



PARTE A

DIRECCIÓN GENERAL CALIDAD Y
EVALUACIÓN AMBIENTAL

Tipos 3 y 4

COMISIÓN NACIONAL DE
BIOSEGURIDAD

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

Nº de Notificación:

I. INFORMACIÓN GENERAL

1) Responsables de la actividad

a) Entidad

Nombre: Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA); Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA); Ministerio de Ciencia e Innovación

Dirección postal: Carretera de Algete a El Casar de Talamanca s/n; Valdeolmos - Alapardo; 28130 Madrid

b) Representante legal de la entidad

Nombre y apellidos: Esther Esteban Rodrigo

NIF: 05271582M

Cargo: Directora del INIA

Tel:

Fax:

Correo electrónico: esther.esteban@inia.es

c) Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos: Noemí Sevilla

NIF: 02616302Y

Cargo: Investigador IP

Tel: 91 6202300

Fax: 91 6202247

Correo electrónico: sevilla@inia.es

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

Nombre y apellidos: Laura Pérez Palancar

NIF: 53043241C

Cargo: Jefe de Área de Animalario y Seguridad Biológica

Tel: 91 6202300

Fax: 91 6202247

Correo electrónico: laura.perez@inia.es



- e) Indicar cuál de los anteriores actuará como persona de contacto: Laura Pérez Palancar
- 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 ☐

Si la respuesta a la pregunta anterior es **SI**, debe justificarlo especificando¹:

- Nombre de la convocatoria: Retos Investigación 2018
 - Referencia del Proyecto y referencia IP del mismo:
RTI2018-094616-B-100. IP: Noemí Sevilla Hidalgo y Verónica Martín García
 - Organismo financiador: Ministerio de Ciencia e Innovación
- 3) Instalación donde se va a desarrollar la actividad de utilización confinada
- a) Fecha de comunicación / autorización de la instalación: Existe autorización de uso de Instalación tipo 3. La instalación de tipo 3 del CISA-INIA (notificación A/ES/00/I-01), en la que se va a llevar a cabo la actividad, ya ha sido autorizada con anterioridad por el Consejo Interministerial de Organismos Modificados Genéticamente (CIOMG) mediante resolución con fecha 04/12/2001.
- b) Número de referencia del expediente: notificación A/ES/00/I-01

II. **DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD:**

- 1) Finalidad de la actividad:

El adenovirus humano 5 defectivo en replicación (Ad5), se propone como vector vacunal para enfermedades víricas en Sanidad Animal. El Ad5 tiene un espectro de huésped bastante amplio, son capaces de infectar cualquier célula quiescente y no se integra en el genoma de la célula infectada. El Ad5 está modificado de tal forma que no es capaz de replicar en la célula infectada ya que tiene delecionada parte del genoma, las regiones E1 y E3. Estos caracteres le dan una seguridad alta como vector vacunal. Asimismo, admite fragmentos de DNA de hasta 30 Kb y la expresión del mismo de manera estable.

El uso de los Ad5 recombinantes expresan proteínas virales que juegan un papel importante en la protección frente a la infección vírica para la que se desarrolla. La inmunogenicidad de tales vectores adenovirales es muy alta, y es por ello que es una herramienta muy ventajosa en el desarrollo de vacunas. De manera concreta, se propone su uso en investigación para vacunas

¹TASAS

Están exentos del pago de la tasa los casos en los que se cumplan dos requisitos, que la actividad se realice en el marco de los Planes Estatales de Investigación Científica y Técnica y de Innovación; y que se desarrolle por una institución, ente u órgano público.



frente al virus de la lengua azul (BTV por sus siglas en inglés), expresando las proteínas VP2 y VP7.

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).

