



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

I. INFORMACIÓN GENERAL

1. Responsables de la actividad

a. Entidad

Nombre: Centro Nacional de Biotecnología (CNB). Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)

Dirección postal: Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC). Darwin 3. Campus Universidad Autónoma de Madrid. 28049 Madrid

b. Representante legal de la entidad

Nombre y apellidos: José Mario Mellado García

NIF: 13295208N

Cargo: Director del CNB

Tel: 91 585 45 03 / 4852. direccion.cnb@cnb.csic.es

Correo electrónico:

c. Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos: Urtzi Garaigorta de Dios

NIF: 20223585F

Cargo: Jefe de grupo de investigación

Tel: 915855399

Correo electrónico:

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

Nombre y apellidos: Fernando Usera Mena

NIF: 00694865-N

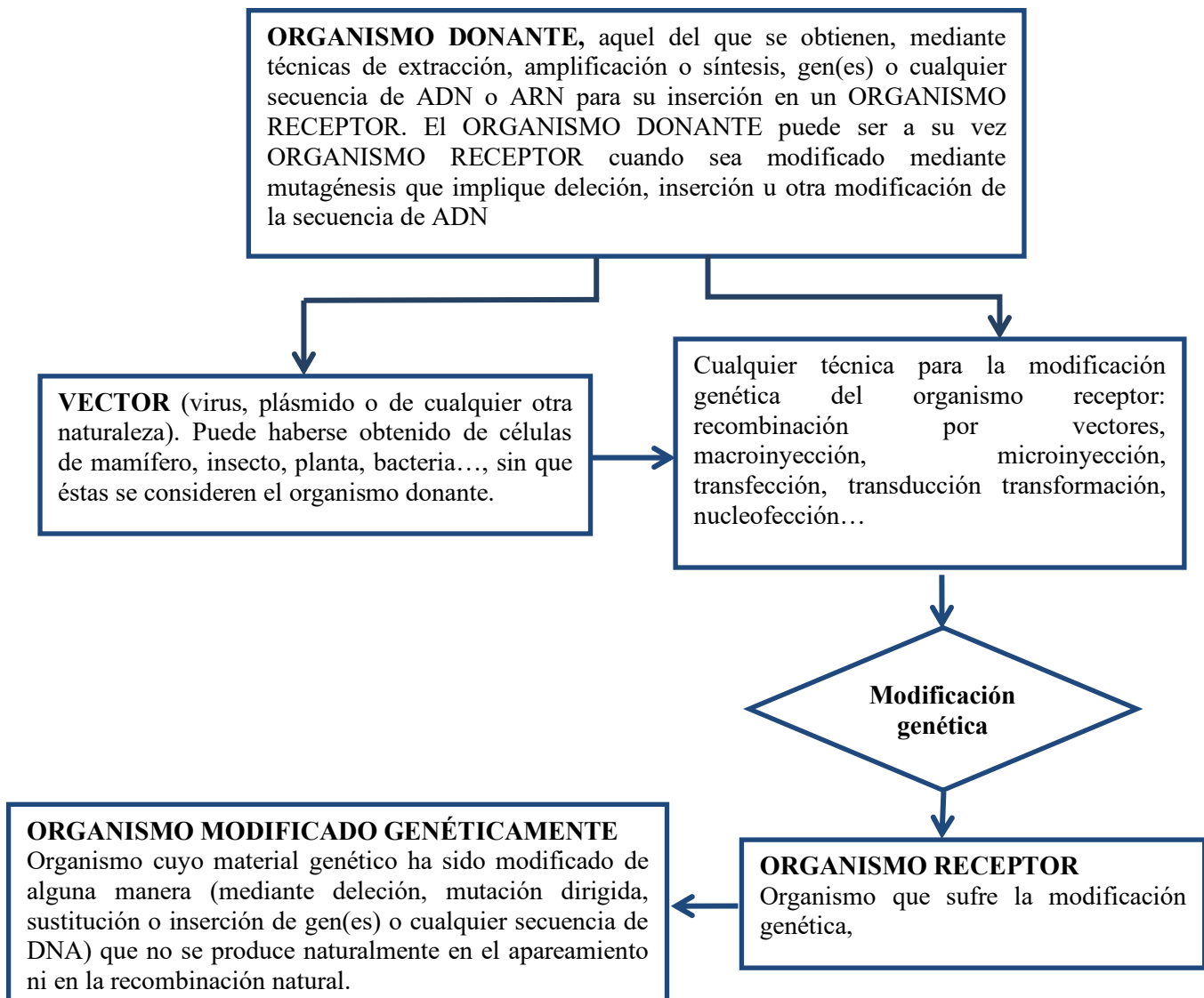
Cargo: Responsable del Servicio de Seguridad Biológica y Protección Radiológica

