATTTTGGAAAACACAGTCTTCTTATTCCAGAATTACACATATATTCTATTTTTTCTTTA
TATGCTCCAGTTTTTTTTTAGACCTTACCTGAAATGTGTGTATACAAAATCTAGGCCAGTCCAGCAGAGCCTAAAGGTAAAAATA
AAATAATAAAAAATAAATAAATCTAGCTCACTCTTACATCAAAATGGAGATACAGCTGTTAGCATTAAATACCAATAACCCA
TCTTGTCTCAATAATTTAAGCGCCTCTCTCCACCACATCTAACTCCTGTCAAAGGCATGTGCCCTTCCGGGCGCTCTGCTGTG
CTGCCAACCAACTGGCATGTGGACTCTGCAGGGTCCCTAACTGCCAAGCCCCACAGTGTGCCCTGAGGCTGCCCTTCTTCTAGC
GGCTGCCCCACTCGGCTTTGCTTTCCCTAGTTTTCAGTTACTTGCCTTCCAGCAAGGTCTGAAACTAGGTGCGCACAGAGCGGTAA
GACTGCGAGAGAAAGAGACCAGCTTTACAGGGGGTTTTATCACAGTGCACCCTGACAGTCTGTCAGCCTCACAGGGGGTTTTATCATAT
TGCACCCTGACAGTCTGTCAGCCTCACAGGGGGTTTTATCACAGTGCACCCTTACAATCATTCCATTTGATTACAAATTTTTTTAGTCT
TCTACTGTGCCAACTTGTAAAGTTAAATTTGATCAGAGGTGTGTTCCAGAGGGGAAAACAGTATATACAGGGTTCAGTACTATCG



CATTTTCAGGCCTCCACCTGGGTCTTGGAAATGTGTCCCCGAGGGGTGATGACTACCTCAGTTGGATCTCCACAGGTCACAGTGACA
CAAGATAACCAAGACACCTCCCAAGGCTACCACAATGGGCCGCCCTCCACGTGCACATGGCCGGAGGAACTGCCATGTCGGAGGTG
CAAGCACACCTGCGCATCAGAGTCCTTGGTGTGGAGGGAGGGACCAGCGCAGCTTCCAGCCATCCACCTGATGAACAGAACCTAGG
GAAAGCCCCAGTTCTACTTACACCAGGAAAGGC

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

Los 9 genes que componen el genoma del VIH-1 codifican componentes de la partícula vírica (genes estructurales) y que regulan la expresión de los mismos (genes reguladores).

Los genes estructurales codifican para: proteínas estructurales (gag: p17, p24, p2, p7, p1, p6); enzimas (pol: TI, PR e IN) y glicoproteínas de envuelta viral (env: gp120 y gp41). Los genes reguladores codifican para: proteínas reguladoras transcripcionales (Tat), post-transcripcionales (Rev) y otras proteínas accesorias (Vif, Vpu, Nef, Vpr) que tienen su papel en diferentes actividades reguladoras.

Así mismo, el VIH-1 codifica secuencias específicas que funcionan durante la transcripción, la post-transcripción y el ensamblaje.

c) Descripción del método utilizado para la transformación:

El fragmento 5´SmaI-EcoRI del DNA proviral NY5 (5´ SmaI en secuencias flanqueantes hasta 3´ EcoRI) y el fragmento 3´ proviral LAV (5´ EcoRI hasta 3´ NruI en secuencias flanqueantes) se clonaron en el plásmido pUC18 en el sitio de restricción PvuII después de eliminar los lugares poli-linker.

Referencia: Adachi A, Gendelman HE, Koenig S, Folks T, Willey R, Rabson A, Martin MA. Production of acquired immunodeficiency syndrome-associated retrovirus in human and nonhuman cells transfected with an infectious molecular clone. *J Virol* **59**:284-291, 1986.

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

Contiene todos los genes estructurales del VIH-1.

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

Contiene todos los elementos reguladores del VIH-1.

f) ¿El inserto ha sido secuenciado completamente?

Si, se aporta la secuencia en el apartado anterior.

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:

No.

a) ¿Es un plásmido libre?

En caso afirmativo:

i) Número de copias:

ii) ¿El plásmido recuperado corresponde al construido?

b) ¿Está integrado en los cromosomas nucleares?

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:

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.

Cuantificación de la cantidad de partículas virales acumuladas utilizando un ELISA comercial (Perkin Elmer) que detecta la proteína viral estructural p24. Con la técnica descrita hemos obtenido 1000 +/- 200 ng de p24 por ml de sobrenadante.

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?

No.

b) En caso afirmativo, especifíquese:

c) ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta al modo o tasa de reproducción?

No, aunque en el caso el OMG tiene un tropismo limitado al uso del correceptor X4.

En caso afirmativo, especifíquese:

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

d)

No.

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

No.

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

No.



g) Marcadores específicos del OMG:

No varían en cuanto al organismo donante. Las partículas virales VIH-1 acumuladas en el sobrenadante de las células HEK 293T transfectadas contienen un elevado número de proteínas estructurales p24 que podemos detectar por la técnica de ELISA.

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

Igual que la del VIH-1 donante. En nuestra actividad sin embargo la estabilidad será elevada, ya que las células HEK 293T transfectadas no se mantienen más allá de 48h (transfección transitoria) y los virus resultantes no se utilizan para infectar células diana, sino sencillamente para estudiar la interacción durante 4 horas con células mieloides.

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

Mínima, ya que todos los procedimientos se realizan en un Laboratorio de Seguridad Biológica de nivel 3 (LBS3).

5) Descripción de métodos de identificación y aislamiento empleados.

a) Técnicas utilizadas para la identificación del OMG.

Cuantificación de la cantidad de partículas virales acumuladas en el sobrenadante de las células HEK 293T transfectadas con el plásmido pNL4-3 utilizando para ello un ELISA comercial (Perkin Elmer) que detecta la proteína viral estructural p24.

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

No aplica.

VII. DESCRIPCIÓN DE LAS OPERACIONES

1) Naturaleza de las operaciones:

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

2) Volumen o cantidad de OMG a utilizar:

a) Volumen máximo en el caso de microorganismos:

10 ml de sobrenadante de cultivo procedente de células HEK 293T transfectadas con el plásmido pNL4-3.



b) Número de plantas:

c) Número de animales:

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)).

La actividad durará 3 años, desde Enero de 2017 hasta diciembre de 2019, período que cubre la financiación del proyecto asociado.

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

Esta actividad tiene por objeto testar distintos agentes que estamos generando (anticuerpos monoclonales, nanogeles y nanopartículas) para verificar su efectividad para bloquear la interacción del receptor celular Siglec-1 expresado en células dendríticas con el Virus de la Inmunodeficiencia Humana de Tipo 1 (VIH-1). Con estos experimentos pretendemos identificar nuevos agentes terapéuticos que tengan potencial aplicación para disminuir la diseminación viral dentro del organismo mediada por células dendríticas.

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 OMG se genera en nuestra instalación.

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).

No aplica.

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):

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.



Todo el procedimiento se realiza dentro de las instalaciones del LSB-3 de la Fundación IrsiCaixa, habilitadas para el manejo de VIH-1. Se transfectarán 5×10^6 HEK 293 T con 10ug de DNA del plásmido pNL4-3 mediante la técnica de fosfato cálcico en cabinas de protección biológica y cultivo celular. Tras lavar el exceso de plásmido, se cultivarán las HEK 293 T en 10 ml de medio en un incubador habilitado específicamente para cultivar material infeccioso. Dos días después se recogerá el sobrenadante de cultivo procedente de células HEK 293T transfectadas con el plásmido pNL4-3 y se congelará a -80°C en alícuotas de 1ml. La transfección será transitoria y se procederá a la destrucción de las células 48 horas post transfección. El stock viral generado se cuantificará por ELISA midiendo la proteína viral p24, donde la concentración máxima no excede los 1200 ng de proteína viral p24 por ml de cultivo. El stock viral se empleará en ensayos de unión pulsando células dendríticas a 4°C y de captura viral pulsando dichas células a 37°C durante 4 horas. Tras la incubación, las células dendríticas pulsadas se lavarán, lisarán y se medirá el contenido de proteína p24 del VIH-1 asociado al lisado celular utilizando un ELISA. Por tanto, los ensayos planteados a tiempos tan cortos no implican la infección de las células dendríticas expuestas al virus, y solo miden las interacciones previas del virus en ausencia de replicación viral.