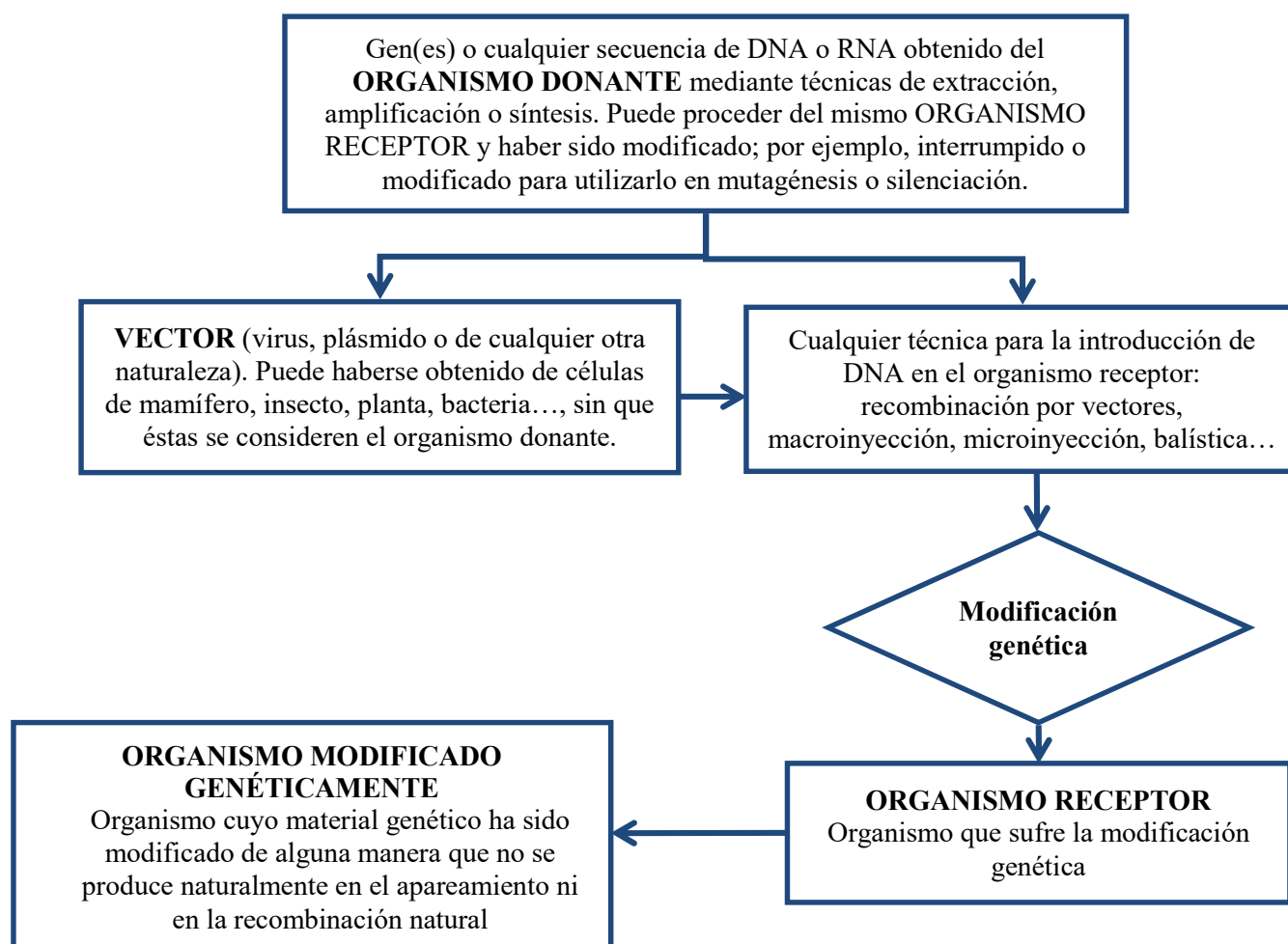
Tipo 1 ☐

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: Familia Adenoviridae

Nombre común: Adenovirus humano tipo 5

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

a) Técnicas de aislamiento:

Crecimiento en cultivos celulares y recogida en sobrenadante de células infectadas

b) Técnicas de identificación: PCR

c) Marcadores genéticos: -

d) Marcadores fenotípicos: -

e) Estabilidad genética: Muy estable al ser un virus DNA

3) **Posibles modificaciones genéticas anteriores:**

NO

4) **¿Se considera patógeno el organismo receptor?**

SI ☒

NO ☐

5) **En caso afirmativo, especificar para qué clase de los organismos (*seres humanos, animales, plantas*) se considera patógeno este organismo, vivo o muerto, y/o sus productos extracelulares:**

La forma sin modificar del adenovirus humano son seres humanos

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

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

Infección vías respiratorias y conjuntivitis.

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



SI X NO

Porqué: No se puede revertir la falta de una proteína, que en el caso que nos ocupa es lo que le falta al vector.

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

SI.

