



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

Nº de Notificación:

I. RESPONSABLES DE LA INSTALACIÓN

- 1) Entidad
Nombre: [Instituto de Parasitología y Biomedicina López Neyra \(IPBLN\)](#)
Dirección postal: [Avda. del Conocimiento, 17. 18016 Armilla \(Granada\) \(ESPAÑA\)](#)
- 2) Representante legal de la entidad
Nombre y apellidos: [Mario Delgado Mora](#)
NIF:
Cargo: [Director del Instituto](#)
Tel:
Fax:
Correo electrónico: direccion.ipbln@csic.es
- 3) Responsable científico de la actividad
Nombre y apellidos:
NIF:
Cargo:
Tel:
Fax: Correo electrónico:
- 4) Responsable de bioseguridad de la instalación
Nombre y apellidos: NIF:
Cargo:
Tel:
Fax:
Correo electrónico:
- 5) Indicar cuál de los anteriores actuará como persona de contacto: [Mario Delgado Mora](#)
- 6) Existencia de comités de bioseguridad y/o Comité de Seguridad y Salud: [Si](#)

(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 3 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 17 de la Ley 31/1995, de 8 de noviembre, de prevención de riesgos laborales).



SI NO

En caso afirmativo, especificar funciones del Comité:

Dar apoyo para el cumplimiento de la normativa vigente en materia de bioseguridad mediante una serie de acciones:

- Informar sobre dicha normativa
- Ayudar a determinar el nivel de contención de cada organismo y la idoneidad de las instalaciones donde manipularlos y almacenarlos
- Asesorar sobre los procedimientos administrativos necesarios para legalizar cada actividad
- Asesoramiento, prevención y formación de los trabajadores en riesgo biológico

Debe señalarse si se obtiene financiación del Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica 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: [Avda. del Conocimiento, 17. 18016 Armilla \(Granada\) \(ESPAÑA\)](#)

2) Localización:

- a) urbana
- b) suburbana
- c) extraurbana i) agrícola ii) industrial

3) Descripción:

- a) edificio aislado N° de Secciones
- b) parte de un edificio N° de Secciones **1**
- c) conjunto de edificios N° de Secciones

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



La única sección, denominada Laboratorio de Nivel de Contención Biológica 3 (NCB3), está constituida por 7 habitaciones o salas cuyo uso se describe más adelante:

- Esclusa de acceso y 1^{er} Cambio
- 2^{do} Cambio
- Tránsfer/ distribuidor
- Laboratorio P3:
- Boxes 1 y 2
- Cuarto Biowaste

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).

Ubicación laboratorio NCB3 en Planta

Distribución por habitaciones/dependencias

Finalidad de la sección o departamento:

- | | |
|------------------------------------|-------------------------------------|
| d) Laboratorio de investigación | <input checked="" type="checkbox"/> |
| e) Planta piloto o experimental | <input type="checkbox"/> |
| f) Planta industrial | <input type="checkbox"/> |
| g) Tratamiento después del proceso | <input type="checkbox"/> |
| h) Otro, especificar | |

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

SI NO

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

2) Nombre y formación del responsable de la sección:

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).

El Laboratorio NCB3 está situado en la planta baja del IPBLN y tiene 40,20 m² de superficie útil total distribuidos de la siguiente manera:



La primera habitación: “Esclusa de acceso y 1^{er} Cambio”, estará comunicada con el exterior por una puerta con enclavamiento electrónico que se desenclavará mediante reconocimiento de huella dactilar; en dicha puerta existen carteles indicadores de acceso restringido al personal autorizado y riesgo biológico. Está provista de una taquilla en la que el operario dejará enseres personales, ropa etc. así como pijamas textiles y calzado de laboratorio, ambos nominales que deberá ponerse. Ésta también contiene la compuerta exterior del SAS pasamateriales ventilado con UV. Superficie útil: 7,71 m²

La segunda habitación: “2^{do} Cambio”, presenta presión negativa y puerta con cierre autoenclavable. Está destinada a que el operador se provea de los equipos de protección individual (EPI) necesarios. Superficie útil: 1,20 m²

La tercera habitación: “Distribuidor/Tránsfer” zona con presión negativa y puerta autoenclavable donde convergen la ruta de entrada y de salida de operadores. Esta zona y las siguientes son consideradas biológicamente activas. Superficie útil: 3,15 m²

Cuarta Habitación: “Laboratorio P3”. Zona con presión negativa y puerta autoenclavable. Dispone de 1 ventanal (desprovisto de sistema de apertura) que da al pasillo exterior, desde donde se puede visualizar a los operadores que se encuentren dentro del laboratorio. Superficie útil: 12,28 m²

Está provista del siguiente equipamiento científico señalizado con el pictograma de riesgo biológico:

- 1 Autoclave
- 1 Microscopio Invertido
- 1 SAS Pasamateriales ventilado con UV (conectado con la esclusa de acceso)
- 2 Incubadores de CO₂
- 1 Frigorífico-Congelador
- 1 estufa
- 1 centrífuga y una minifuga

Quinta y sexta habitación: Boxes de trabajo 1 y 2: Habitaciones con la mayor depresión y provistas de una cabina de seguridad biológica tipo IIA cada una. Sus puertas de acceso no están enclavadas. En ellas se ubican armarios y cajoneras para albergar el material de laboratorio necesario. Superficie útil: 6,04 y 7,14 m² respectivamente

Séptima habitación: cuarto biowaste: habitación que contiene sistema de inactivación biológica de efluentes líquidos, así como material y equipamiento previsto para procedimientos de emergencia. Puertas no enclavadas. Superficie útil: 2,68 m²

GRADIENTES DE PRESIÓN



Para evitar posibles escapes de aire contaminado, así como contaminaciones cruzadas entre las diferentes estancias se establece un gradiente negativo de presiones diferenciadas adecuado.

Los valores indicados a continuación son relativos al exterior:

- Esclusa de acceso y 1^{er} Cambio: +15Pa. Dependencia sobre-presionada para impedir la entrada de contaminantes provenientes del exterior al laboratorio NCB3
- 2^{do} Cambio: -15Pa
- Tránsfer y Habitación Biowaste: -30Pa.
- Laboratorio P3: -45Pa
- Box 1 y 2 de trabajo: -55 Pa

El control de dicho gradiente se realiza mediante manómetros diferenciales existentes en las dependencias del laboratorio y los existentes en el cajón de filtración. Hay instalados indicadores de presión de las diferentes salas en el exterior, así como pilotos de alarma (óptico/acústica) que advierten de una posible igualación de presiones con el exterior.

