



**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 BIOLOGÍA MOLECULAR SEVERO OCHOA (CSIC-UAM)**

Dirección postal: **C/ NICOLAS CABRERA 1, 28049 MADRID**

b) Representante legal de la entidad

Nombre y apellidos: **LOURDES RUIZ DESVIAT**

NIF: **05253811J**

Cargo: **DIRECTORA**

Tel: **911964424**

Fax:

Correo electrónico: **direccion@cbm.csic.es**

c) Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos: **MANUEL FRESNO ESCUDERO**

NIF: **51697249B**

Cargo: **Catedrático de Universidad Autónoma de Madrid**

Tel: **34 91 196 4565**

Fax:

Correo electrónico: **manuel.fresno@uam.es; mfresno@cbm.csic.es**

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

Nombre y apellidos: **GEMA CAPARRÓS DE LA JARA**

NIF: **05432793D**

Cargo: **RESPONSABLE DE BIOSEGURIDAD**

Tel: **911964537**

Fax:

Correo electrónico: **gcaparros@cbm.csic.es**

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



NÚRIA GIRONÈS (ngirones@cbm.csic.es) como responsable de la plataforma de modelos preclínicos de infección y patogénesis del proyecto COVTRAVI-19-M Y GEMA CAPARRÓS (gcaparros@cbm.csic.es).

- 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:

Expresiones de interés para la realización de proyectos de I+D en materia de respuesta a COVID-19 financiados por el FEDER – recursos REACT-UE.

-Referencia del Proyecto y referencia IP del mismo:

Plataformas y modelos preclínicos para el abordaje multidisciplinar en COVID-19 y en respuesta a futuras pandemias. Acrónimo: COVTRAVI-19-CM.

IP.: MAUEL FRESNO ESCUDERO

-Organismo financiador:

FEDER – RECURSOS REACT-UE

- 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:

Cultivos 27/07/2017 y Animalario 06/11/2017

b) Número de referencia del expediente:

Cultivos A/ES/17/I-22 y Animalario A/ES/17/I-23

II. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD:

- 1) Finalidad de la actividad:

La actividad a realizar es uno de los objetivos del proyecto COVTRAVI-19-CM que se enfoca en avances en el Conocimiento, Tratamiento y Vigilancia de la infección por SARS-CoV-2 dentro de los proyectos de I+D en materia de respuesta a COVID-19 financiados por el FEDER – recursos REACT-UE. Estudiará los mecanismos patogénicos provocados por el virus para identificar dianas

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.



terapéuticas de las secuelas de la enfermedad, el desarrollo de nuevos antivirales e inmunomoduladores. Incluye 29 grupos independientes de la UAM encargados de llevar a cabo diferentes objetivos y el desarrollo de plataformas basadas en esas 3 líneas de investigación, y van a contribuir con sus ideas /reactivos /compuestos/ modelos animales al desarrollo de las plataformas y objetivos. Además de los resultados directos que se obtengan de las muestras, permitirá engranar el funcionamiento de un sistema transdisciplinar con potencial para prevenir y reducir los riesgos de pandemias futuras. El proyecto se estructura en 3 ejes: Conocimiento, Tratamiento y Vigilancia de la infección por SARS-CoV-2. Es un proyecto que tiene como objetivos dilucidar los mecanismos patogénicos provocados por la infección por SARS-CoV-2, identificar dianas terapéuticas de las secuelas de la enfermedad, desarrollar una plataforma de cribado de antivirales e inmunomoduladores, así como estrategias de prevención de pandemias mediante vigilancia metagenómica de ecosistemas. El proyecto se estructura en los paquetes de trabajo (WP) asociados a sus respectivas plataformas. La plataforma de modelos preclínicos de infección y patogénesis se concibe para ofrecer a los investigadores el equipamiento, los recursos y la coordinación necesarios para estudiar la patogénesis asociada a la infección de SARS-CoV-2 en ratones. También permitirá estudiar aquellos aspectos patogénicos relacionadas con la enfermedad COVID-19 y sus consecuencias a largo plazo en modelos animales. Por otro lado, facilitará el inicio de ensayos preclínicos de candidatos antivirales e inmunomoduladores frente SARS-CoV-2. Esta plataforma se encargará de coordinar el mantenimiento de una colonia de animales K18-hACE2 susceptible a la infección por SARS-CoV-2 en colaboración con el Dr. Cayetano von Kobbe, responsable de la colonia en el CBMSO, y su abastecimiento a los grupos de investigación integrantes del proyecto. El modelo animal consiste en ratones transgénicos B6.Cg-Tg(K18-ACE2)2PrImn/J o K18-hACE2 (Stock No: 034860) procedentes de laboratorios Jackson (<https://www.jax.org/strain/034860>), que expresan la proteína ACE2 humana (hACE2) que actúa como receptor de SARS-CoV-1-2002 y SARS-CoV-2-2019, bajo el promotor de citoqueratina 18 (K18) humano, que dirige la expresión del transgen a las células epiteliales de las vías respiratorias (el principal órgano diana del SARS-coV-2), así como también en el epitelio de otros órganos internos.