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

El grupo de investigación del INIA-CISA que manipulará el OMG posee una dilatada experiencia en trabajos de investigación, desarrollo y actividades científicas y técnicas

8) 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:

d) Posibles nichos ecológicos:

e) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:

9) Efectos posibles sobre el medio ambiente:

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



b) Interacciones con otros organismos y efectos sobre éstos:

10) Distribución geográfica y tipo de ecosistema en el que se encuentra el organismo receptor:
Se encuentra en todo el mundo

11) Hábitat natural del organismo:

Humanos

IV. INFORMACIÓN RELATIVA AL ORGANISMO DONANTE

1) Nombre científico: Virus de la lengua azul

Taxonomía: Orbovirus

Nombre común: Virus de la lengua azul

2) Tipo de material genético obtenido del organismo donante:

Genes que codifican las proteínas VP7 y VP2

3) Método de obtención:

a) Extracción ☐

b) PCR ☒

c) Síntesis *in Vitro* ☐

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

Proteínas estructurales de la cápsida (VP7 y VP2)

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

SI X NO

a) En caso afirmativo, especificar para que organismos:

i) seres humanos ☐

ii) animales ☒

iii) plantas ☐

b) ¿De qué modo se manifiesta la patogenicidad?

Por diversos signos clínicos que incluyen pirexia, lengua azul, inflamación de nódulos y en algunos casos la muerte por hemorragia



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

NO

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

NO

V. INFORMACIÓN RELATIVA A LA MODIFICACIÓN GENÉTICA

1) Tipo de modificación genética:

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

2) Finalidad de la modificación genética:

Atenuar completamente el adenovirus

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

Deleción génica

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

SI ☒ NO ☐

En caso afirmativo:

- a) Tipo e identidad del vector: Se señala más abajo
- b) Si se trata de un virus:

Es defectivo en replicación SI ☒ NO ☐

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

El vector aceptor es pLP-Adeno-X-PRLS (Clontech).

Archivo adjunto con todos los detalles.



d) Gama de hospedadores del vector:

Todos los animales y humanos

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?

NO

5) Información del inserto:

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

Documentos adjuntos con las secuencias de los insertos y mapas de restricción

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

Los insertos son obtenidos mediante RT-PCRs del RNA viral extraído de células infectadas el mismo. Cada inserto es una secuencia de DNA que codifica su proteína específica, cada una con su función: VP2 y VP7 proteínas estructurales de la cápsida siendo la primera la que contiene los mayores epítomos antigénicos frente a los que se obtienen anticuerpos neutralizantes y la segunda se postula como desencadenante de la respuesta T.

c) Descripción del método utilizado para la transformación:

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

Ya descrito

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

Ya descrito

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? NO



VI. INFORMACIÓN RELATIVA AL ORGANISMO MODIFICADO GENÉTICAMENTE

1) Estado y expresión del material genético introducido:

- a) ¿Es un plásmido libre? NO

En caso afirmativo:

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

- b) ¿Está integrado en los cromosomas nucleares?: NO

En caso afirmativo:

- i) número de copias:
- ii) localización cromosómica:
- iii) secuencias colindantes
- iv) ¿La inserción activa o inactiva la expresión de otros genes?:

- c) Si se trata de un virus:

- 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.

Nos remitimos a los artículos publicados que adjuntamos: Martín et al. Plos One 2015. “*Protective Efficacy in Sheep of Adenovirus-Vectored Vaccines against Bluetongue Virus Is Associated with Specific T Cell Responses*”

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



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

No se encapsula en células, sólo puede dar una ronda de replicación porque le faltan 2 proteínas necesarias para ello.

- b) ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta al modo o tasa de reproducción? En caso afirmativo, especifíquese: Sí, no se puede reproducir más que en células in vitro que le provean de las proteínas que le faltan para su replicación in trans.
- 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, no es patógeno ni para hombre ni para animales.
- 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:

Proteína roja fluorescente

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

Es totalmente estable después de 100 pases.

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

NO

5) Descripción de métodos de identificación y aislamiento empleados:

- a) Técnicas utilizadas para la identificación del OMG:

PCR y secuenciación y fluorescencia

- 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: 50 ml
- b) Número de plantas:
- c) Número de animales:

3) Periodo previsto para la actividad de utilización confinada:

3 años

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

Vacunación frente al virus de la lengua azul

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:

El vector utilizado como OMG es comercial pLP-Adeno-X-PRLS (Clontech).

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 aplicable² (*tipo de transporte, manejo y embalaje, documentación de acompañamiento e identificación o/y etiquetado*):

² 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/>



No procede

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*):

Una vez obtenidos los OMGs mediante ingeniería genética se amplifican en células HEK-293 que proporcionan las proteínas necesarias en *trans* sembradas en p150 (10) y se purifican mediante procesos de centrifugación, congelación, descongelación, mediante gradientes de cloruro de cesio si se considera necesario y se almacenan a -80°C.

Los títulos alcanzados varían entre 10^8 partículas infectivas a 10^{12} en los mejores casos.