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

El LSB-3 está situado en la 2ª planta del edificio maternal del HGTiP (hospital extraurbano. Ver mapa Fundación IrsiCaixa) sin lindar con otros departamentos del hospital. En esta área del edificio no hay ingreso de pacientes. Las entradas están señalizadas con el símbolo de riesgo biológico según normativa.

Las conducciones de aire son independientes del resto de laboratorios. El laboratorio dispone de presión negativa con un medidor situado en la entrada del LSB-3. Además, dispone de una antesala con doble puerta cuya apertura nunca es simultánea.

El acceso al LSB-3 y resto de laboratorios es restringido accediendo solo personal autorizado mediante sistema biométrico de huella digital. Se dispone de cámaras de vigilancia y sistema de alarma de entrada/salida siempre conectada fuera del horario laboral, fines de semana y festivos.

El laboratorio donde se realiza la actividad dispone de las medidas necesarias para un nivel de contención adecuado.

Detalle

Instalación

- Presión negativa. Medidor en la entrada
- Antesala con doble puerta
- Filtros absolutos Hepa tipo H13
- Techos lisos sin juntas
- Suelo sin juntas, no poroso, antideslizante y superficie de fácil limpieza

Mobiliario

- Específico de laboratorio sin juntas, no poroso, resistente y superficies de fácil limpieza

Equipos de laboratorio de contención

- Cabinas de bioseguridad clase II tipo A con alarma acústica.
- Centrífugas con buckets y tapas de seguridad y alarma de imbalance
- Autoclave con alarma acústica

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

1) Proximidad a fuentes de peligro potenciales:

Se adjunta los planos



2) Descripción de las condiciones climáticas predominantes:

La temperatura de los laboratorios es de 21°C para el buen funcionamiento de los equipos y el confort del personal.

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:

La actividad de la actividad descrita (Parte A y C) se realizará en el laboratorio de bioseguridad de nivel 3, habilitado para manipular virus infecciosos con el nivel de seguridad requerido, cumpliendo con las directrices del real decreto RD664/1997 sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo.

LABORATORIO LSB-3
El laboratorio se encuentra separado de otras zonas del mismo edificio
El laboratorio es hermético, permitiendo que se fumigue
Mobiliario y equipos
Superficies resistentes a agentes de descontaminación y de fácil limpieza
Acceso al laboratorio a través de una esclusa/transfer
Presión negativa respecto a la presión del medio ambiente inmediato
Aire de entrada y de salida del laboratorio tratado con filtros HEPA absolutos de eficacia H13.
Cabina de seguridad biológica flujo laminar clase II tipo A2 dispuestas al final del LSB-3
Autoclave localizada en la "Sala Autoclave" anexa LSB-3, con puerta de entrada en el LSB-3 y puerta de salida en la "sala autoclave".
Normas de trabajo
Acceso restringido. Acceso con sistema biométrico digital de huella, previa autorización de la Institución.
Señalización de peligro biológico en la puerta
Señalización de peligro biológico en el equipamiento que aloja material biológico
Medidas específicas para evitar la formación y difusión de aerosoles
Indumentaria de protección
Se utilizan batas quirúrgicas desechable, gafas de protección, calzado cerrado, mascarilla quirúrgica, polainas quirúrgicas, pantallas protectoras, delantal criogénico
Lavado de la ropa de trabajo. Las batas blancas para el trabajo en el laboratorio central las proporciona el HUGTiP encargándose además del lavado. La indumentaria de trabajo adicional obligatoria en el LSB-3 es desechable y de un solo uso.
Se dispone de espacio específico para la ropa de trabajo (percheros; taquillas)
No es necesario el cambio de ropa y calzado antes de entrar y salir de la instalación.
El personal no está obligado a ducharse antes de abandonar la zona controlada.



Existe un control eficaz de roedores e insectos. Empresa S.A.C. Antiplagas de Cataluña, S.L.
Residuos
Inactivación de los OMG presentes en el material sólido contaminado mediante el uso de autoclave.
Eliminación de los OMG presentes en medios líquidos en los efluentes de los desagües previa inactivación, durante al menos 24 horas, mediante el uso de desinfectante amplio espectro. En el caso de la eliminación de placas de cultivo, a éstas previamente se les añade desinfectante (Safe-Sept) y al día siguiente se autoclavan.
Otras medidas
Se dispone de material para la recogida de posibles vertidos (vermiculita; papel absorbente) disponible en la zona de trabajo
Almacenamiento de material fungible y reactivos es en el propio laboratorio
Se dispone de ventana de observación y cámara para ver a los ocupantes

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

1) Adopción de las Buenas Prácticas de Laboratorio:

El Instituto IrsiCaixa dispone de un manual para el trabajador que incluye:

- Normativa de higiene, salud y trabajo en el LSB-3 y resto de laboratorios
- Medidas de seguridad, que incluye adopción de BPL
- Gestión de residuos
- Transporte de sustancias infecciosas
- Plan de emergencia
- Plan de prevención de IrsiCaixa. Derechos y Obligaciones

Dentro de las buenas prácticas de laboratorio se tiene en cuenta:

- Evaluación del riesgo de los agentes biológicos que se manipulan
- Señalización de advertencia y peligro biológico en las puertas y equipos
- Uso obligatorio de indumentaria apropiada para trabajar en un LSB-3 y EPIs
- La manipulación de agentes infecciosos (VIH/VHC) es obligatorio realizarlo en cabina de bioseguridad
- Conocimiento de las salidas de emergencias, extintores y teléfonos de emergencia
- Inventario actualizado de las muestras

2) Formación del personal adscrito:

El personal recibe un curso formativo anual por parte de la empresa de Prevención de Riesgos laborales, asesorado por la supervisora y el responsable de riesgos adaptándose a la actividad e instalaciones del laboratorio.

Todo personal nuevo, además de disponer de toda la documentación descrita, recibe un curso de formación referente a la seguridad y riesgos que implica el trabajo en el laboratorio LSB-3. Este curso hace referencia a la organización de la instalación, el uso adecuado de los equipos, la capacitación e información del personal



autorizado, normas generales de conducta y seguridad, hábitos de trabajo para la actividad confinada en el LSB-3, el nivel de bioseguridad y las medidas de protección requeridas.

3) Programas de limpieza/desinfección/descontaminación:

- El laboratorio dispone de un protocolo interno de limpieza, mantenimiento y descontaminación, donde se detalla las limpiezas mensuales de todos los laboratorios incluyendo el LSB-3.
- Se realiza un mantenimiento anual para la desinsectación del LSB-3.
- El HGTiP dispone de un contrato para el control de plagas.
- Mantenimiento y eliminación de filtros hepas cuando éstos hay que renovarlos.

4) Programas de mantenimiento de aparatos para el confinamiento:

La supervisora del laboratorio (responsable de vigilancia y control) es la encargada del buen funcionamiento de los laboratorios incluyendo el LSB-3, del control de equipos y la adecuada gestión de residuos.

Los manuales de uso de los equipos en papel están dispuestos en dos estantes, uno en el laboratorio LSB-3 donde están los manuales de los equipos ubicados en esta sala y otro en el laboratorio central. Además, se dispone en la red interna del instituto una carpeta que puede ser consultada por el trabajador autorizado.

El mantenimiento de equipos lo realizan empresas especializadas en los diferentes equipos. Se adjunta los contratos de mantenimiento establecidos con las diferentes empresas y que son renovados anualmente.

- El autoclave es revisado periódicamente por personal técnico de la empresa Matachana. Tres revisiones anuales.
- Las cabinas de seguridad, centrífugas, incubadores y pequeño equipamiento es revisado periódicamente por personal técnico de la empresa TBS. Revisión anual o quincenal dependiendo de los requerimientos de cada equipo. Esta empresa se encarga además de reparar las averías de determinados equipos.
- La infraestructura del LSB-3 (clima, filtros, puertas, extintores, cuadro de mando y protección) es revisado periódicamente por personal técnico de la empresa Imtech. Revisión mensual.
- La infraestructura del resto de laboratorios (clima, filtros, puertas, extintores) es revisado periódicamente por personal técnico de la empresa Geinstal. Revisión mensual.

5) Programas de inspección y control del confinamiento:

Los programas de inspección y control de confinamiento lo realiza el personal de mantenimiento del HGTiP en colaboración con la empresa Imtech/Geinstal.