En un primer periodo, se entrenará a personal capacitado realizando simulacros de experimentos en el animalario P3 con los equipos de protección individual adecuados (incluyendo capuces con ventilación motorizada). Tras la autorización se realizarán infecciones en ratones K18-hACE2 con SARS-CoV-2 para determinar la dosis vírica adecuada. Por último, una vez establecida la dosis se realizarán experimentos de los grupos de los WP que así lo soliciten.

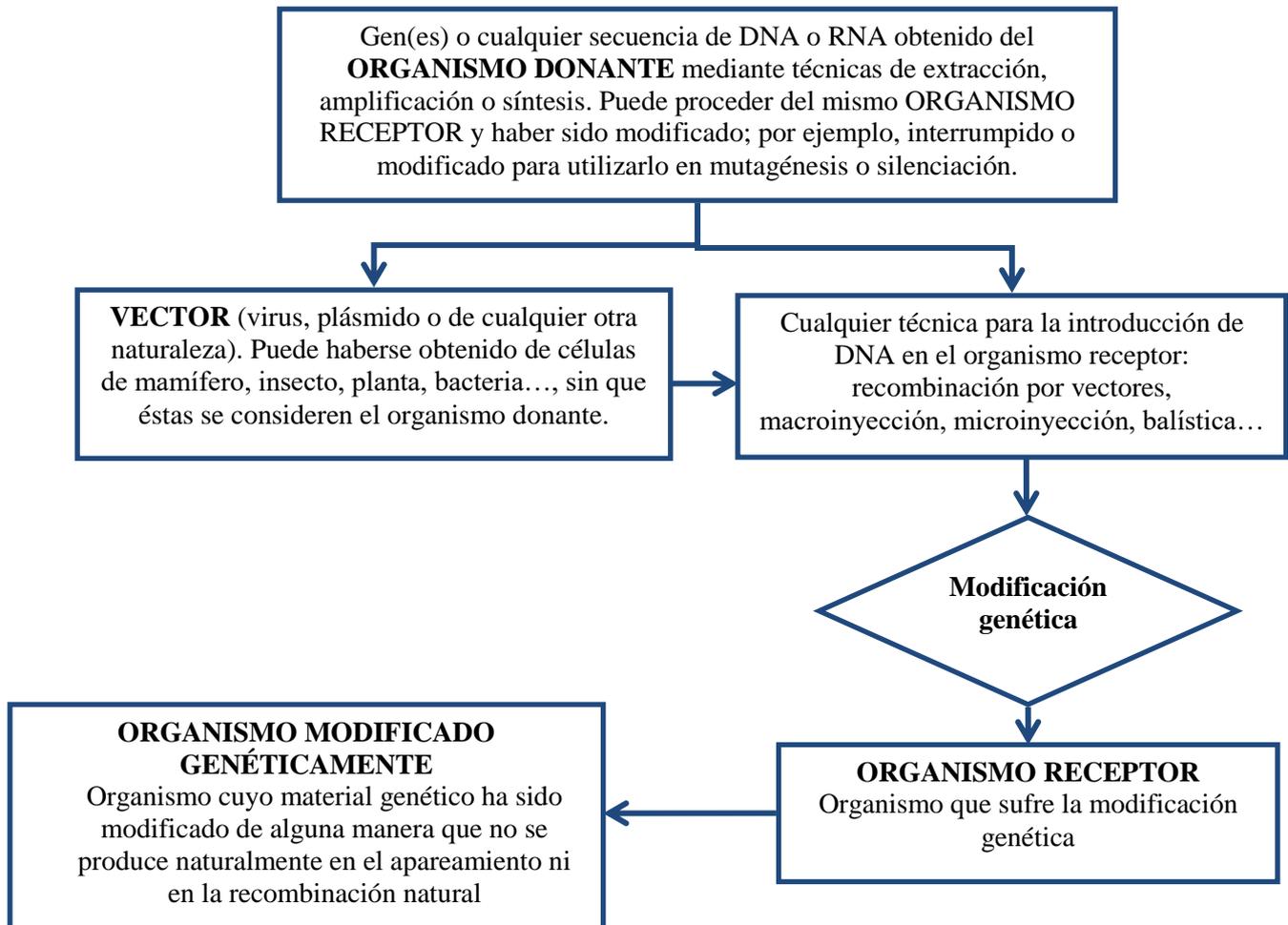
2) Clasificación de la actividad:

(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: *Mus musculus* Linnaeus, 1758.

2) Taxonomía:

Clase: Mammalia.

Familia: Muridae.

Filo: Chordata.

Nombre común: Ratón.

3) Descripción de los métodos de identificación y aislamiento.

a) Técnicas de aislamiento:

Se trata de una línea de ratón genéticamente alterada B6.Cg-Tg(K18-ACE2)2PrImn/J, susceptible a la infección experimental por SARS CoV-2 y distribuida comercialmente por Jackson Laboratories con la referencia 034860 <https://www.jax.org/strain/034860>

Técnicas de identificación:

b) Marcadores genéticos:

Son ratones transgénicos que sobreexpresan el receptor de ACE2 humano.

c) Marcadores fenotípicos: No aplica.

d) Estabilidad genética: Si.

4) Posibles modificaciones genéticas anteriores: No.

5) ¿Se considera patógeno el organismo receptor?

SI

NO

6) 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:

7) 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?

No aplica.

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

No aplica.

SI NO

Porqué:

No aplica.

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

Si.

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

La cepa de ratón K18-hACE2 se considera un OMG de tipo 2 y su cría se realiza en animalario P2 del CBMSO desde la recepción a principios de 2021 manteniendo varios cruces de ratones heterocigotos para el transgen con ratones C57BL/6 silvestres. El Dr. Cayetano von Kobbe, que colabora en este proyecto, obtuvo la autorización del Ministerio de Agricultura, pesca y alimentación para la cría de los ratones k18-hACE2 REF.: A/ES/21/42 de 25/06/21. Durante este tiempo desde la autorización no hubo ninguna contingencia respecto a la seguridad en la utilización del organismo receptor.

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?:

Si.

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:

Podría sobrevivir en el medio natural como cualquier otro ratón.

c) Otros factores que afectan la capacidad de supervivencia: falta de alimentos y agua.

d) Posibles nichos ecológicos:

Su alimentación es polífaga o sea que pueden adaptarse a muchos nichos ecológicos.

e) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:

3 semanas después del cruce de machos con hembras.

10) Efectos posibles sobre el medio ambiente:

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

No.

b) Interacciones con otros organismos y efectos sobre éstos:

El ratón K18-hACE2 es un posible transmisor del virus SARS-CoV-2 a otras especies susceptibles a la infección si llegara a infectarse con él en el medio natural. En cambio, en el animalario de nivel de bioseguridad 3 donde se realizarán las infecciones con SARS-CoV-2 es imposible que se liberen al medio ambiente porque son todos ellos sacrificados al final del experimento.