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

La zona de contención biológica de 10.824 m², posee unas características arquitectónicas y funcionales reconocidas internacionalmente para la consecución de la bioseguridad.

La característica principal del laboratorio es proporcionar un grado de estanqueidad total para evitar la liberación al medio externo de cualquier agente patógeno sobre el que se esté llevando a cabo alguna línea de investigación.

Para llevar a cabo unas correctas medidas de seguridad, el Centro está diseñado siguiendo unos aspectos arquitectónicos, funcionales y buenas pautas de trabajo adecuados e integrados.

Dentro de los aspectos arquitectónicos y estructurales, el Centro está construido en hormigón armado hidrófugo, cuyo interior está pintado con pintura epoxídica para posibilitar las operaciones de descontaminación. Existen también ventanas blindadas de seguridad.

Todas las entradas a boxes y diferentes zonas o laboratorios, así como las de emergencia, presentan de puertas con cerradura de seguridad y ajuste neumático.

El Centro presenta un modelo tipo “sandwich” donde las zonas de trabajo (laboratorios, animalario y entrada y salida de personal) se localizan en una planta intermedia. En la planta superior se encuentra todo el sistema de filtración de Alta Eficacia del aire y la planta inferior está habilitada para los procesos de gestión de residuos sólidos y efluentes y para la entrada y salida de animales y material mediante sistemas SAS y Airlocks.

Para asegurar un funcionamiento correcto incluso bajo situaciones de emergencia, todos los dispositivos de seguridad se encuentran instalados de forma redundante (duplicados) o por triplicado.

Dentro de las características funcionales, se encuentran:

- El tratamiento del aire y ventilación estando Las condiciones termo-higrométricas se encuentran reguladas en todo momento. La humedad relativa se mantiene a niveles reducidos



(35%) para así evitar que agentes biológicos aerotransportables queden fijados en codos y rugosidades del sistema de circulación del aire.

- Existe establecido en toda la zona Biocontenida, un mantenimiento de la presión negativa respecto a la atmosférica en gradiente diferencial unidireccional de flujo continuo en laboratorios y en cascada en boxes de experimentación de pasos de ente 25 y 35 Pa, generado en extracción dinámica, consiguiendo que el aire siempre circule de zonas teóricamente menos contaminadas a más contaminadas.

El 100% del aire que entra vuelve a salir, en ningún momento se recircula aire.

- El aire de salida es filtrado mediante un sistema simple o doble seriado de filtros HEPA H14 (High efficiency Particulate Air) que consta de una malla filtrante con paso de poro de 99.995% para partículas de máximo poder de penetración en superficie (MPPS) (0.12 μm -0.20 μm).

Existen diferentes zonas de filtración de salida independientes correspondientes con distintas secciones del laboratorio, de esta forma en caso de problemas puede evaluarse la efectividad de la zona afectada por separado.

- El control y tratamiento de residuos líquidos generales tiene lugar en la planta inferior del Centro.

Con carácter previo se realiza una separación del 100% de los sólidos conformados presentes en el efluente y el 50% de los sólidos en suspensión.

Posteriormente se trata el efluente mediante una esterilización fisicoquímica en 3 reactores de 3 m³ controlando temperatura, presión y pH.

La temperatura se eleva por encima de 136°C durante un tiempo aproximado de 22 minutos. La fase química se realiza mediante la inyección de peróxido de hidrógeno durante el tratamiento térmico.

Existe un sistema adicional de tratamiento de efluentes en casos de emergencia por tratamiento químico.

- Para el control y tratamiento de sólidos biocontaminados existe un horno crematorio pirolítico (en parada técnica), diferentes autoclaves de vapor y la presencia de sistemas de descontaminación química (SAS o Airlocks) a base de peróxido de hidrógeno gas o mediante ducha química superficial. Actualmente una empresa gestora acreditada, retira los residuos sólidos generados

A pesar de todos los recursos tecnológicos y de ingeniería, el buen funcionamiento del área de biocontención se culmina con una correcta actuación del personal trabajador correctamente formado, adoptando de forma obligada medidas de prevención de riesgos laborales.



- *Control de entrada y salida del laboratorio*

La entrada al laboratorio está controlada y supervisada rigurosamente. Sin acreditación correspondiente, no está permitido el acceso. Los visitantes han de ir acompañados en todo momento por el personal de Seguridad Biológica.

Una vez dentro es necesario pasar por un vestuario para liberarse de toda la ropa y objetos personales antes de acceder a la zona biocontenida.