X.- **GESTION E INACTIVACIÓN DE RESIDUOS**

1) Encargado de la gestión de residuos:

Gestión interna: Sí NO X

Gestión por una empresa externa: Sí X NO

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



ECOPIIL contrada por el ICS (Instituto Catalán de la Salud). La gestión de residuos generados es realizada por el ICS a través de la empresa ECOPIIL. IrsiCaixa sigue estrictamente las directrices indicadas por el HGTIP y son éstos los encargados de la retirada de los residuos generados. La inactivación se realiza con el uso de desinfectante de amplio espectro y los residuos sólidos además se autoclavan.

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

El instituto IrsiCaixa dispone de 2 autoclaves, uno ubicado en el LSB-3 para inactivar el material infeccioso desechado y otro ubicado en el laboratorio central para la esterilización de medios y material vidrio de laboratorio no infeccioso. Todo el material sólido (pipetas, frascos, tubos, guantes,...) en contacto con material infeccioso está previamente en contacto con un desinfectante de amplio espectro de acción (*Safe Sept. CE 0473/UNE1903*) antes de autoclavarse. El material infeccioso líquido, se inactiva previamente antes de eliminarse por el desagüe. El procedimiento y retirada de residuos autoclavados se realiza diariamente.

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

1) Condiciones en las que podría producirse un accidente:

Intrusión. El acceso al laboratorio de Bioseguridad y resto de laboratorios es restringido accediendo solo personal autorizado mediante sistema biométrico de huella digital. Existe un control de movimiento mediante cámaras de seguridad y un sistema de alarma de entrada y salida conectado en horarios no laborales, festivos y fin de semana.

Derrame de material biológico infeccioso. En caso de producirse un derrame, la mayor probabilidad es que ocurra dentro de una cabina de bioseguridad pudiendo afectar a los trabajadores del laboratorio de bioseguridad. Más improbable es que ocurra un derrame fuera de la cabina aunque siempre sería dentro del laboratorio de Bioseguridad. Esta incidencia podría ocurrir en caso de caída accidental durante el traslado de placas a un incubador. Ante cualquiera de estos casos existe un procedimiento de actuación incluido en la normativa de la institución al alcance de todos los trabajadores.

Uso inadecuado de equipos de riesgos. Se podría producir un accidente ante el uso impropio de determinados equipos (cabinas de bioseguridad, autoclave, centrifugas, tanques nitrógeno). Al trabajador se le proporciona la normativa de trabajo, seguridad e higiene que incluye el uso adecuado de los equipos. Se dispone del manual de uso de todos los equipos en papel y en pdf.

Aualmente se imparte un curso formativo en riesgo laboral adaptado a nuestra actividad, instalaciones y equipos.

Emisión de agentes infecciosos.

Interior del área de contención. La probabilidad de que se produzca emisiones es muy baja dado que todo material infeccioso se manipula dentro de las cabinas de clase II. Podría ocurrir un fallo del funcionamiento de la cabina de seguridad, y en tal caso se activaría una alarma acústica que indica fallo de funcionamiento. La producción de aerosoles, es un hecho bastante improbable en nuestras actividades, excepto quizás durante el uso de las centrifugas. Para evitar este riesgo se trabaja siempre con buckets con tapas selladas y así evitar accidentes de salpicaduras, emisión de aerosoles o rotura de tubos. No obstante, hay que remarcar que nuestro instituto centra su trabajo en la investigación del VIH/VHC siendo estos patógenos no transmisibles por vía aérea.

Interior del área de contención. Es improbable dado que únicamente se extrae material infeccioso (siempre congelado y en contenedores de seguridad) fuera del laboratorio de bioseguridad para realizar envíos a otros centros donde hay establecidas colaboraciones. Todo material infeccioso del LSB-3 a eliminar es previamente descontaminado mediante la autoclave.

Accidentes. En nuestro caso haría referencia a la exposición de un agente infeccioso mediante principalmente la entrada por vía percutánea (pinchazos, cortes o contacto con piel no intacta) o por salpicaduras a mucosas. Nuestra actividad actualmente no hace uso de material punzante.

Derrames de productos químicos. Las sustancias químicas utilizadas en el laboratorio de Bioseguridad son soluciones que por su concentración no entrañan peligro para la salud.

Incendio u otro tipo de emergencia que puedan ocasionar daños estructurales en LSB-3. En el laboratorio se estima una carga térmica de fuego baja.



Un incendio puede deberse a un fallo eléctrico de la instalación. La instalación eléctrica tiene sistema de seguridad en caso de fallos eléctricos.

2) Equipamiento de seguridad (especifíquese):

Intrusión. El acceso la LSB-3 y resto de laboratorios es restringido. Acceso mediante sistema biométrico de huella digital. Existen cámaras de vigilancia y sistema de alarma de entrada/salida siempre activado fuera del horario laboral, festivos y fines de semana.

Derrame de material biológico infeccioso en el LSB-3/Emisión de agentes biológicos. La mayor probabilidad de que ocurra este incidente sería dentro de una cabina de bioseguridad. La instalación y los equipos son los adecuados para la contención y seguridad de los trabajadores y medio ambiente.

DETALLE

Instalación

- Presión negativa. Medidor de presión instalado en la entrada del LSB-3
- Antesala con doble puerta de apertura no simultánea
- Filtros absolutos Hepa tipo H13
- Techos y suelos no porosos y sin juntas

Equipos de laboratorio de contención

- Cabinas de bioseguridad clase II tipo A con alarma acústica.
- Centrífugas con buckets y tapas de seguridad con alarma en imbalance
- Autoclave con alarma acústica

Equipos de protección individual y colectiva

- Guantes. CE Cat. III
- Mascarilla quirúrgica. CE- EN 14683. Cat. II
- Batas quirúrgicas de protección. CE 0086
- Polainas quirúrgicas
- Pantalla protección
- Guantes termoprotectores. EN 407 y EN 388
- Guantes específicos antipinchazo y cortes. Ca. II EN 388 – EN 420
- Delantal termo protector
- Calzado cerrado. CE, norma EN-ISO-20347

Accidentes

Además de la obligatoriedad del uso de una indumentaria adecuada para acceder y trabajar en el LSB-3, se dispone de:

- Lavaojos y una ducha de emergencia
- Lavamanos específico en la antesala en caso de accidente
- Botiquín con material básico para primeros auxilios en la antesala
- Manual de procedimiento para el trabajo, higiene y salud
- Curso formativo de seguridad a todo nuevo trabajador
- Curso formativo anual en materia de prevención de riesgos laborales adaptado a nuestra actividad y tipo de instalación

Incendio u otro tipo de emergencia que puedan ocasionar daños estructurales en LSB-3:



- Detectores de humos conectados con la central de alarma del HGTiP
- puertas de entradas conectadas al sistema la central de alarma del HGTiP
- Extintores de fuego (2 de CO2 y 2 de polvo)
- Puerta de emergencia en caso de evacuación rápida

3) Descripción de la información suministrada a los trabajadores:

El Instituto IrsiCaixa dispone de un manual para el trabajador que incluye:

- Normativa de higiene, salud y trabajo en el LSB-3 y resto de laboratorios
- Gestión de residuos
- Medidas de seguridad, que incluye adopción de BPL
- Transporte de sustancias infecciosas
- Plan de emergencia
- Plan de prevención de IrsiCaixa. Derechos y Obligaciones
- Limpieza, descontaminación
- Dossier del training básico de seguridad, trabajo e higiene

4) Planes de emergencia:

Se proporciona protocolo interno de actuación en caso de emergencia en los laboratorios de IrsiCaixa y evacuación del edificio donde se describen los planes de emergencia y la normativa aplicada por el Instituto catalán de salud y del HIGTiP.