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

Hábitat natural del organismo:

Prácticamente en cualquier hábitat, desde bosques tropicales y praderas hasta desiertos de climas áridos.



IV. INFORMACIÓN RELATIVA AL ORGANISMO DONANTE

1) Nombre científico: *Homo sapiens*

Taxonomía:

Familia: Hominidae.

Subfamilia: Homininae.

Tribu: Hominini.

Subtribu: Hominina.

Nombre común:

Humano.

2) Tipo de material genético obtenido del organismo donante:

ADN complementario del receptor de ACE2 humano obtenido de IMAGE consortium clone ID 5243048 (ATCC, Manassas, VA) según describen los creadores en McCray y col. J of Virol, 2007.

3) Método de obtención:

a) Extracción

b) PCR

c) Síntesis *in Vitro*

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

Permitir la infección experimental por el virus SARS-CoV-2.

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?

No aplica.

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

No aplica.

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:

[Permitir la infección con SARS-CoV-2 y otros coronavirus en ratón](#)

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

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

SÍ NO

En caso afirmativo:

a) Tipo e identidad del vector:

[Vector pK18mTElacZ-K18i6x7pA según describen los creadores en McCray y col. J of Virol, 2007.](#)

Si se trata de un virus:

[No aplica](#)

Es defectivo en replicación SÍ NO

b) 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*):

[No aplica.](#)

c) Gama de hospedadores del vector:

No aplica.

d) Características de la movilidad del vector:

i) factores de movilización

No aplica

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

No aplica

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

No aplica

4) Información del inserto:

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

Según describen los creadores en McCray y col. J of Virol, 2007 (Fig. 1):

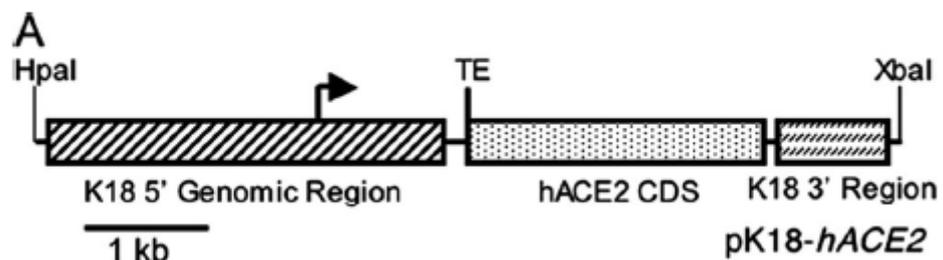


Figura 1. Generación y caracterización de ratones K18-hACE2. (A) La secuencia codificante de hACE2 (CDS) se clonó en una construcción que contenía las regiones genómicas 5' y 3' del gen de la queratina 18 (K18) humana que previamente se había demostrado que era necesario para impulsar la expresión específica de células epiteliales de alto nivel. La región genómica K18 5 consta de una secuencia genómica corriente arriba de 2,5 kb, el promotor y el primer intrón del gen K18 humano, mientras que la región K18 3 consta del exón 6, el intrón 6, el exón 7 y 300 pb de la 3 UTR del gen K18 humano, incluida la señal poli(A) de K18. Inmediatamente antes del codón de inicio hACE2 hay una secuencia potenciadora de la traducción (TE) del virus del mosaico de la alfalfa.

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

Ver apartado a).

c) Descripción del método utilizado para la transformación:



Inyección en pronúcleos de óvulos de ratón fertilizados (C57BL/6J x SJL/J)F2 para generar embriones transgénicos según describen los creadores en McCray y col. *J of Virol*, 2007.

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

No aplica.

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

Ver apartado a).

f) ¿El inserto ha sido secuenciado completamente?

No especificado por los autores McCray y col. *J of Virol*, 2007.

