



PARTE A Y C

**Actividades de
tipo 3 y 4**

DIRECCION GENERAL CALIDAD Y
EVALUACION AMBIENTAL

COMISION NACIONAL DE
BIOSEGURIDAD

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

I. INFORMACIÓN GENERAL

1. Responsables de la actividad

a. Entidad

Nombre: **Instituto de Agrobiotecnología** (CSIC-Gobierno de Navarra)

Dirección postal: Avda. Pamplona 123, 31192 Mutilva, Navarra

b. Representante legal de la entidad

Nombre y apellidos: **Alejandro Toledo Arana**

NIF: 73504760-A

Cargo: **director del IdAB**

Tel: 948 168000

Correo electrónico: direccion.idab@csic.es

c. Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos: **María Jesús Grilló Dolset**

NIF: 17161173-E

Cargo: **Investigadora Científica del CSIC**

Tel: 948168028

Correo electrónico: mj.grillo@csic.es

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

Nombre y apellidos: **María Jesús Grilló Dolset**

NIF: 17161173-E

Cargo: **Investigadora Científica del CSIC**

Tel: 948168028

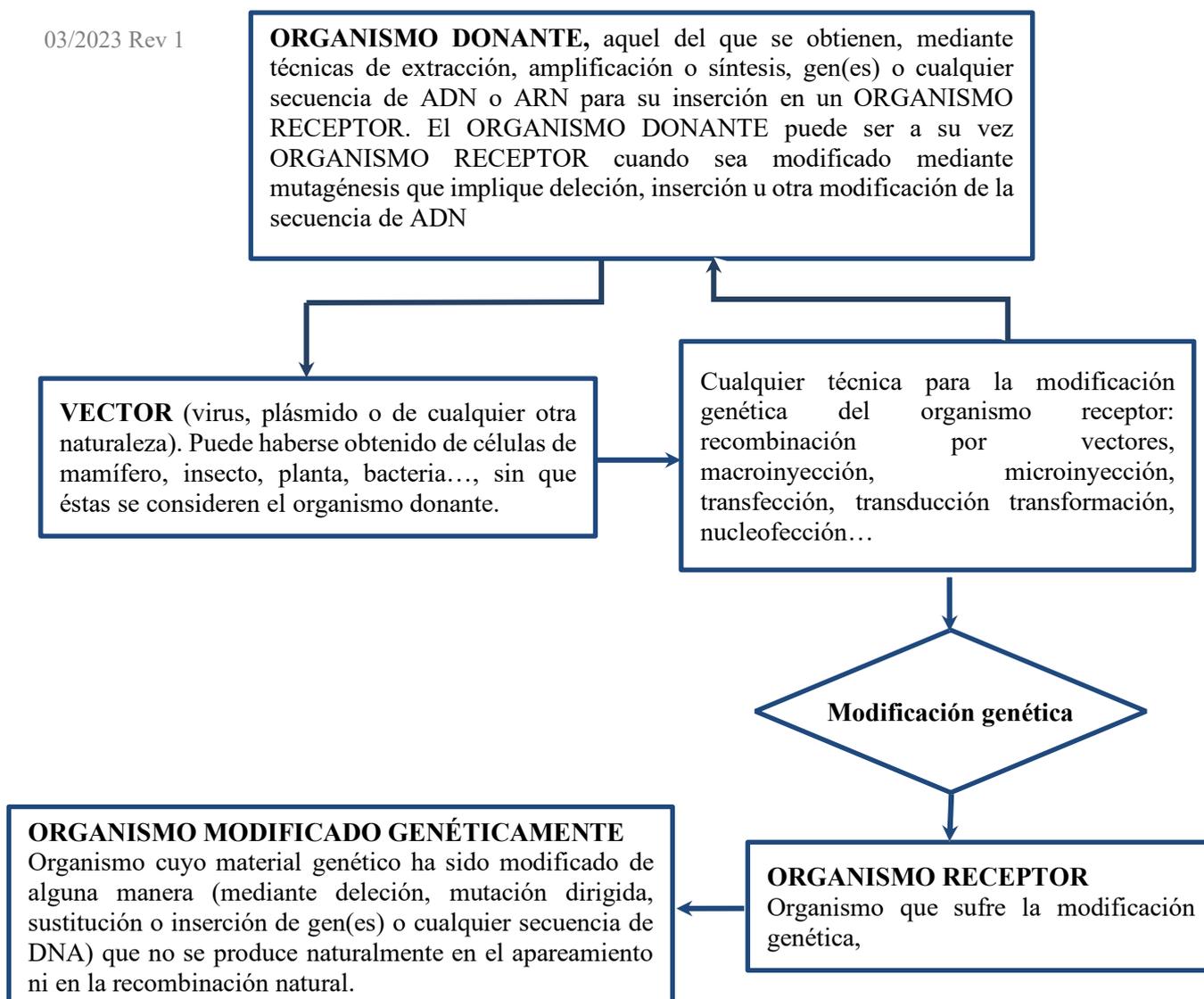
Correo electrónico: mj.grillo@csic.es

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

Dra. María Jesús Grilló Dolset

PROCESO GENERAL PARA LA OBTENCIÓN DE UN OMG A EFECTOS DE NOMENCLATURA:

03/2023 Rev 1



II. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD:

1. 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:

Proyectos de Generación del Conocimiento 2022 del Plan Estatal de Investigación

- Referencia del Proyecto y referencia IP del mismo:

PID2022-139200OB-C21

- Organismo financiador:

Ministerio de Ciencia e Innovación – Agencia Estatal de Investigación

Otro tipo de financiación²



2. Instalación donde se va a desarrollar la actividad (si la instalación no está autorizada, cumplimente el Formulario Parte B):

- Número de referencia de la notificación de la instalación (A/ES/.../I-...):

A/ES/15/I-05

- Fecha de autorización de la instalación:

12/06/2015

Si el OMG no se genera en la instalación³:

- Nombre de la instalación de origen del OMG:

- Número de referencia de la notificación de la actividad en el caso de que se realice en España (A/ES/.../...)

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.

² Se deberá aportar la información que permita verificar esta circunstancia.

³ Debe tenerse en cuenta que, si los OMG proceden de otra instalación española, ésta deberá haber cumplido con los requisitos establecidos en la legislación española de OMG.