DOCUMENTOS

- *Plan de emergencia IrsiCaixa (Manual de acogida IrsiCaixa 2016)*
 - *Plan de emergencia IrsiCaixa*
 - *Consignas Pau HIGTiP*
 - *Normativa interna – ICS*
 - *Prevenió de Riscos laborals a l'ICS*
 - *PR-ACCIN-01. IRSICAIXA_Proced_inv_accid.*
 - *Medidas de Seguridad para la salud. Control de riesgos físicos. Tipos de accidente.*



PARTE B

DIRECCION GENERAL DE
CALIDAD Y EVALUACION
AMBIENTAL Y MEDIO NATURAL

COMISIÓN NACIONAL DE
BIOSEGURIDAD

NOTIFICACIÓN DE PRIMER USO DE INSTALACIONES PARA REALIZAR ACTIVIDADES DE UTILIZACIÓN CONFINADA CON ORGANISMOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE

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

I. RESPONSABLES DE LA INSTALACIÓN

1) Entidad: **FUNDACIÓ PRIVADA INSTITUT DE RECERCA DE LA SIDA-CAIXA**

Nombre: **IRSI CAIXA**

Dirección postal: Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Carretera de Canyet, s/n, 08916 Badalona (España)

2) Representante legal de la entidad

Nombre y apellidos: Bonaventura Clotet Sala

NIF: 46.106.081 M

Cargo: Director

Tel: 93 465 63 74

Fax: 93 465 39 68

Correo electrónico: bclotet@irsicaixa.es

3) Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos: Javier Martinez Picado // Nuria Izquierdo Useros

NIF: 46535782-C // 01933549-P

Cargo: Investigador senior

Tel: 93 465 63 74. Ext. 150

Fax: 93 465 93 68



Correo electrónico: jmpicado@irsicaixa.es// nizquierdo@irsicaixa.es

4) Responsable de bioseguridad de la instalación

Nombre y apellidos: Julià Blanco Arbues

NIF: 37326144L

Cargo: Investigador senior y Responsable de Prevención de Riesgos Laborales

Tel: 93 465 63 74. ext. 115

Fax: 93 465 93 68

Correo electrónico: jblanco@irsicaixa.es

5) Indicar cuál de los anteriores actuará como persona de contacto. Julià Blanco

6) Existencia de comités de bioseguridad y/o Comité de Seguridad y Salud:

No se considera obligatorio, pero sí recomendable, la creación de un comité de seguridad biológica. En este sentido, la Comisión Nacional de Bioseguridad ha elaborado unas directrices para la creación de un Comité de Bioseguridad en los centros que trabajan con OMG (ver Anexo 4 de la Guía). Por otro lado, se recuerda que debe constituirse un Comité de Seguridad y Salud en todas las empresas o centros de trabajo que cuenten con 50 o más trabajadores, según el artículo 38 de la Ley 31/1995, de 8 de noviembre, de prevención de riesgos laborales.

SI NO

En caso afirmativo, especificar funciones del Comité:

7) Debe señalarse si se obtiene financiación del Plan Estatal de Investigación Científica y Técnica y de Innovación para el desarrollo de las actividades propuestas. Esta información es necesaria para determinar si la instalación 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

II. DATOS GENERALES DE LA INSTALACIÓN

Deberá acompañarse un plano de situación, a escala 1:50.000 o similar, de forma que se identifique fácilmente su localización (urbana, suburbana o extraurbana).

1) Dirección de la Instalación: Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. 2ª planta, Edificio Maternal. Ctra.de Canyet, s/n. 08916 Badalona. Barcelona.

2) Localización: a) urbana
b) suburbana
c) extraurbana i) agrícola
ii) industrial



3) Descripción:

- | | | | |
|--------------------------|--------------------------|-----------------|--------------------------|
| a) Edificio aislado | <input type="checkbox"/> | Nº de Secciones | <input type="checkbox"/> |
| b) Parte de un edificio | X | Nº de Secciones | 2 |
| c) Conjunto de edificios | <input type="checkbox"/> | Nº de Secciones | <input type="checkbox"/> |

4) Especificar el número de habitaciones de las que consta cada sección, indicando la utilización de cada una de ellas.

Laboratorio de Bioseguridad nivel 3 y sala anexa de autoclave. En el laboratorio de Bioseguridad dedicado al procesamiento y almacenamiento de muestras infecciosas (sangre, plasma, heces,...), así como a la investigación del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y/o hepatitis C (VHC). En este laboratorio se manipulan concentraciones significativas de virus infecciosos.

Las 2 actividades descritas (Parte A y C) se realizarán en el laboratorio de bioseguridad de nivel 3, habilitado para manipular virus infecciosos con el nivel de seguridad requerido, cumpliendo con las directrices del real decreto RD664/1997 sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo.

Sala Autoclave destinado a la recogida de material descontaminado procedente de laboratorio de bioseguridad.

III. DESCRIPCIÓN DE CADA UNA DE LAS SECCIONES DE LA INSTALACIÓN

Cumplimentar una hoja por cada una de las secciones o departamentos interesados en la notificación y las adicionales que fueran necesarias.

1) Finalidad de la sección o departamento:

- | | |
|------------------------------------|--------------------------|
| a) Laboratorio de investigación | X |
| b) Planta piloto o experimental | <input type="checkbox"/> |
| c) Planta industrial | <input type="checkbox"/> |
| d) Tratamiento después del proceso | <input type="checkbox"/> |
| e) Otro, especificar | |

2) La sección o secciones forman parte de uno o más departamentos a efectos administrativos:

SI NO X

En caso afirmativo, indicar a qué departamentos pertenecen y la finalidad de los mismos:

3) Nombre y formación del responsable de la sección:

Sección 1. Julià Blanco. Licenciado en Ciencias Químicas. Doctor en Ciencias Químicas (responsable de Prevención de Riesgos) / Lidia Ruiz, PhD (Lab Manager, Compliance Assesor)

Sección 2. Lidia Ruiz Tabuena. Licenciada en Biología. Doctora en Medicina.



- 4) Descripción de las dependencias dentro de cada sección: laboratorios, cuartos de técnicas o equipos, oficinas, etc.

Se adjuntará plano de dichas dependencias: sección (es) o conjunto del edificio, a escala y con el detalle suficiente que permita apreciar las circunstancias relevantes en cada caso para la evaluación de riesgos.

Se adjuntan en anexos los planos.

Descripción

Laboratorio de Bioseguridad nivel 3 (LSB-3) y Sala anexa de Autoclave

Es la única zona de trabajo con material infeccioso. El acceso a esta zona está restringido al personal autorizado mediante una tarjeta personalizada. Únicamente se puede entrar convenientemente protegido. El interior del LSB-3 está dividido en diferentes zonas de trabajo con usos definidos.

Para entrar al laboratorio de Bioseguridad se dispone de un transfer delimitado por dos zonas, una zona limpia y una zona sucia. Estas zonas están destinadas a la preparación para el acceso de personal autorizado al laboratorio de Bioseguridad con la indumentaria y EPIs adecuados. Las dos puertas de acceso como medida de control no se pueden abrir simultáneamente.

El equipamiento del Laboratorio de Bioseguridad de Nivel 3 (LSB-3) de IrsiCaixa consiste en:

- Cabinas de bioseguridad clase II (9)
- Centrífugas con buckets y tapas (6)
- Autoclave (1)
- Fluorímetro/Luminómetro (1)
- Citómetro de Flujo (LSRII BD) (2)
- Lavador de ELISAS (2)
- Lector de ELISAS (2)
- Microscopio de fluorescencia invertido (1)
- Microscopios (2)
- Separador Celular (autoMacs) (1)
- Lavador ELISPOTS (2)
- Lector de ELISPOTS (2)
- Incubadores de CO₂ (7)
- Balanza de precisión (1)
- Baños (2)
- Equipo de purificación de agua (1)
- Equipo de purificación de proteínas (1)
- Zona de Criobiología (neveras (3), congeladores -80°C (2), congeladores -30°C (2), tanque de N₂ líquido (1), ultracentrifugas (2))
- Zonas de Biología Molecular (extracción y adición de material genético) con 2 cabinas de PCR sin flujo laminar



Sala de autoclave

Destinada a la recogida de material descontaminado procedente del LSB-3 y que consta:

- Autoclave: Puerta de salida de material descontaminado procedente del LSB-3. La puerta de entrada de material infeccioso está dentro del LSB-3.
- Torno 1 o esclusa: Entrada única de material, infeccioso o no, dentro de LSB-3.

IV. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD

1) Objetivo de la actividad:

Para actividades tipo 2, 3 y 4, en la que ya se haya presentado un Formulario Tipo A, es suficiente un listado de las actividades que se van a realizar.

Esta actividad tiene por objeto testar distintos agentes que estamos generando (anticuerpos monoclonales, nanogeles y nanopartículas) para verificar su efectividad para bloquear la interacción del receptor celular Siglec-1 expresado en células dendríticas con el Virus de la Inmunodeficiencia Humana de Tipo 1 (VIH-1). Con estos experimentos pretendemos identificar nuevos agentes terapéuticos que tengan potencial aplicación para disminuir la diseminación viral dentro del organismo mediada por células dendríticas.