PANELES PARED

Las divisorias están realizadas en panel con alma de espuma de poliuretano ignífuga de alta densidad con clasificación al fuego M1, entre dos chapas de acero galvanizado de 6/10mm., lacadas en polyester al horno 25µ y capacidad de soportar tratamientos tipo peroxidación debido a su pintura al horno

PANELES FALSO TECHO

Está realizado en panel de las mismas Especificaciones que el de pared. Permitirá el peso de los conductos y canalizaciones de paso de instalaciones, por lo que se habilitarán tensores y refuerzos mecánicos fijados al techo. Aloja y sustenta empotrados tanto luminarias como elementos de difusión de aire terminal. El sellado final entre paneles se realizará mediante cordón de silicona fungicida.

PAVIMENTO

Se ha previsto un suelo de PVC antideslizante para el laboratorio NCB3, el cual posee una resistencia mecánica adecuada para laboratorios.

ACABADOS SANITARIOS

En las uniones pared-pared o pared-techo se colocará un perfil sanitario de PVC con fijación por clip y sellados con silicona fungicida.

PUERTAS

Construida con núcleo de poliuretano entre dos chapas lacadas, de espesor 60 mm enrasada a ambos lados de la pared. Las puertas de las esclusas de personal (vestuarios) o materiales, estarán enclavadas eléctricamente mediante una cerradura electromagnética, de manera que se impida la apertura de una si la otra está abierta.



Todos los elementos que componen la puerta serán diseñados para facilitar su limpieza (cerradura, enclavamiento, bisagras, ventana).

TRATAMIENTO DE AIRE

Al estar el laboratorio clasificado como ISO 7 se instalarán filtros absolutos terminales en sala, de forma que podamos asegurar el nivel de partículas dentro de esta.

Se impulsará aire para mantener 25-30rev/h en el laboratorio y los SAS de cambio, el aire impulsado será 100% aire exterior a través de un equipo de tratamiento de aire ubicado en el falso techo encima de la sala, ubicado dicho equipo en la terraza superior del edificio.

FILTRACION

La difusión del aire en el interior de las zonas del laboratorio NCB3 será mediante filtros terminales absolutos H14.

El retorno se realiza con conducto chapa y llevará instalado un filtro de cambio seguro, para su filtración antes de expulsarlo al exterior, aunque en los retornos de las salas en cuestión también se hallan instalados filtros absolutos, los cuales se podrán cambiar desde el interior de la sala.

De esta manera las líneas de corriente de aire direccionan las partículas presentes en la sala y las arrastran hacia el retorno, evitando la acumulación de puntos sucios en la sala.

La red de impulsión se construirá con la siguientes etapas de filtración:

- Zona de contención biológica P3:
- Filtro previo EU-4. En unidad climatizadora.
- Filtración intermedia: filtro compacto de bolsas calidad F-9. En unidad climatizadora.
- Filtración absoluta mediante filtro H14 en elemento terminal de difusión.

En todo el área se realizará una extracción del 100% del aire, sin recirculación. El equipo de extracción estará doblado por motivo de seguridad, de modo que se active el segundo equipo en caso de avería del primero, tal y como prescribe la normativa. Las unidades extractoras se instalarán en cubierta. Caudal de extracción: 3.000m³/h.

Una vez que el aire ha realizado el barrido necesario en el interior de la sala, se extrae de esta, previo paso por un filtro absoluto (para evitar la salida de agentes patógenos que puedan contaminar) es dirigido a las unidades de extracción.(El sistema de extracción se ha doblado, de forma que podamos asegurar la depresión dentro de la sala).

Cabe comentar que justo antes de la subida de aire por conducto de retorno hasta la llegada del aire al equipo de extracción se vuelve a filtrar mediante un filtro “Bag in bag out”, denominado también de cambio seguro, el cual realiza una segunda filtración de seguridad antes de la llegada al equipo de extracción.



Se instalará doble ventilador de extracción para asegurar el grado de depresión de cada sala, en caso de avería de alguno de los ventiladores.

EXTRACTORES

Para extraer el aire del interior de la cada sala se ha utilizado una unidad de extracción independiente, se han elegido unas unidades extractoras de aire de las siguientes características:

Sección de entrada de aire.

- Sección de filtro primario de Viledón P-15/500, calidad G4, montado en V, velocidad máxima de paso 1 m/s.

- Unidad de ventilación con ventilador de media presión para montaje horizontal. Conjunto ventilador y motor con soportación y amortiguadores. De caudal adecuado a la sala a tratar.

Cabe comentar que, en la red de extracción, se instala un filtro de cambio seguro, para evita que en las operaciones de mantenimiento el operario se pueda contaminar con las sustancias retenidas durante la filtración

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).

El proyecto pretende trabajar con líneas mutantes del parásito de la malaria humana *Plasmodium falciparum* con la finalidad de estudiar la función de proteínas reguladoras de la expresión de genes implicados en el desarrollo y la virulencia del parásito. La utilización de líneas mutantes y en particular la utilización de la técnica CRISPR/Cas9 para la generación de dichas líneas, es la manera más idónea y ampliamente utilizada actualmente para estudiar la función de una proteína u otra molécula. Estas líneas se las modificará para ser deficientes para una determinada funcionalidad y esto permite determinar cómo de esenciales son ciertas proteínas y también para evaluar su potencial como posibles dianas para el desarrollo de vacunas y compuestos.

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

3) Descripción de las operaciones:

3.1. Microorganismos:

- a) escala experimental Volumen máximo: [Del orden de mililitros de cultivo](#)
- b) escala prueba piloto Volumen máximo:
- c) escala industrial Volumen máximo:

3.2. Número de Plantas:

3.3. Número de Animales:

4) Periodo estimado de duración de la actividad:

[2019-2021](#)

(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).

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

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

[Cultivo y obtención de microorganismos modificados genéticamente mediante distintas técnicas de biología molecular \(CRISPR/Cas9\)](#)

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. En el caso de centros españoles, indicar el número de notificación si se conoce. [Remítase al documento A referido a la Actividad](#)

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 aplicable¹ (*tipo de transporte, manejo y embalaje, documentación de acompañamiento e identificación o/y etiquetado*):

¹ Legislación vigente que afecta al transporte de OMG:

- **(ADR) Clase 6.2 (Materias infecciosas)** del Acuerdo Europeo de Transporte Internacional de Mercancías Peligrosas por Carretera y principales modificaciones
- **Reglamento (CE) N° 1/2005 del Consejo**, de 22 de diciembre de 2004, relativo a la protección de los animales durante el transporte y las operaciones conexas y por el que se modifican las Directivas 64/432/CEE y 93/119/CE y el Reglamento



Los OMG objeto de esta autorización van a ser utilizados exclusivamente dentro de las instalaciones de nivel 3 de contención biológica y no van a ser transportados fuera

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 2 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 (excepto en la esclusa de acceso, que es positiva)	
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 terminales H14 absoluto. Segundo sistema de filtración "bag in bag out"	