- Número de referencia de la notificación de la instalación en el caso de que se ubique en España (A/ES/./I-..):

- Explicar cómo se realiza el transporte del OMG desde la instalación de origen teniendo en cuenta la legislación aplicable (especificar tipo de transporte, manejo y embalaje, documentación de acompañamiento e identificación o/y etiquetado)⁴:

3. Finalidad de la actividad:

Construcción de mutantes con fines científicos.

4. 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 3

Tipo 4

III. INFORMACIÓN RELATIVA A LA OBTENCIÓN DEL OMG

1. Organismo receptor del cual deriva el OMG:

- | | | |
|--------------------------|-------------------------------------|--------------------------------|
| Células humanas/primates | <input type="checkbox"/> | Detallar las líneas celulares: |
| Células: otras | <input type="checkbox"/> | Detallar las líneas celulares: |
| Animal | <input type="checkbox"/> | |
| Planta | <input type="checkbox"/> | |
| Bacteria | <input checked="" type="checkbox"/> | |

⁴ 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](#), 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/>
- [Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances](#) Edición bianual de la OMS

a

- Hongo
- Virus
- Protozoos

-Especificar el nombre científico y común:

Brucella spp.

a. Descripción de los métodos de identificación y aislamiento.

i) Técnicas de aislamiento: aislamiento:

ii) Técnicas de identificación:

iii) Marcadores genéticos:

iv) Marcadores fenotípicos:

v) Estabilidad genética:

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

SI

- Especificar cómo se sabe que está libre de agentes biológicos contaminantes.

Por cultivo en BAB o TSA en ausencia de antibióticos

NO

- Especificar si se conocen o se sospecha cuáles pueden ser.

c. Modificación genética anterior:

SI

- Describir:

- Cambios en virulencia, patogenicidad, tropismo, toxicidad, otros efectos.

NO

d. Se considera patógeno este organismo, vivo o muerto, y/o sus productos intra/extracelulares (Asignar grupo de riesgo conforme al anexo II de Real Decreto 664/1997 tras evaluación del riesgo específica):

Las bacterias vivas de todas las especies de *Brucella* están clasificadas como patógenos tipo 3, excepto *B. ovis* clasificada como tipo 1, por ser exclusiva de ganado ovino. No obstante,

a

algunas biovariedades o cepas sólo se han descrito en infecciones humanas de forma muy excepcional, como es el caso de *B. suis* bv2.