Para alcanzar nuestro objetivo utilizaremos el aislado de laboratorio pNL4.3, cuyo plásmido hemos obtenido a través del repositorio del NIH. El plásmido se transfectará en células HEK-293 T mediante la técnica de fosfato cálcico. La transfección será transitoria y se procederá a la destrucción de las células 48 horas post transfección. El stock viral generado se empleará en ensayos de unión pulsando células dendríticas a 4°C y de captura viral pulsando dichas células a 37°C durante 4 horas. Tras la incubación, las células dendríticas pulsadas se lavarán, lisarán y se medirá el contenido de proteína p24 del VIH-1 asociado al lisado celular utilizando un ELISA. Por tanto, los ensayos planteados a tiempos tan cortos no implican la infección de las células dendríticas expuestas al virus, y solo miden las interacciones previas del virus en ausencia de replicación viral.

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	<input type="checkbox"/>
Tipo 2	<input type="checkbox"/>
Tipo 3	X
Tipo 4	<input type="checkbox"/>

3) Descripción de las operaciones:

3.1. Microorganismos:

a) escala experimental	X	Volumen máximo: 15 ml
b) escala prueba piloto	<input type="checkbox"/>	Volumen máximo:
c) escala industrial	<input type="checkbox"/>	Volumen máximo:



Stocks virales de VIH-1 NL4-3 de 10 ml que se almacenarán en viales de 1 ml y tendrán una concentración máxima de antígeno viral p24 de 1200 ng.

3.2. Número de Plantas: No Aplica

3.3. Número de Animales: No Aplica

4) Periodo estimado de duración 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).

La actividad durará 3 años, desde enero de 2017 hasta diciembre de 2019, período que cubre la financiación del proyecto asociado.

5) Tipo de proceso biológico, para el caso de microorganismos modificados genéticamente:

- a) Cultivo continuo en fermentador
- b) Cultivo discontinuo en fermentador
- c) Otros

Se transfectarán 5×10^6 HEK 293 T con 10ug de DNA del plásmido pNL4-3 mediante la técnica de fosfato cálcico en cabinas de protección biológica y cultivo celular. Tras lavar el exceso de plásmido, se cultivarán las HEK 293 T en 10 ml de medio en un incubador habilitado específicamente para cultivar material infeccioso. Dos días después se recogerá el sobrenadante de cultivo procedente de células HEK 293T transfectadas con el plásmido pNL4-3 y se congelará a -80°C en alícuotas de 1ml. La transfección será transitoria y se procederá a la destrucción de las células 48 horas post transfección. El stock viral generado se cuantificará por ELISA midiendo la proteína viral p24, donde la concentración máxima no excede los 1200 ng de proteína viral p24 por ml de cultivo. El stock viral se empleará en ensayos de unión pulsando células dendríticas a 4°C y de captura viral pulsando dichas células a 37°C durante 4 horas. Tras la incubación, las células dendríticas pulsadas se lavarán, lisaran y se medirá el contenido de proteína p24 del VIH-1 asociado al lisado celular utilizando un ELISA. Por tanto, los ensayos planteados a tiempos tan cortos no implican la infección de las células dendríticas expuestas al virus, y solo miden las interacciones previas del virus en ausencia de replicación viral.

6) 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 OMG se genera en nuestra instalación, por transfección transitoria de células HEK 293T con el plásmido pNL4-3 del NIH Repository Reagents (www.aidsreagent.org) con número de catálogo 114. Tras la transfección transitoria, las células se destruyen por tratamientos inactivantes estándar habilitados en el laboratorio.



7) Información sobre el transporte de los OMG en el caso de que provengan de, o se destinen a otros centros o instalaciones, así como descripción de las medidas adoptadas durante el mismo en virtud de la legislación aplicable² (tipo de transporte, manejo y embalaje, documentación de acompañamiento e identificación o/y etiquetado).

No aplica.

V. **MEDIDAS DE CONFINAMIENTO Y OTRAS MEDIDAS DE PROTECCIÓN APLICADAS**

El objetivo de este apartado es la descripción completa de las condiciones de la instalación, con objeto de que la Comisión Nacional de Bioseguridad pueda evaluar si se garantiza el grado de confinamiento exigido por la legislación (ver anexo 3 de la Guía, que recoge el anexo II del Real Decreto 178/2004).

Si procede, se cumplimentará una hoja por cada una de las distintas secciones o departamentos interesados en la notificación. En ningún caso se aceptará que en un mismo formulario Parte B se incluyan distintos niveles de confinamiento.

I.- LABORATORIOS		
	SÍ	NO
El laboratorio se encuentra separado de otras zonas del mismo edificio	X	
El laboratorio se encuentra en un edificio independiente		X
El laboratorio es hermético, permitiendo que se fumigue	X	
Existencia de una entrada y salida independientes		X
Mobiliario y equipos	SÍ	NO
Superficies resistentes a agentes de descontaminación y de fácil limpieza	X	
Acceso al laboratorio a través de una esclusa	X	
Presión negativa respecto a la presión del medio ambiente inmediato	X	
Aire de entrada y de salida del laboratorio tratado con filtros HEPA	X	
<ul style="list-style-type: none"> Indicar el tipo de filtro HEPA: 	Filtros absolutos de eficacia H13.	
Cabina de seguridad biológica	X	
<ul style="list-style-type: none"> Indicar el tipo y localización de la/s cabinas de seguridad biológica: 	Cabina de seguridad flujo laminar clase II tipo A2	

² 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.



Autoclave	X	
<ul style="list-style-type: none"> Indicar la localización del autoclave (dentro del edificio; dentro del laboratorio, en otra dependencia de la instalación) 	“Sala Autoclave” anexa al laboratorio de Bioseguridad nivel 3, con puerta de entrada en el laboratorio de Bioseguridad nivel 3 y puerta de salida en la “sala autoclave”.	
Normas de trabajo	SÍ	NO
Acceso restringido	X	
<ul style="list-style-type: none"> ¿Cómo se restringe el acceso? (ej. entrada mediante tarjeta del personal autorizado) 	Acceso con sistema biométrico digital de huella tanto en la entrada principal como en el acceso al transfer/esclusa, previa autorización de la Institución.	
Señalización de peligro biológico en la puerta	X	
Señalización de peligro biológico en el equipamiento que aloja material biológico	X	
Medidas específicas para evitar la formación y difusión de aerosoles	X	
Indumentaria de protección	X	
<ul style="list-style-type: none"> Indicar qué indumentaria de protección y EPIs se utilizan 	Batas quirúrgica desechables, gafas de protección, calzado cerrado, mascarilla, polainas, pantallas protectoras, delantal	
Lavado de la ropa de trabajo	X	
<ul style="list-style-type: none"> Indicar quien es responsable del lavado de la ropa de trabajo (empresa gestora; en la propia instalación) 	Las batas blancas para el trabajo en el laboratorio central las gestiona el HUGTiP encargándose además del lavado. La indumentaria de trabajo obligatoria en el LSB-3 es desechable de un solo uso.	
Espacio específico para la ropa de trabajo (percheros; taquillas)	X	
Cambio de ropa y calzado antes de entrar y salir de la instalación		X
El personal está obligado a ducharse antes de abandonar la zona controlada		X
Control eficaz de roedores e insectos	X	
Residuos	SÍ	NO



Inactivación de los OMG presentes en el material sólido contaminado mediante el uso de autoclave.	X	
Eliminación de los OMG presentes en medios líquidos en los efluentes de los desagües previa inactivación, durante al menos 24 horas, mediante el uso de desinfectante amplio espectro. En el caso de la eliminación de placas de cultivo, a éstas previamente se les añade desinfectante (Safe-Sept) y al día siguiente se autoclavan.		X Inactivación previa a la eliminación.
Otras medidas	SÍ	NO
Material para la recogida de posibles vertidos (vermiculita; papel absorbente) disponible en la zona de trabajo	X	
Almacenamiento de material fungible y reactivos en el propio laboratorio	X	
Ventana de observación o similar para ver a los ocupantes	X	

II.- INVERNADEROS Y SEMILLEROS		
NO APLICA	SÍ	NO
Invernaderos: estructura permanente		
La pendiente permite evitar la entrada de la escorrentía de aguas superficiales		
Puertas de cierre automático.		
Equipo	SÍ	NO
Entrada a través de una esclusa con dos puertas con cerradura dependiente		
Control y gestión de aguas contaminadas		
Normas de trabajo	SÍ	NO
Medidas para controlar las especies no deseadas (insectos y otros artrópodos, roedores, etc.)		
Procedimientos para evitar la diseminación de OMG durante el transporte de material vivo entre el invernadero o semillero, la estructura protectora y el laboratorio		

III.- UNIDADES DE ANIMALES		
NO APLICA	SÍ	NO
Aislamiento en la unidad de animales (1)		
Locales de animales (2) separados mediante puertas bloqueables		
Locales de animales diseñados para la descontaminación: material impermeable y fácil de lavar		
Suelo y paredes fáciles de lavar		
Confinamiento de los animales en receptáculos adecuados como jaulas, corrales o cajas		
Filtros en las cajas de aislamiento o habitaciones aisladas		



<ul style="list-style-type: none"> Indíquese los métodos de control de posibles escapes que se emplean: 		
--	--	--

- (1) Unidad de animales: edificios o zonas separadas de un edificio que disponga de locales y otras zonas como vestuarios, duchas, autoclaves, almacén de alimentos, etc.
- (2) Locales de animales: locales que habitualmente se empleen para alojar animales de reserva, cría o experimentación o para realizar pequeñas intervenciones quirúrgicas.