El acceso a la zona de Alta Contención Biológica (NCB3), presenta un riesgo especial para los trabajadores por lo que a esta zona sólo puede acceder personal especialmente formado y autorizado para trabajar en estas condiciones.

Una serie de vestuarios a la entrada y duchas a la salida aseguran la descontaminación obligatoria del personal.

Cada persona que abandone el laboratorio deberá seguir escrupulosamente unas pautas de descontaminación entre las que se incluyen la obligación de tomar una ducha de agua de 3 minutos.

Bajo ningún concepto es posible extraer cualquier objeto de dentro del laboratorio sin la descontaminación pertinente.

- *Cumplimiento de procedimientos de trabajo y seguridad*

Resulta imprescindible por parte de los trabajadores, el cumplimiento de los procedimientos de trabajo (métodos, procedimientos normalizados de trabajo, instrucciones para aseguramiento de calidad, etc.) existentes y por lo tanto la información sobre los riesgos de los productos y operaciones, y las medidas de seguridad y protección a aplicar.

Dentro de ellas, está especialmente controlado el uso obligatorio de equipos de protección individual (EPI), para evitar de forma accidental, inhalaciones, ingestiones, cortes, pinchazos, arañazos, mordeduras o picaduras cuando se enfrentan a situaciones especiales de riesgo biológico.

Para ello el trabajador es formado, informado y acepta dejando constancia documental del cumplimiento de las normas y cuarentenas establecidas (se adjunta formato), destacando:

- Las normas que señalan la protección de las heridas y lesiones de las manos antes de iniciar la actividad laboral.
- Las normas que limitan o prohíben el trabajo directo con animales y/o manejo de equipos contaminados al personal que presenta lesiones cutáneas que no se pueden cubrir.
- La utilización constante de guantes de protección en la manipulación de muestras biológicas, objetos, materia o superficies contaminados con fluidos biológicos, etc.



- La prohibición de comer, beber, fumar, aplicarse cosméticos o llevar lentes de contacto en las áreas de trabajo.
- La obligación del uso de batas de protección, mascarillas y protección ocular (entre otras) en aquellas operaciones que pueden implicar salpicaduras de sangre o fluidos.
- El seguimiento estricto de las instrucciones que contemplan la actuación en caso de accidente o incidente en el que intervenga la presencia de un agente biológico.
- El seguimiento de las situaciones de riesgo adicional que podría suponer a aquellos trabajadores especialmente sensibles (patologías previas, trastornos inmunitarios, embarazo, lactancia, discapacidad, etc.).
- El uso de ropa de trabajo especial como pijamas, camisetas, monos, ropa interior, zuecos o zapatillas, botas, etc.
- El cambio de ropa en los accesos y salidas a la zona de alta seguridad.

De igual manera y en cumplimiento de la legislación vigente, los trabajadores que vayan a desarrollar cualquier actividad en la zona de Contención, se encuentran obligados a recibir formación para el desarrollo de sus tareas que incluyen los siguientes aspectos: agentes biológicos a los que están expuestos y grupo de riesgo al que pertenecen, prácticas de trabajo seguras, características y uso correcto de los equipos de protección individual [R.D. 664/1997].

- *Establecimiento de cuarentenas*

Finalmente y en cumplimiento de la legislación y normativa internacional de la OIE y la FAO, todo trabajador de la zona de Contención está sujeto a cuarentenas especiales entendiendo estas como el espacio de tiempo que transcurre entre el abandono de la zona de Riesgo y todo contacto con animales sensibles de contraer enfermedades desarrolladas en el Centro.

Estas cuarentenas varían entre los 3 y 5 días mínimos.

De igual manera que con los equipos de protección individual, el trabajador deja constancia documental de cumplimiento de esta circunstancia (se adjunta formato).

El box de experimentación donde se va a desarrollar las actividades con OMGs del SARS-CoV 2, además de las medidas reflejadas, ofrece:

- Inactivación de residuos en CSB mediante procedimientos normalizados
- Inactivación de contenedores en las duchas de box
- Autoclaves de doble frontera animalario/laboratorios y 2º interior NCB3/ exterior NCB3



- Validaciones microbiológicas de todos los procesos de biodescontaminación por gas y calor mediante *Geobacillus stearothermophilus* en población de 10^6
- Equipo de 8 personas de técnicos especializados de seguridad biológica

VIII. INFORMACIONES ADICIONALES RELATIVAS A LA UBICACIÓN DE LA INSTALACIÓN

1) Proximidad a fuentes de peligro potenciales:

El CISA está ubicado a 700 m de la localidad de Valdeolmos que presenta una baja densidad de población.