SI **X**

Para:

Humanos	X
Animales	X (mamíferos)
Plantas	<input type="checkbox"/>
Otros	<input type="checkbox"/>

- Posibles efectos alérgicos y/o tóxicos (describir):

NO

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

SI NO

- f. Experiencia previa adquirida en relación con la seguridad en la utilización del organismo receptor:

- g. Información sobre la capacidad de supervivencia y de reproducción en el medio ambiente:

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

SI

- Capacidad de crear estructuras de resistencia o letargo:

esporas

endosporas

quistes

esclerocios

esporas asexuales (hongos)

esporas sexuales (hongos)

otros, especifíquese:

NO

- ii) Otros factores que afectan la capacidad de supervivencia:

- iii) Posibles nichos ecológicos:

- iv) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:

- h. Efectos posibles sobre el medio ambiente:

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

a

No descritas

ii) Interacciones con otros organismos y efectos sobre éstos:

No son previsibles

i. Distribución geográfica y tipo de ecosistema en el que se encuentra el organismo receptor:

Mundial con zonas endémicas

j. Hábitat natural del organismo:

Animales, personas, medio ambiente

2. Organismo(s) donante(s). No completar el punto si no existiese organismo donante o si es el mismo que el organismo receptor.

- | | |
|-----------|-------------------------------------|
| Humanos | <input type="checkbox"/> |
| Animal | <input type="checkbox"/> |
| Planta | <input type="checkbox"/> |
| Bacteria | <input checked="" type="checkbox"/> |
| Hongo | <input type="checkbox"/> |
| Virus | <input type="checkbox"/> |
| Protozoos | <input type="checkbox"/> |

-Especificar el nombre científico y común:

a. Se trabaja con él durante la actividad:

SI NO

b. La cepa/línea celular donante: ¿está libre de agentes biológicos contaminantes?

SI

- Especificar cómo se sabe que está libre de agentes biológicos contaminantes.

NO

- Especificar si se conocen o se sospecha cuáles pueden ser.

c. Modificación genética anterior:

SI

- Describir:

a

- Cambios en virulencia, patogenicidad, tropismo, toxicidad, otros efectos.

No es una cepa virulenta

- d.** Se considera patógeno este organismo, vivo o muerto, y/o sus productos intra/extracelulares. (Asignar grupo de riesgo conforme al anexo II de Real Decreto 664/1997 tras evaluación del riesgo específica):

No

SI Para:

Humanos

Animales

Plantas

Otros

- Posibles efectos alérgicos y/o tóxicos (describir):

NO

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

SI NO

- f.** Tipo de material genético obtenido del organismo donante (gen codificante o fragmento del mismo. miRNA, lncRNA, etc.):

- g.** Método de obtención:

- Extracción

- PCR

- Síntesis *in vitro*

- h.** Función del gen/genes o secuencias en el organismo donante:

- 3.** ¿Intercambian los organismos donante y receptor material genético de forma natural?

IV. INFORMACIÓN RELATIVA A LA MODIFICACIÓN GENÉTICA

1. Objetivo de la modificación genética (sobreexpresión, silenciamiento, otros):

2. Tipo de modificación genética:

- Inserción de material genético
- Deleción de material genético
- Sustitución de bases
- Otros, especifique:

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

- Transformación
- Electroporación
- Macroinyección
- Microinyección
- Infección
- Transfección
- Fusión celular

Otros, especifique:

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

SÍ NO

En caso afirmativo:

a. Tipo e identidad del vector (plásmido, virus, otros):

i) Aportar mapa de restricción del vector. Indicar las funciones y posición de genes estructurales, genes marcadores, elementos reguladores, sitios de inserción, origen de replicación y cualquier otro elemento presente en el vector.

ii) Si se trata de virus:

- Es defectivo en replicación SÍ NO

- Indicar cómo se obtiene el vector viral. Si se utilizan plásmidos para su obtención aportar mapa de restricción del/los plásmidos. Indicar las funciones y posición de genes estructurales, genes marcadores, elementos reguladores, sitios de inserción, origen de replicación, origen, función y secuencia de otros elementos presentes.

No aplica

- b. Gama de hospedadores del vector:

Enterobacterias

- c. Características de la movilidad del vector:

- i) factores de movilización

- 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?