(CE) N° 1255/97. **Ley 32/2007, de 7 de noviembre**, para el cuidado de los animales, en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio (BOE núm. 268, 8.11.2007)

- **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 [Diario Oficial L 287 de 5.11.2003].
- **Artículo 18.2.c del Protocolo de Cartagena sobre Bioseguridad**. Documentación acompañamiento en el movimiento transfronterizo: <https://bch.cbd.int/protocol/>



Cabina de seguridad biológica	X	
<ul style="list-style-type: none"> Indicar el tipo y localización de la/s cabinas de seguridad biológica: 	2 Cabinas seguridad biológica tipo IIA Maxisafe 2020. Ubicadas en Boxes de trabajo	
Autoclave	X	
<ul style="list-style-type: none"> Indicar la localización del autoclave (dentro del edificio; dentro del laboratorio) 	Interior del laboratorio NCB3	
Normas de trabajo	SÍ	NO
Acceso restringido	X	
<ul style="list-style-type: none"> ¿Cómo se restringe el acceso? (ej. huella digital, tarjeta del personal autorizado, llave) 	Acceso por huella digital, obtenido tras formación específica, visita guiada y evaluación	
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	
El personal está obligado a ducharse antes de abandonar la zona controlada		X
Indumentaria de protección	X	
<ul style="list-style-type: none"> Indicar qué indumentaria de protección y EPIs se utilizan 	Bata, gorro, calzas, mascarilla y guantes (material desechable en todos los casos). Pijama y gafas de seguridad nominales y autoclavables.	
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) 	Personal Técnico Responsable de Servicio de Lavado y Esterilización. Solamente pijama textil, (el resto es material desechable y considerado residuo biológico)	
Espacio específico para la ropa de trabajo (percheros; taquillas)	X	



Cambio de ropa y calzado antes de entrar y salir de la instalación	X	
Control eficaz de roedores e insectos	X	
Residuos	SÍ	NO
Inactivación de los OMG en el material contaminado y en los residuos	X	
Inactivación de los OMG en los efluentes de los lavabos, desagües, duchas o efluentes similares	X	
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 establecen protocolos por escrito (técnicas y procedimientos de encendido, apagado y descontaminación de equipos) así como protocolos básicos de funcionamiento para diversas actividades y uso de instalación facilitando así el seguimiento del trabajo y garantizando la seguridad (ver documentación adjunta)

Programas de mantenimiento de aparatos e inspección y control del confinamiento

Se llevan a cabo revisiones periódicas de las cabinas de flujo laminar y de los incubadores de CO₂ por parte de una empresa de mantenimiento especializada en este tipo de instalaciones para asegurar el correcto funcionamiento de los aparatos. (ver documentación adjunta)

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.)

Protocolo de medidas de confinamiento para nivel de riesgo tipo III

- Superficies de trabajo resistentes a ácidos, álcalis, disolventes, desinfectantes y agentes de descontaminación y de fácil limpieza.
- Autoclave para inactivación del material contaminado dentro del propio laboratorio.
- Sistema de inactivación “Biowaste” de efluentes líquidos para neutralizar el riesgo biológico mediante tratamiento químico con hipoclorito sódico dentro del propio laboratorio
- Indumentaria de protección personal adecuada: pijama textil y calzado de laboratorio exclusivo y nominal, bata de laboratorio, gorro, gafas de protección, mascarilla y guantes todos ellos desechables.



- Separación de la zona propia de manipulación de material biológico (boxes de trabajo con cabinas de seguridad biológica IIA) de la zona de equipamiento científico
- Los microorganismos viables se mantienen en un sistema cerrado, aislado del entorno.
- Control de generación e inhalación de aerosoles mediante prácticas y protección adecuada
- Procesamiento adecuado de los residuos generados.
- Gradiente de presiones negativas que garantizan no haya escapes de material contaminado al medio ambiente exterior
- Control eficaz de roedores e insectos
- El laboratorio cuenta con ordenador portátil conectado a la red, para poder recibir y transferir datos. Asimismo, contiene todos los protocolos de ensayos y uso de equipos e instalación (reduciendo la entrada y salida de papel, material fácilmente contaminable)

Adopción de Buenas Practicas de Laboratorio

- Mantenimiento de la exposición del lugar del trabajo y del medio ambiente a cualquier microorganismo modificado genéticamente al nivel más bajo posible.
- Vestimenta y equipo personal de protección individual adecuados.
- Comprobación y mantenimiento adecuado de las medidas y equipos de control.
- Formación adecuada del personal.
- Instalaciones de limpieza y descontaminación.
- Prohibición de comer, beber, fumar y almacenar alimentos para consumo humano en la zona de trabajo.
- Prohibición de pipetear con la boca.
- Establecimiento de procedimientos de trabajo adecuados y utilización de medidas técnicas para evitar o minimizar la liberación de agentes biológicos en el lugar de trabajo.
- Medidas seguras para la manipulación y transporte de agentes biológicos dentro del lugar de trabajo.
- Disposición de desinfectantes y procedimientos específicos de desinfección en caso de que microorganismos modificados genéticamente se hayan esparcido.
- Establecimiento de planes para hacer frente a accidentes que incluyan agentes biológicos.
- Medidas de higiene compatibles con el objetivo de prevenir o reducir el transporte o la liberación accidental de un agente biológico fuera del lugar de trabajo.
- Medios seguros que permitan la recogida, el almacenamiento y la evacuación de residuos por los trabajadores, incluyendo la utilización de recipientes seguros e identificables, previo tratamiento adecuado si fuera necesario.

Programas de limpieza/desinfección/descontaminación

- Las instalación está diseñada para facilitar su limpieza.
- El laboratorio se ha de mantener ordenado, limpio y libre de material no relacionado con el trabajo y la experimentación.
- La limpieza general del laboratorio se lleva a cabo por una empresa privada por personal debidamente entrenado
- Diariamente el personal responsable se encarga de la limpieza adecuada de la zona de



trabajo con productos adecuados (alcohol etílico al 70% y germicida Virkon®).