IV.- OTRAS ACTIVIDADES		
NO APLICA	SÍ	NO
Los organismos viables deben mantenerse en un sistema que separe el proceso del entorno (sistema cerrado)		
Control de los gases de escape del sistema cerrado		
Control de aerosoles durante la toma de muestras, la introducción de material en un sistema cerrado o la transferencia de material a otro sistema cerrado		
Inactivación del líquido de cultivo en masa antes de extraerlo del sistema cerrado		
Sistemas de cierre diseñados para minimizar o evitar la liberación		
Zona controlada con capacidad para contener el vertido de todo el contenido del sistema cerrado		
Zona controlada hermética para fumigación		
Equipo	SÍ	NO
Entrada a través de esclusa		
Superficies resistentes a ácidos, álcalis, disolventes, desinfectantes y agentes de descontaminación, y de fácil limpieza		
Medidas específicas para ventilar adecuadamente la zona controlada y de este modo minimizar la contaminación atmosférica		
Zona controlada con presión negativa respecto a la presión circundante		
Tratamiento del aire de salida y entrada de la zona filtrado con filtros HEPA		
Normas de trabajo	SÍ	NO
Sistemas cerrados situados en una zona controlada		
Acceso restringido exclusivamente al personal autorizado		
Obligación de indicar el peligro biológico		
El personal deberá ducharse antes de abandonar la zona controlada		
Indumentaria de protección para el personal		
Residuos	SÍ	NO



Inactivación de los OMG en los efluentes de lavabos y duchas o efluentes similares		
Inactivación de los OMG en el material contaminado y los residuos, incluidos los OMG presentes en el efluente de trabajo antes del vertido final		

1) Adjuntar documentación relativa a protocolos de uso, validación y revisión periódica de equipos e instalaciones.

Se adjunta anexos de protocolos de uso, validación y revisión periódica de equipos e instalaciones.

2) Indicar que otras normas internas (PNT) se aplican, tanto a la instalación como a la actividad o actividades que se desarrollan (exposición a agentes biológicos, experimentación con animales, gestión y eliminación de residuos, etc.)

Seguridad para la Salud. Normativas.

Laboratorio de Bioseguridad nivel 3 que consta de:

- Mobiliario específico de laboratorio con superficies no porosas, resistentes y fáciles de limpiar.
- Área con suelo y techos estancos preparados para trabajar con organismos patógenos tipo 3
- Presión negativa. Medidor de presión.
- Transfer o antesala con dos áreas definidas para la entrada a LSB-3
- Uso de equipos de protección individual y colectiva
- Cabinas de bioseguridad clase II tipo A/B3
- Autoclave para la descontaminación de residuos infecciosos y no infecciosos generados en LSB-3.
- Centrífugas con buckets y tapas selladas para la contención de aerosoles.
- Gestión de Residuos según las normas internas de Gestión de Residuos del HGTIP.
- Fichas Técnicas de Reactivos Químicos. Armarios específicos para el almacenaje de los Reactivo en laboratorio 2 (Laboratorio central).
- Cabina de gases (Laboratorio central).
- Protocolos de Prevención de Riesgos en caso de accidentes/incidentes.

VI. **PLANES DE EMERGENCIA**

Se deberá cumplimentar para todos los casos excepto para operaciones de utilización confinada de Tipo 1.

1) Información sobre prevención de accidentes y planes de actuación en situaciones de emergencia.

Se adjunta anexos y documentos relativos:

- *Medidas de Seguridad (Manual de acogida IrsiCaixa 2016)*
 - *Anexo I. Equipos de Protección Individual (EPIs)*
 - *Anexo II. Uso seguro de equipos de laboratorio*
 - *Anexo III. Prevención y Actuación en la manipulación de material infeccioso*
 - *Anexo V. Accidentes*
- *Plan de emergencia IrsiCaixa (Manual de acogida IrsiCaixa 2016)*
 - *Plan de emergencia IrsiCaixa*
 - *Consignas Pau HIGTiP*
 - *Normativa interna – ICS*
 - *Prevenió de Riscos laborals a l'ICS*



- *PR-ACCIN-01. IRSICAIXA_Proced_inv_accid.*
- *Medidas de Seguridad para la salud. Control de riesgos físicos. Tipos de accidente.*
- *Plan de prevención de RL. Derechos y Obligaciones (Manual de acogida IrsiCaixa 2016)*
- *Plan de Prevención IrsiCaixa (Manual de acogida IrsiCaixa 2016)*

2) Para instalaciones en las que se vayan a llevar a cabo operaciones de utilización confinada de tipo 3 y 4, deberá adjuntarse además la siguiente información:

a) Riesgos específicos y potenciales debidos al emplazamiento.

El laboratorio está dentro de un Hospital extraurbano y no linda con otros departamentos o servicios del hospital. No hay ingresos hospitalarios en el área donde están los laboratorios IrsiCaixa incluyendo el LSB-3. La ubicación del laboratorio donde se desarrolla la actividad, el tipo de instalación y las medidas de seguridad implantadas cumplen los criterios descritos por la Organización mundial de la Salud. Manual de Bioseguridad de laboratorio. Ginebra 2005 minimizando los riesgos potenciales.

b) Medidas preventivas aplicadas, tales como equipos de seguridad, sistemas de alarma y métodos de confinamiento.

Instalaciones/Equipos

- Presión negativa visible en la entrada al LSB-3.
- Transfer/esclusa
- Congeladores -80°C conectados a un sistema de alarma (Sirius).
- Cabinas clase II tipo A con alarma
- Centrífugas con buckets y tapas selladas
- Autoclave con alarma
- Sistema de alarma de entrada y salida personal
- Cámaras de seguridad

Equipos de protección individual y colectiva

- Guantes. CE Cat. III
- Mascarilla quirúrgica. CE- EN 14683. Cat. II
- Batas quirúrgicas de protección de un solo uso. CE 0086
- Polainas quirúrgicas
- Pantalla protección
- Guantes termoprotectores. EN 407 y EN 388
- Guantes específicos antipinchazo y cortes. Ca. II EN 388 – EN 420
- Delantal termo protector. EN 511; Cat. III.
- Calzado cerrado. CE, norma EN-ISO-20347

c) Procedimientos y planes de comprobación de la eficacia permanente de las medidas de confinamiento.

Actividad del Supervisión interna

- Supervisor
- Responsable de riesgos laborales

Empresas contratadas para el mantenimiento de

- instalaciones del LSB-3 (clima, presión negativa, instalación eléctrica, puertas de emergencia,...).
- equipos (cabinas de seguridad, centrífugas, baños, incubadores y pequeño equipamiento).
- ultracentrífuga.
- autoclaves.



d) Descripción de la información suministrada a los trabajadores.

- Dossier de Bienvenida
- Normativa de seguridad e higiene del laboratorio de bioseguridad
- Normativa de seguridad e higiene del laboratorio central
- Gestión de residuos siguiendo las directrices del hospital y del ICS
- Transporte de sustancias infecciosas
- Plan de emergencia interno y del ICS
- Plan de Prevención

d) Información necesaria para que la autoridad competente pueda evaluar los planes de respuesta en situación de emergencia elaborados de conformidad con el artículo 14 de la Directiva 98/81/CE.