5. Información de la secuencia insertada, delecionada o modificada.

- a. Función específica de cada parte de la secuencia insertada, delecionada o modificada:

- b. Información sobre los genes estructurales:

- c. Información sobre los elementos reguladores:

- d. ¿Ha sido secuenciada?

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

No

- f. ¿Contiene secuencias cuya función es desconocida? En caso afirmativo, especifíquese.

No

6. Si se ha utilizado un vector, ¿cuál es su situación final en el OMG?

- a. Si el vector es un plásmido

- i) Se pierde

X

a

ii) Se inserta en el genoma

- Aleatoriamente

- En un sitio definido

o Localización cromosómica:

o Secuencias colindantes:

o La inserción activa o inactiva la expresión de otros genes:

iii) Se mantiene en forma episómica

- Número de copias:

- Se dispone de información sobre la estabilidad del vector

b. Si el vector es un virus:

i) Se mantiene en forma episómica

ii) Se inserta en el genoma

- La inserción se produce al azar

- La inserción es específica

o Localización cromosómica:

o Secuencias colindantes:

o La inserción activa o inactiva la expresión de otros genes:

iii) Existe la posibilidad de formación de partículas víricas. Justificar:

c. Análisis moleculares previstos relativos a la expresión del producto deseado (*PCR, Southern, Northern, secuenciación, otros*):

a

- i)** Determinación de la estructura del inserto (secuenciación)
- ii)** Transcripcionales (nivel de síntesis de mRNA)
- iii)** Traduccionales (nivel de síntesis de proteínas)

V. **INFORMACIÓN RELATIVA AL ORGANISMO MODIFICADO GENÉTICAMENTE (OMG)**

1. Descripción del OMG final

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:

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

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

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

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

- f. Marcadores específicos del OMG:

3. Información sobre la estabilidad genética previsible del OMG (*Estado y secuencia del inserto después de un cierto número de generaciones*):

4. Posibilidad de transferencia de material genético a otros organismos. Justificar:

5. Descripción de métodos de identificación y aislamiento planificados:

- a. Técnicas utilizadas para la identificación del OMG:

- b. Técnicas empleadas para aislar el OMG en el medio ambiente:

a

VI. DESCRIPCIÓN DE LAS OPERACIONES

1. Descripción de la actividad. (Breve resumen de los ensayos que se prevén realizar, incluidos los que se llevarán a cabo con el OMG).

2. Información sobre el volumen o cantidad de OMG a utilizar:

- a. Volumen o concentración máxima por ensayo en el caso de microorganismos.

- i) Para preparación de lotes

Crecimiento en placas de BAB o TSA, con y/o sin antibiótico.

- ii) Para Inoculaciones. Método de inoculación *in vitro/ in vivo*:

Se prepararán suspensiones bacterianas ajustadas por espectrofotometría en PBS, en un volumen total máximo de 5 mL.

- b. Número aproximado de plantas por ensayo:

No aplica.

- c. Número aproximado de animales por ensayo:

3. Naturaleza de las operaciones:

- a. Enseñanza
- b. Investigación
- c. Desarrollo

4. 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).

VII. EVALUACIÓN DE RIESGO

Se tendrán en cuenta los elementos y el procedimiento conforme al Anexo I del Real Decreto 178/2004 de 30 de enero, por el que se aprueba el Reglamento general para el desarrollo y ejecución de la Ley 9/2003, de 25 de abril, 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. Identificar cómo pudieran afectar las posibles propiedades nocivas del organismo receptor, donante, inserto y vector al OMG que se va a generar:

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

a

a. Organismo receptor.

b. Organismo donante.

c. Inserto.

d. Vector.

2. Identificar las posibles propiedades nocivas del OMG⁵

a. Efectos para la salud humana y la sanidad animal y vegetal.

b. Efectos para el medio ambiente.

Brucella spp. puede sobrevivir en el ambiente en determinadas condiciones, pero no de forma indefinida.

3. Descripción de las fases críticas de los ensayos en cuanto a bioseguridad:

Todas las manipulaciones de *Brucella* se van a realizar en el laboratorio con nivel BSL3 del IdAB-CSIC, por lo que las fases críticas son las contempladas en dichas condiciones.

4. Descripción de las medidas de confinamiento y protección que vayan a aplicarse en las diferentes fases:

Antes de sacar del laboratorio BSL3 muestras de DNA o extractos tisulares, una parte de las mismas se cultivará en placas de BAB para descartar la presencia del patógeno.