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

¿Contiene secuencias cuya función es desconocida? No. En caso afirmativo, especifíquese. No aplica.



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: **No aplica.**

ii) ¿El plásmido recuperado corresponde al construido? **Si.**

b) ¿Está integrado en los cromosomas nucleares?:

En caso afirmativo: **si**

i) número de copias: **8 copias**

ii) localización cromosómica: **No especificado por McCray y col. J of Virol, 2007.**

iii) secuencias colindantes **No especificado por McCray y col. J of Virol, 2007.**

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

No especificado por McCray y col. J of Virol, 2007.

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

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.

Según describen McCray y col J of Virol, 2007. los ratones transgénicos para la expresión de hACE2 se detectaron mediante análisis de PCR utilizando el cebador directo ACCTTGGCTGAAAGACCAGAACAAG y el cebador inverso AATTAG CCACTCGCACATCC. La figura 2 muestra las líneas fundadoras de ratones que

generaron y seleccionaron la línea 2 por presentar un número de copias intermedio del gen hACE2.

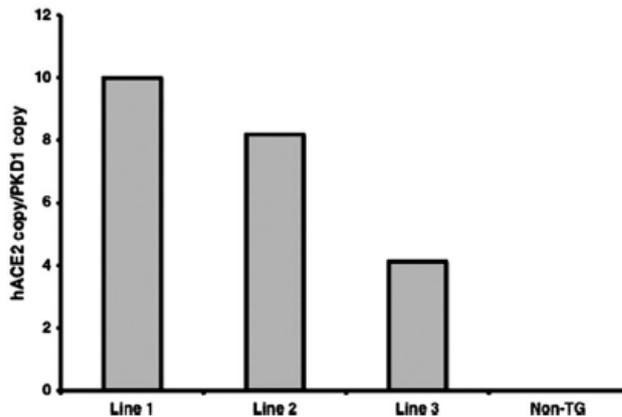


Figura 2. Número de copias de ADNc de hACE2 en tres líneas transgénicas fundadoras determinadas por PCR cuantitativa.

- 2) Características genéticas y fenotípicas modificadas del organismo receptor como resultado de la manipulación genética:
 - a) ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta a la capacidad de supervivencia fuera de las condiciones de cultivo? **No**. En caso afirmativo, especifíquese: **No aplica**.
¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta al modo o tasa de reproducción? **No**. En caso afirmativo, especifíquese: **No aplica**.
 - b) ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad para el hombre, plantas o animales? **No aplica**. En caso afirmativo, especificar: **No aplica**.
 - c) ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta a los posibles efectos sobre el medio ambiente? **No** En caso afirmativo, especifíquese: **No aplica**.
 - d) ¿Es diferente el OMG en cuanto a las características nutricionales? **No** En caso afirmativo, especifíquese: **No aplica**.
 - e) Marcadores específicos del OMG: **gen ACE2 humano**.
- 3) Estabilidad genética del OMG (*Estado y secuencia del inserto después de un cierto número de generaciones*): **Es una línea estable** (<https://www.jax.org/strain/034860>).
- 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

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

Trampas para roedores.

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:

No aplica.

b) Número de plantas:

No aplica.

3) Número de animales:

En cada ensayo se utilizarán entre 18 y 24 ratones transgénicos que expresan el receptor humano ACE2 (hACE2).

4) Periodo previsto para la actividad de utilización confinada:

Desde el momento de la autorización hasta la finalización del proyecto el 31 diciembre 2022, aunque es posible que la Comunidad de Madrid pueda prorrogarlo algunos meses más.

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

Los experimentos de infección de ratones K18-hACE2 con SARS-CoV-2 en el nivel BSL3 permitirán determinar la eficacia de antivirales e inmunomoduladores, así como describir mejor las patologías asociadas a células epiteliales, el papel de las mitocondrias, el efecto sobre la espermatogénesis en ratones machos, efecto sobre el sistema nervioso. Existen pocas



instalaciones en España donde esto pueda realizarse, y existe mucha demanda para ello, encontrándose otras instalaciones saturadas. El proyecto COVTRAVI-19-CM receptor de fondos FEDER se propone alcanzar una serie de objetivos que implican la realización de esta actividad.