PARTE C

DIRECCIÓN GENERAL DE
CALIDAD Y EVALUACIÓN
AMBIENTAL Y MEDIO NATURAL

COMISIÓN NACIONAL DE
BIOSEGURIDAD

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

Nº de Registro:

Nº de Notificación:

I. **RESPONSABLES DE LA ACTIVIDAD**

1) Entidad

Nombre: Fundación Privada Instituto de Investigación del Sida Caixa
Dirección postal: Ctra. del Canyet, S/N. 08916 Badalona (Barcelona)
CIF: G-60813227

2) Representante legal de la entidad

Nombre y apellidos: Bonaventura Clotet Sala
NIF: 46106081-M
Cargo: Director
Tel: 93 465 63 74
Fax: 93 465 39 68
Correo electrónico: bclotet@irsicaixa.es

3) Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos: Javier Martinez Picado // Nuria Izquierdo Useros
NIF: 46535782-C // 01933549-P
Cargo: Investigador Principal // Investigador Asociado
Tel: 93 465 63 74
Fax: 93 465 39 68
Correo electrónico: jmpicado@irsicaixa.es // nizquierdo@irsicaixa.es

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



Nombre y apellidos: Julià Blanco Arbués
NIF: 37326144L
Cargo: Responsable de Prevención de Riesgos Laborales
Tel: 93 465 63 74
Fax: 93 465 39 68
Correo electrónico: jblanco@irsicaixa.es

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

Nombre y apellidos: Javier Martínez Picado
NIF: 46535782-C
Cargo: Investigador Principal
Tel: 93 465 63 74
Fax: 93 465 39 68
Correo electrónico: jmpicado@irsicaixa.es

II. **DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD.**

1. Objetivo de la actividad:

Esta actividad tiene por objeto testar distintos agentes que estamos generando (anticuerpos monoclonales, nanogeles y nanopartículas) para verificar su efectividad para bloquear la interacción del receptor celular Siglec-1 expresado en células dendríticas con el Virus de la Inmunodeficiencia Humana de Tipo 1 (VIH-1). Con estos experimentos pretendemos identificar nuevos agentes terapéuticos que tengan potencial aplicación para disminuir la diseminación viral dentro del organismo mediada por células dendríticas.

Para alcanzar nuestro objetivo utilizaremos el aislado de laboratorio pNL4-3, cuyo plásmido hemos obtenido a través del repositorio del NIH. El plásmido se transfectará en células HEK-293 T mediante la técnica de fosfato cálcico. La transfección será transitoria y se procederá a la destrucción de las células 48 horas post transfección. El stock viral generado se cuantificará por ELISA midiendo la proteína viral p24 y se congelará para almacenarlo. El stock viral se empleará en ensayos de unión pulsando células dendríticas a 4°C y de captura viral pulsando dichas células a 37°C durante 4 horas. Tras la incubación, las células dendríticas pulsadas se lavarán, lisarán y se medirá el contenido de proteína p24 del VIH-1 asociado al lisado celular utilizando un ELISA. Por tanto, los ensayos planteados a tiempos tan cortos no implican la infección de las células dendríticas expuestas al virus, y solo miden las interacciones previas del virus en ausencia de replicación viral.

Todo el procedimiento se realizará en el laboratorio de bioseguridad de nivel 3 de la Fundación IrsiCaixa, habilitado para manipular virus infecciosos con el nivel de seguridad requerido, cumpliendo con las directrices del real decreto RD664/1997 sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo.

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 asociadas las actividades con los OMG).

La actividad durará 3 años, desde enero de 2017 hasta diciembre de 2019, período que cubre la financiación del proyecto asociado.



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.**

El organismo receptor es el Virus de la Inmunodeficiencia Humana de Tipo I (VIH-1), que tiene un tropismo exclusivamente humano. El virus replica en células del sistema inmune que expresan en receptor CD4 y los correceptores CCR5 o CXCR4. Dichas células son fundamentalmente los linfocitos T CD4, que se encuentran tanto en tejido linfóide como circulando en sangre periférica de los pacientes infectados. La patogénesis asociada a la infección por VIH-1 se manifiesta por el aumento de la carga viral en plasma y la pérdida progresiva de linfocitos T CD4. Cuando se alcanza una pérdida crítica de los niveles de linfocitos T CD4 es cuando aparecen las enfermedades características que definen el Síndrome de la Inmunodeficiencia Adquirida o SIDA.

b) **Organismo donante.**

El organismo donante también es el Virus de la Inmunodeficiencia Humana de Tipo I (VIH-1), y comparte las mismas características que el organismo receptor.

c) **Inserto.**

Tanto el inserto como el vector provienen del NIH Repository Reagent (<https://www.aidsreagent.org>), en forma de plásmido pNL4-3 (número de catálogo 114). El inserto dentro del vector dirige la síntesis de virus VIH-1 completos con capacidad replicativa e infecciosa, y por tanto su uso está confinado a nuestras instalaciones de seguridad de nivel 3. El fragmento 5' SmaI-EcoRI del DNA proviral NY5 (5' SmaI en secuencias flanqueantes hasta 3' EcoRI) y el fragmento 3' proviral LAV (5' EcoRI hasta 3' NruI en secuencias flanqueantes) se clonaron en el plásmido pUC18 en el sitio de restricción PvuII después de eliminar los lugares poli-linker. Las secuencias, tamaño y mapa de restricción se incluyen en la parte A.

d) **Vector.**

Vector de clonaje pUC18, según lo descrito en el apartado anterior.

e) **Organismo modificado genéticamente resultante.**

Es el virus VIH-1 NL4.3 de tropismo X4. El virus se genera tras la transfección transitoria de células HEK 293T, en un volumen de cultivo mínimo (10 ml) donde se acumulan las partículas virales que posteriormente se congelan a -80°C en alícuotas de 1ml. La transfección será transitoria y se procederá a la destrucción de las células 48 horas post transfección. El stock viral generado se cuantificará por ELISA midiendo la proteína viral p24. Dicho stock contendrá partículas virales de VIH-1 del aislado de laboratorio NL4-3 con capacidad para infectar células humanas que expresen el receptor T CD4 y el correceptor CXCR4 y replicar en ellas. Por ello su proceso de generación y uso queda confinado a las instalaciones del laboratorio de bioseguridad de nivel 3.

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

El Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1 (VIH-1) es el agente causante del SIDA (acrónimo de síndrome de inmunodeficiencia adquirida), que afecta solamente a humanos. Se dice que alguien padece de SIDA cuando su organismo, debido a la inmunodeficiencia provocada por el VIH, no es capaz de ofrecer una respuesta inmune adecuada contra las infecciones.



Cabe destacar la diferencia entre estar infectado por el VIH y sufrir SIDA. Una persona infectada por el VIH es seropositiva y pasaría a desarrollar un cuadro de SIDA cuando su nivel de linfocitos T CD4, células que ataca el virus, desciende por debajo de 200 células por microlitro de sangre.

Actualmente existen medicamentos, llamados antirretrovirales, que inhiben enzimas esenciales, la transcriptasa reversa, retrotranscriptasa, integrasa o la proteasa virales, bloqueando la replicación del VIH. De esta manera se frena el progreso de la enfermedad y la aparición de infecciones oportunistas, así que aunque el sida no puede propiamente curarse, sí puede convertirse con el uso continuado de esos fármacos en una enfermedad crónica compatible con una vida larga y casi normal.

g) Efectos para el medio ambiente.

No se han descrito

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).

La manipulación se realizará siempre en cabinas de bioseguridad clase II tipo A, centrífugas con buckets y tapas de seguridad y dentro del laboratorio de bioseguridad (LSB-3) con las características de una instalación recomendadas (Manual de Bioseguridad en el Laboratorio. Organización Mundial de la Salud, Ginebra 2005) para trabajar con organismos patógenos de tipo 3 (VIH/VHC). Por tanto, las medidas de confinamiento y control son las adecuadas.

b) Concentración y escala utilizadas.

Los stocks virales de VIH-1 NL43 de 10 ml se almacenan en viales de 1ml y tienen una concentración máxima de 1200 ng de antígeno viral p24 por 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).