- El protocolo de utilización de las cabinas de flujo laminar incluye la esterilización de éstas previo a su uso y posterior a éste con radiación UV. La superficie de trabajo se limpia además con un producto desinfectante tal como el alcohol etílico al 70% y germicida Virkon®
- Existirán procesos programados de limpieza de equipamiento por personal responsable para asegurar que no exista ningún tipo de contaminación
- En el caso de que se produjera un vertido accidental de material biológico, se recogerá de inmediato, descontaminando la superficie de trabajo y todo el material que en ese momento se encuentre dentro de la cabina.
- La instalación cuenta con un programa de desinfección por nebulización con peróxido de hidrógeno (H₂O₂) validado mediante indicadores químicos que garantizan la correcta dispersión del producto

Gestión de residuos (sistema utilizado para cada tipo de residuo y quién lo lleva a cabo)

- Residuos corrientes (no biológicos): este tipo de residuos se depositan en bolsas de autoclave para su esterilización en este medio. Una vez realizada la operación, los residuos pueden eliminarse como residuos asimilables a los urbanos. Realizado por el personal responsable
- Residuos sólidos biológicos especiales: en este tipo de residuos se incluyen materiales punzantes y cortantes como puntas de pipeta, restos de vidrio roto... que han estado en contacto con microorganismos. Estos residuos especiales se acumulan separadamente de todos los demás, en envases exclusivos rígidos e impermeables. Tras ello, el personal responsable los esterilizará mediante autoclavado.
- Residuos sólidos que han estado en contacto con microorganismos u OMGs: están constituidos por placas de petri, tubos de ensayo, placas multipocillo etc. Estos residuos se colocan en bolsas resistentes al autoclave para su esterilización en este medio. Una vez realizada la operación, los residuos pueden eliminarse como residuos asimilables a los urbanos. Realizado por el personal responsable
- Residuos biológicos líquidos: se inactivan mediante uso de planta "Biowaste" con lejía (hipoclorito sódico al 10%). A continuación, el recipiente donde se acumula el vertido se coloca en el autoclave para su esterilización. Una vez realizada esta operación, los residuos pueden eliminarse por el desagüe convencional. Realizado por el personal responsable

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:

El Plan de Actuación ante Emergencias del laboratorio NCB3 se integra en el Plan de Autoprotección del IPBLN del cual forma parte. El protocolo de actuación en caso de emergencia general, de este edificio, es conocido y en él figuran los procedimientos a realizar, el listado de las personas responsables en caso de



emergencia, los formularios para el control de la evacuación del edificio y los números telefónicos útiles en caso de emergencia

- 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.

La instalación no se encuentra próxima a fuentes de peligro potenciales y está ubicado en una zona climatizada, con temperatura regulable y dotada de sistema de eliminación de aire con control microbiológico mediante filtros HEPA del 99,9%.

Las posibilidades de una pérdida del confinamiento accidental son mínimas debido a los equipos y sistemas empleados en la manipulación del microorganismo y a los protocolos establecidos para la eliminación de los residuos, que son inactivados (por autoclavado o tratamiento con desinfectantes bactericidas de eficacia probada -hipoclorito sódico o Virkon®) previamente a su eliminación.. Por lo tanto, no se estiman peligros derivados de la ubicación de la instalación.

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

Existe vigilancia de las instalaciones mediante personal de seguridad y sistemas automatizados de detección de gases e incendios.

El acceso del personal a los laboratorios está restringido mediante carteles indicativos y puertas autoenclavables, realizándose mediante reconocimiento de huella personal en la esclusa de acceso. A partir de este punto todas las puertas del laboratorio tienen un sistema de enclavamiento secuencial, de manera que en todo momento se impide el contacto aéreo directo entre la zona biológicamente activa y la zona convencional y de ésta con el exterior.

Todo el personal que trabaja en las instalaciones dispone de la formación adecuada para trabajar con microorganismos tipo 3 y de los EPIs necesarios para evitar el contagio en caso de accidente (guantes de nitrilo, batas, gorros y calzas desechables, mascarillas FFP3 y gafas de protección).

Además de lo descrito anteriormente, existirá un set de equipamiento de protección individual constituido por mono completo, guantes, calzas, mascarilla, gafas y gorro para uso específico ante emergencias, así como paños de material absorbente para tratamiento de derrames.

En caso de grandes vertidos, existirá un sistema de aspiración por vacío para volúmenes mayores.

De igual modo, existirá un dispositivo de “verticalidad” que el operador deberá llevar siempre puesto, que ante situaciones de mareos, desmayos o cualquier otra que lleve a una pérdida de verticalidad mantenida en el tiempo, emite una señal de alarma

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

El IPBLN tiene asignado personal responsable adecuadamente formado para la vigilancia y control de las medidas de confinamiento.

El control de la climatización, ventilación y filtros HEPA es realizado diariamente por personal cualificado a través de sistemas automatizados que informan de las variaciones de presión y temperatura de la instalación.



La presión negativa del laboratorio NCB3 se comprueba continuamente mediante manómetros visibles ubicados a la entrada.

Los filtros HEPA de ventilación son renovados periódicamente o siempre que se detecte alguna irregularidad en el sistema de ventilación por empresa de servicios técnicos autorizada.

Una empresa de servicios técnicos autorizada revisa anualmente el funcionamiento de las cabinas de bioseguridad y realiza los cambios de filtros pertinentes.

d) Descripción de la información suministrada a los trabajadores.

Los requisitos para ser autorizado como usuario del laboratorio NCB3 son:

- Realizar una solicitud de autorización de uso del Laboratorio NCB3 del IPBLN al responsable de Bioseguridad.
- Someterse a los reconocimientos médicos previos y periódicos que dicte la legislación. Sólo podrán obtener autorización aquellos que den “Apto” en el reconocimiento médico realizado.
- Lectura del Manual de trabajo y posterior realización de un examen que deberá superar,
- Visita al Laboratorio NCB3 con el responsable del Servicio de Cultivos Celulares donde se le instruirá en los procedimientos aprendidos: procedimiento correcto de entrada y salida de la misma, conocer el equipamiento del que se dispone, normas de trabajo básicas, uso adecuado de EPI's etc.
- Firma de un documento acompañado de la firma del responsable científico donde se acepta que ha sido informado y que ha adquirido la formación necesaria para hacer un uso responsable de la instalación

Información necesaria para que la autoridad competente pueda evaluar los planes de respuesta en situación de emergencia elaborados de conformidad con el artículo 13 de la Directiva 2009/41/CE

El Plan de Autoprotección del IPBLN contempla que serán realizados simulacros de emergencia con una periodicidad máxima de un año para todo el personal del IPBLN

El Servicio de Prevención de Riesgos Laborales del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) realiza cursos específicos con formación en materia de riesgos biológicos con una frecuencia bienal para todos los trabajadores.

Los responsables de Bioseguridad y de Cultivos Celulares instruyen personalmente a cada trabajador usuario del laboratorio NCB3 sobre la utilización de los equipos y las prácticas de trabajo adecuadas para evitar accidentes y riesgos biológicos.

La comprensión y asimilación de conceptos de la documentación suministrada “Manual de Trabajo de Laboratorio NCB3 IPBLN”(documento adjunto) serán evaluadas mediante examen. Si el operador no supera dicho examen, no se le considerará apto para poder trabajar en el Laboratorio NCB3.