No existen próximos, explotaciones ganaderas, cotos, reservas de caza,

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

- El laboratorio está equipado con medios e infraestructura de biocontención superiores a los establecidos para las operaciones confinadas de tipo 3, en la legislación de aplicación y normativas nacionales e internacionales.
- La Instalación se encuentra validada por empresa externa, inspeccionada y declara como nivel 3 de contención biológica por el Instituto Regional de Seguridad y Salud en el Trabajo de la CAM, auditada interna y externamente en riesgo biológico por empresas ajenas, cualificada anualmente por empresa especializadas en CSB y filtración y verificada por el equipo propio de seguridad biológica periódicamente de forma rutinaria y frente a operaciones de mantenimiento correctivo.
- Se dispone de procedimientos de bioseguridad por actividades tales como, investigadores, animalario, seguridad biológica, mantenimiento, limpieza, vigilancia perimetral y equipo médico, donde se especifican las normas de bioseguridad para descontaminaciones, gestión de residuos, operaciones de mantenimiento correctivo, envíos y recepción de muestras, transporte interior, uso de airlocks y SAS, etc.
- Se dispone de un programa mensual, bimestral, trimestral, cuatrimestral semestral y anual de actuaciones de verificación y seguimiento de instalaciones críticas,
- Se dispone de documentos de control de acciones, trabajos y seguimiento de parámetros de bioseguridad,
- Se dispone de estación informática de control y seguimiento de parámetros esenciales de bioseguridad e infraestructura de mantenimiento redundante (interior NCB3-exterior),
- Se dispone de estación informática de seguimiento de parámetros para tratamiento de efluentes redundante (interior NCB3 y exterior).



- Se dispone de redundancia en suministro eléctrico con dos líneas de alta tensión, dos transformadores de baja autoconmutados, dos grupos electrógenos y dos UPS /SAI,
- Todas las operaciones de mantenimiento preventivo se encuentran verificadas.
- Se realiza tratamiento de residuos “in situ” y exterior por gestor autorizado.
- La instalación dispone de un plan de emergencias de actuación en caso de accidente biológico y plan de evacuación sobre incidentes en incendios, aviso de bomba, accidente biológico, químico y evacuación de accidentados.

2) Descripción de las condiciones climáticas predominantes:

Clima continental-mediterráneo con primaveras y otoños húmedos e inviernos y veranos secos,

Con fuerte gradiente de temperaturas estacional.

Viento predominante N.O.

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

La Instalación se encuentra autorizada para trabajos con OMG Tipo 3 (A/ES/00/I-1) con fecha de Resolución de 5 de diciembre de 2000 por la Dirección General de Calidad y Evaluación Ambiental; Subdirección General de Impacto Ambiental y Prevención de Riesgos; Secretaría General del Ministerio de Medio Ambiente (nº registro salida 8443).

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

1) Adopción de las Buenas Prácticas de Laboratorio:

El personal tiene experiencia en trabajos de laboratorio con la infraestructura específica

2) Formación del personal adscrito:

El personal actuante ha sido formado antes de iniciar la actividad mediante un curso teórico práctico sobre Bioseguridad en contención 3 en el laboratorio y Animalario específico.

Fueron sometidos a test de comprensión.

El personal recibe un curso de reciclaje en bioseguridad anualmente.

3) Programas de limpieza/desinfección/descontaminación:

Limpieza: Se dispone de personal entrenado específico de limpieza para áreas NCB3 comunes.

Se dispone de personal entrenado y acreditado en trabajos de animalario



Se dispone de procedimientos de desinfección, descontaminación y esterilización que son llevados a cabo por personal técnico especializado en bioseguridad (Técnicos Superiores de Laboratorio y Titulados Superiores en Ciencias)

4) Programas de mantenimiento de aparatos para el confinamiento:

Llevado a cabo por personal especializado en mantenimiento 24 horas / 365 días año

5) Programas de inspección y control del confinamiento:

Llevado a cabo por técnicos especializados en Seguridad Biológica.

X. GESTION E INACTIVACIÓN DE RESIDUOS

1) Encargado de la gestión de residuos:

- | | | | | |
|-------------------------------------|----|-------------------------------------|----|--------------------------|
| a) gestión interna: | SÍ | ☒ | NO | ☐ |
| b) gestión por una empresa externa: | SÍ | ☒ | NO | ☐ |

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

TRAGSATEC- HIBISA

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

In situ: Sólidos

Dos ciclos por autoclave de vapor 134°C - 18 minutos

Tratamiento químico superficial por ducha química o gas en SAS o Airlocks

Tratamiento químico por inmersión en Dunk Tank

Líquidos:

Tratamiento termo-químico de efluentes

Aire:

Filtración HEPA H14 simple o doble seriada.