- 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:

El modelo animal consiste en ratones transgénicos B6.Cg-Tg(K18-ACE2)2PrImn/J o K18-hACE2 (Stock No: 034860) procedentes de laboratorios Jackson (<https://www.jax.org/strain/034860>), que expresan la proteína ACE2 humana que actúa como receptor de SARS-CoV-1-2002 y SARS-CoV-2-2019, bajo el promotor de citoqueratina 18 (K18) humano, que dirige la expresión del transgen a las vías respiratorias. La colonia de ratones K18-hACE2 existente en el CBMSO proviene de la colaboración con el Dr. Cayetano von Kobbe que es responsable de la colonia originaria de Jackson en su momento financiado a través del proyecto:

Referencia: COV20-00755.

Título: “Terapias a corto y medio plazo para el tratamiento de la COVID-19: senolíticos y desarrollo de vacunas”.

Entidad financiadora: Instituto de Salud Carlos III. Fondo Covid-19.

Investigador principal (IP): Cayetano von Kobbe (CBMSO-CSIC).

Fechas: 2020 (mayo)-2021 (noviembre).

La colonia del CBMSO se obtuvo tras su llegada al el Gabinete Veterinario de la Facultad De Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid en agosto de 2020, que los rederivó al servicio de transgénesis del Centro Nacional de Biotecnología (CNB, CSIC), que a su vez los rederivó al CBMSO. El Dr. Cayetano von Kobbe obtuvo la autorización del Ministerio de Agricultura, pesca y alimentación para la cría de los ratones k18-hACE2 REF.: A/ES/21/42 de 25/06/21.

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

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) nº 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) nº 1255/97.
- **Reglamento (CE) nº 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 será necesario el transporte de los OMGs.

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

El manejo de los animales y la infección se llevará a cabo en el laboratorio de nivel 3 de contención biológica. Las infecciones se llevarán a cabo en cabinas de seguridad biológica de clase II.

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

Todas las manipulaciones se realizarán en el laboratorio de nivel 3 de contención biológica (NCB3), en las cabinas de seguridad biológica (clase II) y el alojamiento de los ratones será en los racks ventilados. Se utilizarán equipos de protección individual. Todos los residuos biosanitarios generados se inactivarán en un primer paso en el interior de la cabina de bioseguridad clase IIA. Posteriormente volverán a ser inactivados mediante autoclave (residuos sólidos) o en la planta de inactivación de efluentes líquidos del laboratorio (residuos líquidos).

En el manual de Bioseguridad del laboratorio de cultivos P3 y del Animalario están indicadas todas las normas a realizar.

VIII. INFORMACIONES ADICIONALES RELATIVAS A LA UBICACIÓN DE LA INSTALACIÓN

- 1) Proximidad a fuentes de peligro potenciales: El riesgo de contaminación ambiental en dependencias cercanas a la instalación o en el medio ambiente externo al CBMSO es prácticamente inexistente por las siguientes razones:

El CBMSO se encuentra ubicado en una zona del Campus de la Universidad Autónoma de Madrid que se caracteriza por la amplitud que existe entre los diferentes edificios.

No existen zonas residenciales cercanas, ni zonas de cultivos, explotaciones ganaderas, cotos y reservas de caza. Tampoco zonas naturales protegidas ni de interés ecológico.

Los laboratorios con nivel de contención 3 de cultivos celulares y del animalario están equipados con todos los medios e infraestructura de contención necesarios, tanto para las manipulaciones a realizar como en el tratamiento específico de los residuos generados tanto sólidos como líquidos. Estos medios e infraestructuras se validan periódicamente.