Además, en el laboratorio NCB3 se encuentran por escrito todos los protocolos de actividades a realizar, las instrucciones de todos los equipos a utilizar y un registro de actividades, incidencias etc. de todo el personal que acceda a él.



Se adjunta como anexo el Plan de Autoprotección (PAU) del IPBLN elaborado por el Servicio de Prevención Ajeno QuirónPrevención, donde se incluye toda la información referida al laboratorio NCB3 resaltada en color.



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

Nº de Notificación:

I. INFORMACIÓN GENERAL

1) Responsables de la actividad

a) Entidad

Nombre: [Instituto de Parasitología y Biomedicina López-Neyra \(IPBLN\)](#)

Dirección postal: [Avda. del Conocimiento, 17. 18016 Armilla, Granada \(Spain\)](#)

b) Representante legal de la entidad

Nombre y apellidos: [Mario Delgado Mora](#)

NIF

Cargo: [Director del Centro](#)

Tel:

Fax:

Correo electrónico: direccion.ipbln@csic.es

c) Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos:

NIF: Cargo:

Tel:

Fax:

Correo electrónico:

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

Nombre y apellidos:

NIF:

Cargo:

Tel:

Fax:

Correo electrónico: Indicar cuál de los anteriores actuará como persona de contacto:

[Mario Delgado Mora, Director del Centro](#)

- 2) Debe señalarse si para la ejecución de esta actividad se recibe financiación del Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica. Esta información es necesaria para determinar si la actividad se encuentra dentro del supuesto del



artículo 3.2.b) de la Ley 9/2003 y, por lo tanto, la competencia recae en la Administración General del Estado.

SI NO

3) Instalación donde se va a desarrollar la actividad de utilización confinada (*cumplimente si previamente ha sido comunicada/autorizada para este tipo de actividades; en caso contrario, cumplimente el Formulario Parte B*).

a) Fecha de comunicación / autorización de la instalación:

b) Número de referencia del expediente:

II. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD:

1) Finalidad de la actividad:

El proyecto pretende trabajar con líneas mutantes del parásito de la malaria humana *Plasmodium falciparum* con la finalidad de estudiar la función de proteínas reguladoras de la expresión de genes implicados en el desarrollo y la virulencia del parásito. La utilización de líneas mutantes y en particular la utilización de la técnica CRISPR/Cas9 para la generación de dichas líneas, es la manera más idónea y ampliamente utilizada actualmente para estudiar la función de una proteína u otra molécula. Estas líneas se las modificará para ser deficientes para una determinada funcionalidad y esto permite determinar cómo de esenciales son ciertas proteínas y también para evaluar su potencial como posibles dianas para el desarrollo de vacunas y compuestos.

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

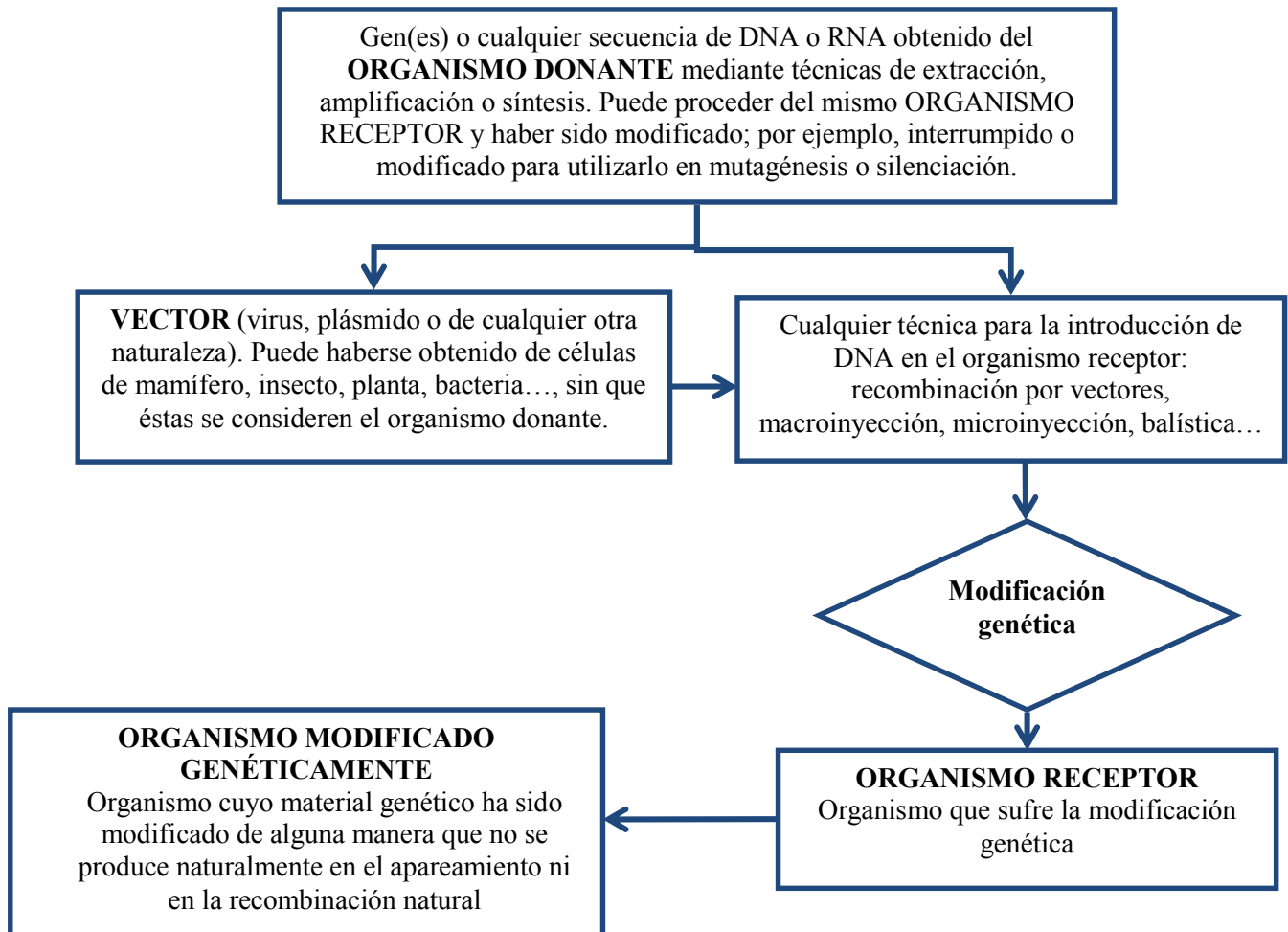
Tipo 2

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:

Taxonomía: *Plasmodium falciparum*

Nombre común: Parásito de la malaria humana

2) Descripción de los métodos de identificación y aislamiento.

a) Técnicas de aislamiento: Campana de flujo laminar,

b) Técnicas de identificación: Microscopía, Genética por PCR

c) Marcadores genéticos: *msp*, *glurp*, entre otros.

d) Marcadores fenotípicos: N/A

e) Estabilidad genética: N/A

3) Posibles modificaciones genéticas anteriores: N/A

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:

Según RD 664/1997 Sobre la "protección de los trabajadores contra riesgos biológicos" *P. falciparum* (humanos) es considerado un organismo con nivel de riesgo 3* y de igual modo lo son las líneas celulares del parásito modificadas genéticamente.