Descontaminación por inyección de gas (formaldehído o peróxido de hidrógeno gas) antes de su retirada de caja.- Sistema adicional bag in – bag out

2º Tratamiento del filtro por autoclave de vapor antes de su salida del NCB3



Exterior: Una vez tratados “in situ”, retirada de vidrio y en su caso de residuos biosanitarios especiales o clase II por gestor acreditado para tratamiento en incineración o autoclave de vapor.

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

1) Condiciones en las que podría producirse un accidente:

Indicadas en Plan de Evacuación (se adjunta)

2) Equipamiento de seguridad (especifíquese):

Reflejados en Plan de Evacuación

3) Descripción de la información suministrada a los trabajadores:

Manuales de bioseguridad por actividad (laboratorio, animalario, etc.);

Plan de Evacuación

Procedimientos de Bioseguridad

Evaluación de riesgo (a disposición de trabajadores)

4) Planes de emergencia:

Presentado en Protección Civil y expuesto en el acceso a la zona NCB3 para información a personal específico.

Las acciones del Plan de Emergencia son llevadas a cabo por personal CISA-INIA de Dirección, de Seguridad Biológica para descontaminación de Instalaciones y de mantenimiento para control o parada de equipamiento auxiliar (calderas, bombas, equipos de frío o torres de refrigeración, etc.), bajo indicación y supervisión de la Directora Técnica.



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

Nº de Notificación:

I. RESPONSABLES DE LA ACTIVIDAD

a) Entidad

Nombre: Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA); Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA); Ministerio de Ciencia e Innovación
Dirección postal: Carretera de Algete a El Casar de Talamanca s/n; Valdeolmos - Alapardo; 28130 Madrid

b) Representante legal de la entidad

Nombre y apellidos: Esther Esteban Rodrigo
NIF: 05271582M
Cargo: Directora del INIA
Tel:
Fax:
Correo electrónico: esther.esteban@inia.es

c) Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos: Noemí Sevilla
NIF: 02616302Y
Cargo: Investigador IP
Tel: 91 6202300
Fax: 91 6202247
Correo electrónico: sevilla@inia.es

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

Nombre y apellidos: Laura Pérez Palancar
NIF: 53043241C
Cargo: Jefe de Área de Animalario y Seguridad Biológica
Tel: 91 6202300
Fax: 91 6202247
Correo electrónico: laura.perez@inia.es

e) Indicar cuál de los anteriores actuará como persona de contacto: Laura Pérez Palancar



II. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD.

(En el caso de que se notifiquen varias actividades de tipo I, 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:

El adenovirus humano 5 defectivo en replicación (Ad5), se propone como vector vacunal para enfermedades víricas en Sanidad Animal. El Ad5 tiene un espectro de huésped bastante amplio, son capaces de infectar cualquier célula quiescente y no se integra en el genoma de la célula infectada. El Ad5 está modificado de tal forma que no es capaz de replicar en la célula infectada ya que tiene delecionada parte del genoma, las regiones E1 y E3. Estos caracteres le dan una seguridad alta como vector vacunal. Asimismo, admite fragmentos de DNA de hasta 30 Kb y la expresión del mismo de manera estable.

El uso de los Ad5 recombinantes es expresan proteínas virales que juegan un papel importante en la protección frente a la infección vírica para la que se desarrolla. La inmunogenicidad de tales vectores adenovirales es muy alta, y es por ello que es una herramienta muy ventajosa en el desarrollo de vacunas. De manera concreta, se propone su uso en investigación para vacunas frente al virus de la lengua azul (BTV de sus siglas en ingles) expresando las proteínas VP2 y VP7.

2) Duración prevista de la actividad:

3 años

III. EVALUACIÓN DE RIESGO

(Para llevar a cabo dicha evaluación se tendrá en cuenta el procedimiento establecido en el Anexo III de la Directiva 2009/41/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 6 de mayo, relativa a la utilización confinada de microorganismos modificados genéticamente y la Decisión de la Comisión 2000/608/CE, de 27 de septiembre, relativa a las notas de orientación para la evaluación de riesgo).

1) Identificación de las propiedades nocivas del OMG, en función de las características del:

NO tiene propiedades nocivas

(Desarrollar con la extensión que proceda, siguiendo el orden propuesto).

- a) Organismo receptor.
- b) Organismo donante.