Ambas estancias disponen de normas específicas de manipulación que están incluidas en el reglamento de funcionamiento y en los Manuales de Bioseguridad donde se especifican las normas de higiene, protección, contención y gestión de residuos, conocidos y al alcance de todos los usuarios. Todos los protocolos de manipulación, transporte y conservación de agentes biológicos y OMGs, limpieza y desinfección de zonas y materiales, esterilización e inactivación se encuentran protocolizados por escrito.



SERVICIOS INTEGRALES SANITARIOS MADRID SL (SIS). MADRID

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

Los residuos sólidos se inactivan usando desinfectantes químicos que posteriormente se autoclavan y son retirados por la empresa SIS. De la misma manera se tratan los cadáveres de animales que hasta la retirada por la empresa se mantienen en un arcón congelador.

Los residuos líquidos generados son conducidos al sistema de tratamiento de residuos Biowaste.

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

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

Vienen indicadas en el Plan de Emergencia, incluido en el apartado VI de las solicitudes de autorización tanto del laboratorio de Cultivos como del laboratorio del Animalario (A/ES/17/I-22 Y A/ES/17/I-23)

- 2) Equipamiento de seguridad (especifíquese):

Vienen detallados en el Plan de Emergencia, incluido en el apartado VI de las solicitudes de autorización tanto del laboratorio de Cultivos como del laboratorio del Animalario (A/ES/17/I-22 Y A/ES/17/I-23).

Añadidos recientemente equipos de protección respiratoria con un capuz conectado a un motor de ventilación con baterías recargables.

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

Los Manuales de Bioseguridad de ambos laboratorios están disponibles en formato papel y en la web del CBMSO para todos los usuarios de dichos laboratorios.

Recibirán siempre un seminario con parte teórica y práctica previo a la utilización del laboratorio.

- 4) Planes de emergencia:

Incluidos en la memoria de notificación para la autorización de los laboratorios.



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

Nº de Notificación:

I. RESPONSABLES DE LA ACTIVIDAD

- 1) Entidad
Nombre: [CENTRO DE BIOLOGÍA MOLECULAR SEVERO OCHOA \(CSIC-UAM\)](#)
Dirección postal: [C/ NICOLAS CABRERA 1, 28049 MADRID](#)

- 2) Representante legal de la entidad
Nombre y apellidos: [LOURDES RUIZ DESVIAT](#)
NIF: [05253811J](#)
Cargo: [DIRECTORA](#)
Tel: [911964424](#)
Fax:
Correo electrónico: direccion@cbm.csic.es

- 3) Responsable científico de la actividad
Nombre y apellidos: [MANUEL FRESNO ESCUDERO](#)
NIF: [51697249B](#)
Cargo: [Catedrático de Universidad Autónoma de Madrid](#)
Tel: [34 91 196 4565](#)
Fax:
Correo electrónico: manuel.fresno@uam.es; mfresno@cbm.csic.es .

- 4) Responsable de bioseguridad de la instalación donde se realizará la actividad
Nombre y apellidos: [Gema Caparrós de la Jara](#)
NIF: [05432793D](#)
Cargo: [Responsable de Bioseguridad](#)
Tel: [911964537](#)
Correo electrónico: gcaparros@cbm.csic.es

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

[NÚRIA GIRONÈS](#) (ngirones@cbm.csic.es) como responsable de la plataforma de modelos preclínicos de infección y patogénesis del proyecto COVTRAVI-19-M Y [GEMA CAPARRÓS](#) (gcaparros@cbm.csic.es).



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:

Estudiar los mecanismos patogénicos provocados por el virus SARS-CoV-2 en ratones K18-hACE2 con el objeto de identificar dianas terapéuticas de las secuelas de la enfermedad, y desarrollar de nuevos antivirales e inmunomoduladores. Para ello se mantiene una colonia de ratones K18-hACE2 (OMG tipo 2) perteneciente al Dr. Cayetano von Kobbe en nivel de bioseguridad 2 del animalario del CBMSO.

2) Duración prevista de la actividad:

Desde el momento de la autorización de la actividad hasta la finalización del proyecto COVTRAVI-19-CM el 31 diciembre 2022, aunque es posible que la Comunidad de Madrid pueda prorrogarlo algunos meses más.