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.*): *P. falciparum* (humanos) es considerado un organismo con nivel de riesgo 3*

a) ¿De qué modo se manifiesta la patogenicidad?

Plasmodium falciparum es el agente causante de la malaria. Esta enfermedad se manifiesta a las 2-3 semanas tras la infección como fiebres altas, anemias, dolores musculares y articulares, delirios, entre otros síntomas. Sin tratamiento pueden desencadenar en parálisis y disfunciones orgánicas, y en su forma más grave la muerte.



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

N/A

SI NO

Porqué:

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

N/A

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

Investigo con *Plasmodium falciparum* desde el año 2013, como investigador postdoctoral hasta el año 2015, y desde entonces hasta la fecha como responsable de laboratorio.

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

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

NO

En caso afirmativo:

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

- i) esporas
- ii) endosporas
- iii) quistes
- iv) esclerocios
- v) esporas asexuales (hongos)
- vi) esporas sexuales (hongos)
- vii) otros, especifíquese

- c) Otros factores que afectan la capacidad de supervivencia: N/A

- d) Posibles nichos ecológicos: N/A

- e) Tiempo de generación en ecosistemas naturales: N/A

- 10) Efectos posibles sobre el medio ambiente:



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

b) Interacciones con otros organismos y efectos sobre éstos: N/A

11) Distribución geográfica y tipo de ecosistema en el que se encuentra el organismo receptor: [África](#)

12) Hábitat natural del organismo: [Humano y mosquitos *Anopheles*](#).

IV. INFORMACIÓN RELATIVA AL ORGANISMO DONANTE

[No trabajamos con organismos donantes](#)

1) Nombre científico:

Taxonomía:

Nombre común:

2) Tipo de material genético obtenido del organismo donante:

3) Método de obtención:

a) Extracción

b) PCR

c) Síntesis *in Vitro*

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

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

SI NO

a) En caso afirmativo, especificar para que organismos:

i) seres humanos

ii) animales

iii) plantas

b) ¿De qué modo se manifiesta la patogenicidad?

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



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

V. **INFORMACIÓN RELATIVA A LA MODIFICACIÓN GENÉTICA**

1) Tipo de modificación genética:

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

2) Finalidad de la modificación genética:

Alterar la función de una proteína del parásito reguladora de la expresión de genes implicados en la virulencia y la transmisión.

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

CRISPR/Cas9

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

SÍ NO

En caso afirmativo:

a) Tipo e identidad del vector:

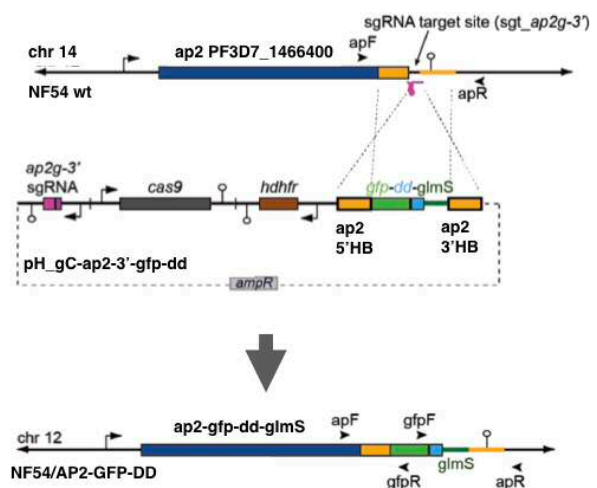
Plásmidos

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*):

Usamos varios plásmidos con mapas de restricción distintos. Todos ellos portan el gen de resistencia a ampicilina para ser propagados y amplificados en *E. coli* DH5alfa y diversos marcadores para selección en *Plasmodium*: blastocidina, glucosamina. Los detalles de los plásmidos que se van a utilizar y el protocolo CRISPR/Cas9 para la generación de la línea mutante se encuentran publicados: Science, 2018, 359.6381: 1259-1263.



d) Gama de hospedadores del vector:

Plasmodium falciparum

e) Características de la movilidad del vector:

i) factores de movilización

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

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

5) Información del inserto:



Usamos multitud de insertos distintos (guide RNAs), todos ellos para remplazar el gen endógeno por otro modificado que nos permite expresar de manera inducible copias de genes de Plasmodium.

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

[Ver diagrama](#)

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

c) Descripción del método utilizado para la transformación:

[CRISPR/Cas9 y electroporación.](#)

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

[Ver diagrama.](#)

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

[Ver diagrama.](#)

f) ¿El inserto ha sido secuenciado completamente?

[Si](#)

g) ¿Contiene secuencias que no son necesarias para la función deseada? En caso afirmativo, especifíquese.

[No](#)

h) ¿Contiene secuencias cuya función es desconocida? En caso afirmativo, especifíquese.

[No](#)



VI. INFORMACIÓN RELATIVA AL ORGANISMO MODIFICADO GENÉTICAMENTE

1) Estado y expresión del material genético introducido:

a) ¿Es un plásmido libre?

Sí

En caso afirmativo:

i) Número de copias:

Alto número de copias.

ii) ¿El plásmido recuperado corresponde al construido? Sí

b) ¿Está integrado en los cromosomas nucleares?: Sí

En caso afirmativo:

i) número de copias: una o dos copias

ii) localización cromosómica: variable dependiente del gen diana

iii) secuencias colindantes: las del sitio de inserción

iv) ¿La inserción activa o inactiva la expresión de otros genes?: la metodología está diseñada para minimizar los efectos “off-target” inespecíficos.

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*):

iv) Determinación de la estructura del inserto (secuenciación)

v) Transcripcionales (nivel de síntesis de mRNA)

vi) Traduccionales (nivel de síntesis de proteínas)

Aportar toda la documentación al respecto.

Los detalles se encuentran publicados: [Science, 2018, 359.6381: 1259-1263.](#)



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

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

N/A

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

Sí, puesto que a veces se inactiva la expresión de genes esenciales mediante CRISPR/Cas9.

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

Sí, puesto que a veces se inactiva la expresión de genes esenciales mediante CRISPR/Cas9.