- c) Inserto.
- d) Vector.
- e) Organismo modificado genéticamente resultante.
- f) Efectos para la salud humana y la sanidad animal y vegetal.
- g) Efectos para el medio ambiente.

2) Clasificación inicial del organismo modificado genéticamente:

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

- | | |
|--------|-------------------------------------|
| Tipo 1 | ☐ |
| Tipo 2 | ☐ |
| Tipo 3 | ☒ |
| Tipo 4 | ☐ |

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

a) Características de la/s actividad/es (medidas de confinamiento y control, y exposición humana y ambiental).

La actividad se va a llevar a cabo en un área NCB3 dotada de toda la infraestructura científica necesaria.

El OMG estará confinado a este espacio y no saldrá en ningún momento del mismo.

Los animales de experimentación (ratones), se ubicarán en un box dotado de las medidas de seguridad convencionales y presenta:

- Ubicación en espacio NCB3,
- Presión negativa,
- Filtración HEPA,
- Conexión a Grupo electrógeno y UPS).
- Acceso al animalario independiente a través de “prerom” de doble puerta con apertura por huella,
- Puertas de acceso a área de box estancas por junta activa (neumáticas),
- Vestuario interior por box limpio –sucio
- Ducha de descontaminación exclusiva por arrastre y dilución (agua)
- Puertas secundarias de acceso a espacio de box estancas por junta estática,



- Cámaras de vigilancia en box y ojo de buey para vigilancia presencial,
- Presión negativa en 30 Pa mínimo respecto a pasillo de animalario y de 45Pa de este respecto a exterior,
- Doble filtración HEPA en aire de extracción,
- Valvulería automática “airtigh” en impulsión,
- Drenajes con conexión directa a líneas de tratamiento de efluentes por sistema termoquímico validado física y microbiológicamente con carácter anual y microbiológicamente con carácter trimestral,
- Seguimiento de parámetros de biocontención de la Instalación NCB3 por control informático duplicado (interior-exterior), dotado de sistemas de alarma con comunicación por in situ y por e mail,
- suministro eléctrico triple (dos líneas de alta tensión, dos centros de transformación (alta-media), dos grupos electrógenos, dos UPS/SAI,
- Presencia de personal de mantenimiento correctivo, preventivo y predictivo, 24 horas día; 365 días /año.

El riesgo de contaminación indoor/outdoor por estas razones es prácticamente inexistente

El nivel de biocontención aplicado excede en determinados parámetros el exigido por la legislación para las operaciones confinadas de tipo 3.

El servicio de Bioseguridad verifica, vigila y comprueba periódicamente a nivel interno todos los métodos y sistemas de inactivación biológica y esterilización mediante la utilización de microorganismos testigo utilizando diferentes métodos.

Se dispone de procedimientos escritos de bioseguridad para cualquier tipo de operación donde se especifican las normas de bioseguridad, equipos de protección individual necesarios, limpiezas y biodescontaminaciones, cualificaciones y validaciones físicas y microbiológicas, traslado de muestras, envíos y paquetería, accesos de personas, animales y objetos independientes, establecimiento de cuarentenas y gestión de residuos, entre otros

Se imparte curso específico para animalario teórico y práctico antes de iniciar la actividad.

Se realizan seminarios periódicos

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

b) Concentración y escala utilizadas.

Volumen máximo 50 ml. Título máximo entre 10^8 - 10^{12}

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).



Supervivencia del OMG y efectos sobre el entorno nulas. No se encapsida en células, sólo puede dar una ronda de replicación porque le faltan 2 proteínas necesarias para ello.

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

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

5) Determinación del riesgo en el caso de que se produzca una liberación accidental:

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

- El Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA) se encuentra ubicado a 700 metros de la localidad de Valdeolmos.

Valdeolmos presenta una densidad de población escasa (< 1000 habitantes)

Se asienta en una penillanura a una altitud de 685 m sobre el nivel del mar

Se encuentra rodeado de tierras de cultivo de secano (trigo, centeno, avena) y nos dispone cercana, ninguna explotación ganadera. Es zona CEPA.

Presenta un conjunto de Instalaciones reunidas en un solo edificio subdividido en área administrativa, zona NCB2 y zona NCB3

Actualmente trabajan alrededor de 170 personas en las diferentes áreas.

b) Condiciones en las que podría producirse un accidente.

Indicadas en el Plan de emergencias y evacuación

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

Explicados anteriormente y desarrollados en el Plan de emergencias y evacuación y en la parte A (anexo de documentación correspondiente a la solicitud)

d) Planes de emergencia.

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