VIII. DESCRIPCIÓN DE LAS MEDIDAS DE PROTECCIÓN Y CONTROL ADOPTADAS DURANTE LA UTILIZACIÓN CONFINADA⁶

1. Adopción de las Buenas Prácticas de Laboratorio:

El acceso al laboratorio BSL3 del IdAB (autorización A/ES/15/I-05) está restringido a las personas autorizadas. Para ello, el personal autorizado recibe formación específica sobre el manejo de *Brucella* y la identificación de puntos críticos durante su manipulación, para garantizar la seguridad del personal y la calidad de los resultados científicos que se obtengan.

⁵. Si se considera que no tienen efectos adversos para la salud y el medio ambiente, también hay que justificarlo.

⁶ En el caso de que la actividad se realice en una instalación ya autorizada, se deberán describir las medidas de protección adicionales a las descritas en el formulario B que se presentó en la solicitud para la autorización de la instalación, teniendo en cuenta el riesgo específico de la actividad.

2. Formación del personal adscrito:

El acceso al laboratorio BSL3 del IdAB está restringido a las personas autorizadas. Para ello, es obligatorio haber recibido y cumplir el plan de formación en bioseguridad específico, que incluye el buen uso de los Equipos de Protección Individual (EPI) y los planes de actuación específicos. Los protocolos de bioseguridad y gestión de residuos están recogidos en la instrucción “Normas de Bioseguridad en el Laboratorio de nivel de Bioseguridad 2” que se revisa periódicamente.

3. Programas de limpieza/desinfección/descontaminación:

Existen protocolos de limpieza, desinfección y descontaminación específicos para el laboratorio BSL3 del IdAB. Para ello, se dispone de diversos desinfectantes (alcohol 70, DT445 y Virkon®) y de un autoclave de doble cara. Además, existe una exclusiva de materiales provisto de luz UV para intercambiar materiales desinfectados; y un ordenador conectado a un servidor seguro donde se registran todos los datos experimentales y facilita disponer de los resultados sin intercambiar cuadernos u otro tipo de material que podría estar contaminado.

4. Programas de mantenimiento de los sistemas de confinamiento y protección:

El laboratorio BSL3 del IdAB consta de 3 salas de acceso consecutivo conectadas entre sí por un sistema de puertas con cierre autoenclavable, provistas de ventilación continua con presión negativa y de filtros microbiológicos absolutos tanto en la entrada como en la salida de aire. Las dos primeras salas están destinadas al acceso exclusivo de personas, para el cambio de ropa y protección con Equipos de Protección Individual (EPI) y la tercera sala está destinada a realizar trabajos de microbiología, biología molecular, cultivos celulares y experimentación animal (nº de registro: ES/31-2010-000013) con *Brucella* spp. La tercera sala dispone de ventanas estancas que permiten la observación del operador desde los laboratorios contiguos; autoclave de doble cara; intercambiador de materiales con esterilización por UV; y está desprovista de fregaderos o sumideros, por lo que no precisa tratamiento de efluentes. Esta instalación está controlada periódicamente por la empresa externa Valtria SA, que realiza controles tanto del nivel de partículas en el laboratorio (clase ISO 5) como de la ausencia de microorganismos en el ambiente, cabinas y encimeras. La manipulación de los agentes biológicos se realiza en cabinas de seguridad biológica clase II (BIO-IIA), cuyo correcto funcionamiento se verifica mediante revisiones periódicas realizadas por una empresa especializada, que además revisa también el autoclave de doble cara y los incubadores. El acceso a la instalación está restringido al personal autorizado, bajo la supervisión de la Dra. Grilló.

5. Programas de verificación y validación de los sistemas de confinamiento y protección:

Además de las indicaciones de bioseguridad anteriores, el laboratorio BSL3 del IdAB está sometido a controles de partículas rutinarios y a controles de bioseguridad realizados periódicamente por la empresa Valtria SA. El Laboratorio BSL3 donde se desarrollarán las actividades de esta solicitud están descritas en la sección 9.2 del Parte B de la instalación autorizada por la CIOMG (Notificación A/ES/15/I-05).

IX. GESTION E INACTIVACIÓN DE RESIDUOS

1. Encargado de la gestión de residuos:

a

Ver apartado VI del formulario B del Parte B de la instalación autorizada por la CIOMG (Notificación A/ES/15/I-05).