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

No

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

No

f) Marcadores específicos del OMG

Resistencias a antibióticos: BLA, Glucosamina

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

N/A

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

N/A

5) Descripción de métodos de identificación y aislamiento empleados:

a) Técnicas utilizadas para la identificación del OMG:

N/A



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

N/A

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: [Del orden de mililitros de cultivo.](#)
- b) Número de plantas: N/A
- c) Número de animales: N/A

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).

[2019-2021](#)

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

[Identificar posibles dianas de acción de fármacos/vacunas y para el bloqueo de la transmisión frente a la malaria. Estudiar cómo Plasmodium falciparum se adapta a su hospedador humano y vector regulando la expresión de genes de virulencia y transmisión a lo largo de su ciclo vital](#)

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. En el caso de centros españoles, indicar el número de notificación si se conoce:

[Las muestras llegarán crío congeladas a las instalaciones del IPBLN, y serán custodiadas a -80°C hasta su análisis.](#)

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*):

Transporte en hielo seco con una empresa especializada de transporte (FEDEX) que se encarga de la documentación e identificación de acuerdo con la legislación vigente.

- 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*):

Según normativa del Centro. El cultivo de Plasmodium se llevará a cabo siguiendo protocolos estandarizados en el campo de estudio tal y como se detalla en el siguiente enlace: https://www.beiresources.org/portals/2/MR4/Methods_In_Malaria_Research-6th_edition.pdf

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

El cultivo in vitro se de las líneas mutantes se llevará a cabo en el IPBLN. El IPBLN cuenta con laboratorios de seguridad nivel 3 (NCB3) y ha sido acreditado por la Dirección General de Relaciones Laborales y Seguridad y Salud Laboral de la Consejería de Empleo (Junta de Andalucía) "para el uso de agentes biológicos de grupo 3 (RD 664/1997)" con referencia de expediente N° 2016/GR/01. Las medidas aplicadas seguirán la normativa del Centro específica en esta materia.

Las infecciones experimentales se llevarán a cabo en las instalaciones e insectario de una empresa colaboradora capacitada y dotada con todas las instalaciones para operar al nivel de BSL3 y cuentan con todas las evaluaciones de riesgo necesarias, aprobaciones de bioseguridad, monitoreo y seguimiento, protocolos de actuación y procedimientos operativos estándar para el manejo de los OMGs.

VIII. INFORMACIONES ADICIONALES RELATIVAS A LA UBICACIÓN DE LA INSTALACIÓN

- 1) Proximidad a fuentes de peligro potenciales: NO
- 2) Descripción de las condiciones climáticas predominantes:
- 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 será desarrollada en el laboratorio de cultivos NCB3 del IPBLN**

¹ Legislación vigente que afecta al transporte de OMG:

- **(ADR) Clase 6.2 (Materias infecciosas)** del Acuerdo Europeo de Transporte Internacional de Mercancías Peligrosas por Carretera y principales modificaciones
- **Reglamento (CE) n° 1/2005** del Consejo, de 22 de diciembre de 2004, relativo a la protección de los animales durante el transporte y las operaciones conexas y por el que se modifican las Directivas 64/432/CEE y 93/119/CE y el Reglamento (CE) n° 1255/97.
- **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 [Diario Oficial L 287 de 5.11.2003].
- **Artículo 18.2.c del Protocolo de Cartagena sobre Bioseguridad.** Documentación acompañamiento en el movimiento transfronterizo: <https://bch.cbd.int/protocol/>



segura. Muy pocos centros en Europa tienen la posibilidad de infectar a los mosquitos con parásitos de la malaria humana, y la empresa colaboradora es el único centro en España con las infraestructuras necesarias. Los estadios del parásito en el mosquito solamente es infectivo el estadio esporozoito que se encuentra en las glándulas salivares a las dos semanas tras la infección del mosquito. Previamente a la disección y para evitar el contagio, los mosquitos se matan por congelación a -80° durante 5'. Existe una mínima posibilidad de contagio por cortes o mala praxis en la manipulación de agujas y material punzante, no encontrando posibilidad de contagio de la enfermedad de persona a persona si no es por estos medios. Además, en el caso de que ocurra cualquier incidente durante la manipulación de material potencialmente infectivo, se procederá a la asistencia por personal médico y a la administración de tratamiento anti-malaria preventivo. Los experimentos descritos que implican contacto con mosquitos vectores se llevarán a cabo íntegramente en las instalaciones de dicha empresa específicamente habilitadas para ello. Las medidas encaminadas a reducir la potencialidad de contagio por Plasmodium, irán dirigidas a disminuir la picadura de mosquitos, ya que al criocongelar las muestras éstas ya no son infectivas y se elimina toda posibilidad de contagio posterior. En todo momento el personal que se encuentre manipulando y en contacto con mosquitos vectores aplicará las medias de protección establecidas por el centro en cuanto a protección individual, esterilización y prevención conforme con la normativa europea e internacional vigente. El científico responsable de las actividades y el personal responsable de laboratorio, además de su larga experiencia en el trabajo con Plasmodium e infección de mosquitos, ha realizado los cursos de prevención de riesgos laborales en sus respectivos centros. Una vez obtenidas las muestras se procederá a un protocolo de criocongelación, eliminando la potencialidad de contagio de dichas muestras. Las muestras criocongeladas no infectivas serán enviadas al IPBLN en Granada para su análisis posterior mediante técnicas de secuenciación masiva y PCR convencional y cuantitativa.

2) Equipamiento de seguridad (especifíquese):

En el caso del IPBLN el equipamiento de seguridad es conforme a la normativa del Centro. Información detallada en la parte B relativa a la Instalación

En el caso del insectario y salas de infección de mosquitos en las instalaciones de la empresa colaboradora, toda el área NCB3 está protegida por un sistema de doble puerta. El área en si misma está confinada y separada por un area de desinfección. Solo personal autorizado puede acceder a las instalaciones. Dentro de este espacio es obligatorio el uso de bata, doble guante, mascarilla y vestimenta completa que no deje ninguna parte del cuerpo descubierta para minimizar los riesgos de picaduras. Previamente a la salida se procede a un protocolo de desinfección y se desecha la vestimenta de laboratorio utilizada.

3) Descripción de la información suministrada a los trabajadores:

Según normativa del Centro. Información detallada en la parte B relativa a la Instalación

4) Planes de emergencia:

Según normativa del Centro. Información detallada en la parte B relativa a la Instalación



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

Nº de Notificación:

I. RESPONSABLES DE LA ACTIVIDAD

1) Entidad

Nombre: [Instituto de Parasitología y Biomedicina López Neyra \(IPBLN\)](#)

Dirección postal: [Avda. del Conocimiento, 17. 18016 Armilla, Granada \(Spain\)](#)

Representante legal de la entidad

Nombre y apellidos: [Mario Delgado Mora](#)

NIF:

Cargo: [Director del Centro](#)

Tel:

Fax:

Correo electrónico: direccion.ipbln@csic.es

2) Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos:

Cargo

Tel:

Fax:

Correo electrónico:

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

Nombre y apellidos:

NIF:

Cargo:

Tel:

Fax: 958181632

Correo electrónico:

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

[Mario Delgado Mora. Director del Centro.](#)

II. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD.