(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).

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).

(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 OMG es un ratón de la especie *Mus musculus* y no es nocivo.

b) Organismo donante.

El organismo donante es *Homo sapiens*.

c) Inserto.

El gen que codifica para el receptor ACE2 humano.

d) Vector.

Vector pK18mTElacZ-K18i6x7pA según describen los creadores en McCray y col. J of Virol, 2007.



- e) Organismo modificado genéticamente resultante.

Ratones transgénicos B6.Cg-Tg(K18-ACE2)2PrImn/J o K18- hACE2 (Stock No: 034860) proceden del laboratorio Jackson (<https://www.jax.org/strain/034860>), que expresan la proteína ACE2 humana que actúa como receptor de SARS-CoV-1-2002 y SARS-CoV-2-2019, bajo el promotor de citoqueratina 18 (K18) humano, que dirige la expresión del transgen a las vías respiratorias según describen McCray y col. J of Virol 2007, así como también en el epitelio de otros órganos internos.

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

El ratón K18-hACE2 es un posible transmisor del virus SARS-CoV-2 a y puede afectar a la salud humana si un ratón infectado, experimentalmente o en la naturaleza, entra en contacto directo sin la protección de los equipos de protección individuales (EPI) que incluyen el uso de capuces con ventilación motorizada. También puede afectar a la salud de especies animales susceptibles a la infección. No afecta a la salud de las plantas.

- g) Efectos para el medio ambiente.

Se desconocen, pero supondría un aumento en la probabilidad de la propagación del virus de forma natural entre especies animales susceptibles a SARS-CoV-2.

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 de cría se realiza en nivel de bioseguridad 2, y para infecciones con SARS-CoV-2 en nivel de bioseguridad 3 donde es improbable que se liberen al medio ambiente porque son todos ellos sacrificados al final del experimento. La exposición humana en nivel de bioseguridad 3 es baja debido a las características de las instalaciones descritas más adelante, y los equipos de protección individual que incluye capuz con ventilación motorizada. También los protocolos que se siguen minimizan la exposición humana a SARS-CoV-2 proveniente de los animales de experimentación.



- b) Concentración y escala utilizadas.

No aplica para el OMG. La dosis de SARS-CoV-2 que se utilizará será de 10^3 - 10^5 pfu por ratón.

- 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).

No aplica.

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

La actividad se clasifica como de nivel 3. Tanto el laboratorio de cultivos como el del animalario están equipados con todos los medios e infraestructura de contención necesarios, tanto para las manipulaciones a realizar como en el tratamiento de residuos generados.

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

Si se produjera en ratones no infectados en nivel 2, podrían infectarse naturalmente en el medio ambiente como otras especies susceptibles a SARS-CoV-2. Es improbable que se produzca una liberación accidental en nivel 3 donde los ratones pueden estar infectados experimentalmente, ya que en este nivel 3 todos los ratones se sacrifican al final del experimento. En ambos casos consideramos que el riesgo es bajo.

(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.)

Los OMG se manipularán en el área de contención de nivel 3 del animalario del Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CBMSO), que cuenta con todas las garantías de confinamiento para este tipo de estudios.

El CBMSO se encuentra en una zona del campus de la UAM que se caracteriza por la amplitud existente de los edificios, no existen zonas residenciales cercanas. Tampoco hay cerca explotaciones ganaderas, cultivos ni reservas de caza y zonas naturales con especial interés ecológico.

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

Las probabilidades de que se produzca un accidente son bajas si se cumplen todas las Normas de Bioseguridad del laboratorio. Los procedimientos de trabajo seguros están dirigidos a evitar o reducir la posibilidad de que se produzcan contaminaciones y serán conocidos por los usuarios.

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

Incluidas en el apartado VI de la memoria de notificación de la instalación.

- d) Planes de emergencia.



Son los incluidos en la memoria de notificación de la instalación. Conocidos por todos los usuarios del laboratorio.