Todo el procedimiento se realiza dentro de las instalaciones del laboratorio de bioseguridad de nivel 3 de la Fundación IrsiCaixa, habilitadas para el manejo de VIH-1. Se transfectarán 5×10^6 HEK 293 T con 10ug de DNA del plásmido pNL4-3 mediante la técnica de fosfato cálcico en cabinas de protección biológica y cultivo celular. Tras lavar el exceso de plásmido, se cultivarán las HEK 293 T en 10 ml de medio en un incubador habilitado específicamente para cultivar material infeccioso. Dos días después se recogerá el sobrenadante de cultivo procedente de células HEK 293T transfectadas con el plásmido pNL4-3 y se congelará a -80C en alícuotas de 1ml. La transfección será transitoria y se



procederá a la destrucción de las células 48 horas post transfección. El stock viral generado se cuantificará por ELISA midiendo la proteína viral p24, donde la concentración máxima no excede los 1200 ng de proteína viral p24 por ml de cultivo. El stock viral se empleará en ensayos de unión pulsando células dendríticas a 4°C y de captura viral pulsando dichas células a 37°C durante 4 horas. Tras la incubación, las células dendríticas pulsadas se lavarán, lisarán y se medirá el contenido de proteína p24 del VIH-1 asociado al lisado celular utilizando un ELISA. Por tanto, los ensayos planteados a tiempos tan cortos no implican la infección de las células dendríticas expuestas al virus, y solo miden las interacciones previas del virus en ausencia de replicación viral.

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

Los 10 ml procedentes de la transfección transitoria donde se almacena el VIH-1 NL4.3 se congelarán a -80°C en alícuotas de 1ml hasta su utilización en los experimentos descritos previamente. Tras su utilización, todo el material se destruirá por tratamientos inactivantes estándar habilitados en el laboratorio, tal y como se detalla en la documentación adjunta (Parte A).

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 ubicación del Laboratorio de Bioseguridad se indica en los planos adjuntos. El laboratorio no linda con ningún departamento del Hospital Germans Trias i Pujol (HGTiP).

Está situado en la 2ª planta del edificio maternal del HGTiP. En esta área del edificio no hay ingreso de pacientes. Las entradas están señalizadas con el símbolo de riesgo biológico.

Las conducciones de aire son independientes del resto de laboratorios. El laboratorio dispone de presión negativa y filtro absolutos Hepa H13. Además, dispone de una antesala con doble puerta en la que la apertura de las mismas nunca es simultánea.

El acceso al LBS-3 es restringido solo a personal autorizado siendo el sistema de entrada biométrico mediante reconocimiento de huella digital.

La temperatura de los laboratorios es de 21°C para el buen funcionamiento de los equipos y el confort de los trabajadores.

b) Condiciones en las que podría producirse un accidente.

Intrusión. El acceso al laboratorio de Bioseguridad y resto de laboratorios es restringido accediendo solo personal autorizado mediante sistema biométrico de huella digital. Existe un control de movimiento mediante cámaras de seguridad y un sistema de alarma de entrada y salida conectado en horarios no laborales, festivos y fin de semana.

Derrame de material biológico infeccioso. En caso de producirse un derrame, la mayor probabilidad es que ocurra dentro de una cabina de bioseguridad pudiendo afectar a los trabajadores del laboratorio de bioseguridad. Más improbable es que ocurra un derrame fuera de la cabina aunque siempre sería dentro del laboratorio de Bioseguridad. Esta incidencia podría ocurrir en caso de caída accidental durante el traslado de placas a un incubador. Ante cualquiera de estos casos existe un procedimiento de actuación incluido en la normativa de la institución al alcance de todos los trabajadores.

Uso inadecuado de equipos de riesgos. Se podría producir un accidente ante el uso impropio de determinados equipos (cabinas de bioseguridad, autoclave, centrifugas, tanques nitrógeno). Al trabajador se le proporciona la normativa de trabajo, seguridad e higiene que incluye el uso adecuado de los equipos. Se dispone del manual de uso de todos los equipos en papel y en pdf. Anualmente se imparte un curso formativo en riesgo laboral adaptado a nuestra actividad, instalaciones y equipos.

Emisión de agentes infecciosos.

Interior del área de contención. La probabilidad de que se produzca emisiones es muy baja dado que todo material infeccioso se manipula dentro de las cabinas de clase II. Podría ocurrir un fallo del funcionamiento de la cabina de seguridad, y en tal caso se activaría una alarma acústica que indica fallo de funcionamiento. La producción de



aerosoles, es un hecho bastante improbable en nuestras actividades, excepto quizás durante el uso de las centrifugas. Para evitar este riesgo se trabaja siempre con buckets con tapas selladas y así evitar accidentes de salpicaduras, emisión de aerosoles o rotura de tubos. No obstante, hay que remarcar que nuestro instituto centra su trabajo en la investigación del VIH/VHC siendo estos patógenos no trasmisibles por vía aérea.

Interior del área de contención. Es improbable dado que únicamente se extrae material infeccioso (siempre congelado y en contenedores de seguridad) fuera del laboratorio de bioseguridad para realizar envíos a otros centros donde hay establecidas colaboraciones. Todo material infeccioso del laboratorio de Bioseguridad a eliminar es previamente descontaminado mediante la autoclave.

Accidentes. En nuestro caso haría referencia a la exposición de un agente infeccioso mediante principalmente la entrada por vía percutánea (pinchazos, cortes o contacto con piel no intacta) o por salpicaduras a mucosas. Nuestra actividad actualmente no hace uso de material punzante.

Derrames de productos químicos. Las sustancias químicas utilizadas en el laboratorio de Bioseguridad son soluciones que por su concentración no entrañan peligro para la salud.

Incendio u otro tipo de emergencia que puedan ocasionar daños estructurales en LSB-3. En el laboratorio se estima una carga térmica de fuego baja.

Un incendio puede deberse a un fallo eléctrico de la instalación. La instalación eléctrica tiene sistema de seguridad en caso de fallos eléctricos.

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

Intrusión. El acceso la LSB-3 y resto de laboratorios es restringido. Acceso mediante sistema biométrico de huella digital. Existen cámaras de vigilancia y sistema de alarma de entrada/salida fuera activado fuera del horario laboral, festivos y fines de semana.

Derrame de material biológico infeccioso en el LSB-3/Emisión de agentes biológicos. La mayor probabilidad de que ocurra este incidente sería dentro de una cabina de bioseguridad. La instalación y los equipos son los adecuados para la contención y seguridad de los trabajadores y medio ambiente.

Detalle:

Instalación

- Presión negativa. Medidor de presión en la entrada del LSB-3
- Antesala con doble puerta
- Filtros absolutos Hepas H13

Equipos de laboratorio de contención

- Cabina de bioseguridad clase II tipo A con alarma acústica.
- Centrifugas con buckets y tapas de seguridad
- Autoclave con alarma acústica

Equipos de protección individual y colectiva

- Guantes. CE Cat. III
- Mascarilla quirúrgica. CE- EN 14683. Cat. II
- Batas quirúrgicas de protección. CE 0086
- Polainas quirúrgicas
- Pantalla protección
- Guantes termoprotectores. EN 407 y EN 388
- Guantes específicos antipinchazo y cortes. Ca. II EN 388 – EN 420.
- Delantal termo protector.
- Calzado cerrado. CE, norma EN-ISO-20347

Accidentes

Además de la obligatoriedad del uso de una indumentaria adecuada para acceder y trabajar en el LSB-3, se dispone de:



- Lavaojos y una ducha de emergencia
- Lavamanos específico en la antesala en caso de accidente
- Botiquín con material básico para primeros auxilios en la antesala
- Manual de procedimiento para el trabajo, higiene y salud
- Curso formativo de seguridad a todo nuevo trabajador
- Curso formativo anual en materia de prevención de riesgos laborales adaptado a nuestra actividad y tipo de instalación

Incendio u otro tipo de emergencia que puedan ocasionar daños estructurales en LSB-3.

- Detectores de humos conectados con la central de alarma del HGTiP
puertas de entradas conectadas al sistema la central de alarma del HGTiP
- Extintores de fuego (2 de CO2 y 2 de polvo)
- Puerta de emergencia en caso de evacuación rápida

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

Se adjunta protocolo interno de actuación en caso de emergencia en los laboratorios de IrsiCaixa y evacuación del edificio donde se describen los planes de emergencia y la normativa aplicada por el Instituto catalán de salud y del HGTiP.

DOCUMENTOS

- *Plan de emergencia IrsiCaixa (Manual de acogida IrsiCaixa 2016)*
 - *Plan de emergencia IrsiCaixa*
 - *Consignas Pau HGTiP*
 - *Normativa interna – ICS*
 - *Prevenió de Riscos laborals a l'ICS*
 - *PR-ACCIN-01. IRSICAIXA_Proced_inv_accid.*
 - *Medidas de Seguridad para la salud. Control de riesgos físicos. Tipos de accidente.*