(En el caso de que se notifiquen varias actividades de tipo 1, deberá rellenarse este apartado y adjuntar un cuadro resumen en que se recojan todas las actividades, según el modelo que figura en el anexo).

1) Objetivo de la actividad:



Estudio de la función de proteínas reguladoras de la expresión de genes implicados en el desarrollo y la virulencia del parásito de la malaria humana *Plasmodium falciparum*. Para ello es necesario trabajar con líneas mutantes del parásito que carezcan de dicha proteína o tengan disminuida su función. La utilización de la técnica CRISPR/Cas9 para la generación de dichas líneas, es la manera más idónea y ampliamente utilizada actualmente para generar líneas mutantes. El procedimiento nos permitirá determinar cómo de esenciales son ciertas proteínas y también para evaluar su potencial como posibles dianas para el desarrollo de vacunas y compuestos. El protocolo para la generación de las líneas mutantes ya ha sido publicado por nuestros colaboradores en el proyecto de investigación pertenecientes al “Swiss Tropical and Public Health Institute” (Swiss TPH) (Science, 2018, 359.6381: 1259-1263).

2) Duración prevista de la actividad: 2019-2021

(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).

II. 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).

(En el caso de actividades de tipo 1 se incluirá en este apartado un listado de los principales organismos y material genético utilizados (organismos receptores, organismos donantes, insertos, vectores y organismos modificados genéticamente resultantes), así como la evaluación del riesgo para la salud humana y el medio ambiente de los mismos).

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 modificado genéticamente es una línea de laboratorio de referencia del parásito de la malaria humana *Plasmodium falciparum* NF54

b) Organismo donante.

N/A

c) Inserto.

Genes codificantes de proteínas reguladoras de la expresión genética del parásito.

d) Vector.

Plásmidos

e) Organismo modificado genéticamente resultante.

Línea de laboratorio de *P. falciparum* con los genes que codifican para diferentes proteínas reguladoras sustituidos por otro gen homólogo pero modificada su



secuencia con varios insertos que permite inducir y regular los niveles de expresión de dicha proteína para estudiar la función y seleccionar las células transformadas.

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

La línea del parásito modificada genéticamente se utilizará para la infección experimental de mosquitos en el laboratorio. Para ello se utilizarán instalaciones confinadas con nivel de bioseguridad 2/3 y siguiendo protocolos de actuación y funcionamiento de acuerdo con la legislación europea vigente. No se prevén efectos para las salud humana, sanidad animal y vegetal.

- g) Efectos para el medio ambiente.

No se prevén. Las líneas del parásito modificadas genéticamente no serán en ningún momento liberadas. Se mantendrán confinadas y su uso está restringido a experimentación en el laboratorio.

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).

Las actividades se realizarán en instalaciones de bioseguridad de nivel 2/3 durante el cultivo en el IPBLN (BSL3), los protocolos de biología molecular (BSL2) y la infección experimental y disección de mosquitos (BSL3) en las instalaciones de la empresa colaboradora en el proyecto de investigación.

- b) Concentración y escala utilizadas.

N/A

- 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).

Trabajo en habitación con confinamiento tipo 3, siempre en campana de flujo laminar según las normas del IPBLN.



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

En el IPBLN el cultivo *in vitro* de las líneas modificadas genéticamente se llevará a cabo en laboratorios de bioseguridad nivel 3 y conforme a las Buenas Prácticas de Laboratorio del centro.

Las infecciones experimentales de mosquitos con las líneas modificadas genéticamente se llevarán a cabo en las instalaciones BSL3 de la empresa colaboradora (Madrid), conforme a la normativa del centro y de acuerdo con la legislación europea vigente en materia de experimentación con agentes biológicos de riesgo.

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.)

N/A

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

Según la Organización Mundial de la Salud, la malaria o paludismo es una enfermedad potencialmente mortal causada por parásitos del género *Plasmodium* que se transmiten al ser humano por picadura de mosquitos hembra infectados del género *Anopheles*. Las medidas dirigidas a reducir el riesgo de transmisión de dicha enfermedad tienen como objetivo reducir el riesgo de picaduras de mosquitos, potencialmente transmisores de la enfermedad. Los estadios del desarrollo del parásito durante el cultivo “*in vitro*” no son infectivos para el hombre. Por lo tanto no se esperan infecciones accidentales durante el trabajo que se llevará a cabo en el IPBLN y que se restringirá exclusivamente al cultivo “*in vitro*”.

En el caso de los estadios del parásito en el mosquito solamente es infectivo el estadio esporozoito que se encuentra en las glándulas salivares a las dos semanas tras la infección del mosquito. Previamente a la disección y para evitar el contagio, los mosquitos se matan por congelación a -80° durante 5'. Por último, existe una mínima posibilidad de contagio por cortes o mala praxis en la manipulación de agujas y material punzante, no encontrando posibilidad de contagio de la enfermedad de persona a persona si no es por estos medios. Además, en el caso de que ocurra cualquier incidente durante la manipulación de material potencialmente infectivo, se procederá a la asistencia por personal médico y a la administración de tratamiento anti-malaria preventivo.

Los experimentos descritos que implican contacto con mosquitos vectores se llevarán a cabo íntegramente en las instalaciones de la empresa colaboradora específicamente habilitadas para ello. Las medidas encaminadas a reducir la potencialidad de contagio por *Plasmodium*, irán dirigidas a disminuir la picadura de mosquitos, ya que al criocongelar las muestras éstas ya no son infectivas y se elimina toda posibilidad de contagio posterior. En todo momento el personal que se encuentre manipulando y en contacto con mosquitos vectores aplicará las medias de



protección establecidas por el centro en cuanto a protección individual, esterilización y prevención conforme con la normativa europea e internacional vigente.

El científico responsable de las actividades y el personal responsable de laboratorio, además de su larga experiencia en el trabajo con *Plasmodium* e infección de mosquitos, ha realizado los cursos de prevención de riesgos laborales en sus respectivos centros. Una vez obtenidas las muestras se procederá a un protocolo de criocongelación, eliminando la potencialidad de contagio de dichas muestras. Las muestras criocongeladas no infectivas serán enviadas al IPBLN en Granada para su análisis posterior mediante técnicas de secuenciación masiva y PCR convencional y cuantitativa.

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

Según normativa del Centro. Información detallada en la parte B relativa a la Instalación

- d) Planes de emergencia.

Según normativa del Centro. Información detallada en la parte B relativa a la Instalación