Tel: 91 585 45 41

Correo electrónico: fusera@cnb.csic.es

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

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





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 Consolidación Investigadora 2022

- Referencia del Proyecto y referencia IP del mismo:

CNS2022-135593; IP: Urtzi Garaigorta de Dios

- Organismo financiador:

Ministerio de Ciencia e Innovación

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/00/I-08.

- Fecha de autorización de la instalación:

06-03-2000.

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. Si la actividad no dispone de número de notificación en el momento de presentar la solicitud, se deberá indicar el número de registro asignado a la misma.

- 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:

Las actividades para las cuales se solicita autorización tienen como finalidad estudiar la función de genes celulares y virales de interés en la regulación de la expresión génica de DNAs episomales del virus de la hepatitis B (VHB). Para ello, se utilizarán líneas celulares humanas modificadas genéticamente mediante transducción con lentivirus (A/ES/23/170) o retrovirus (A/ES/23/171) autorizadas por el Consejo Interministerial de OMG (CIOMG) a realizar en la instalación NCB2 autorizada con número de resolución A/ES/18/I-08 y que serán sometidas a infección con el VHB o serán transfectadas con la forma silvestre episomal del genoma del VHB. Las infecciones con el VHB recombinante y la transfección con la forma silvestre del genoma del VHB, producido *in vitro*, se llevarán a cabo en las instalaciones de nivel 3 de contención biológica del CNB autorizadas (A/ES/00/I-8). La producción y utilización del VHB recombinante en células humanas susceptibles (HepG2-NTCP) fue previamente autorizada por la Comisión Nacional de Bioseguridad (A/ES/17/01).

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 ☐

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



III. **INFORMACIÓN RELATIVA A LA OBTENCIÓN DEL OMG (ver pie de página⁵)**

1. Organismo receptor del cual deriva el OMG:

- | | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------------|
| Células humanas/primates | ☐ | Detallar las líneas celulares: |
| Células: otras | ☐ | Detallar las líneas celulares: |
| Animal | ☐ | |
| Planta | ☐ | |
| Bacteria | ☐ | |
| Hongo | ☐ | |
| Virus | ☐ | |
| Protozoos | ☐ | |

-Especificar el nombre científico y común:

a. Descripción de los métodos de identificación y aislamiento.

- i)** Técnicas de 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.

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.

⁵ No es necesario cumplimentar este apartado si el OMG procede de una instalación ya autorizada en España y el OMG ha sido también autorizado, o está en proceso de autorización en otra instalación. [Consultar la Guía práctica para la remisión de solicitudes de registro de instalaciones para llevar a cabo actividades de utilización confinada con organismos modificados genéticamente sobre el documento de acceso a la información que es obligatorio presentar.](#)



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):

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. 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*):



ii) Interacciones con otros organismos y efectos sobre éstos:

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

j. Hábitat natural del organismo:

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

- | | |
|-----------|--------------------------|
| Humanos | ☐ |
| Animal | ☐ |
| Planta | ☐ |
| Bacteria | ☐ |
| Hongo | ☐ |
| Virus | ☐ |
| Protozoos | ☐ |

-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:



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

- 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):

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 (ver pie de página⁶)**

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 ☐

⁶ No es necesario cumplimentar este apartado si el OMG procede de una instalación ya autorizada en España y el OMG ha sido también autorizado, o está en proceso de autorización en otra instalación. [Consultar la Guía práctica para la remisión de solicitudes de registro de instalaciones para llevar a cabo actividades de utilización confinada con organismos modificados genéticamente sobre el documento de acceso a la información que es obligatorio presentar.](#)



- Indicar cómo se obtiene el vector viral. Si se utilizan plásmidos para su obtención aportar mapa de restricción del/los plásmido/s. 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.

- b.** Gama de hospedadores del vector:

- c.** Características de la movilidad del vector:

- i)** factores de movilización

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

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

5. Información 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.

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

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 ☐

ii) Se inserta en el genoma ☐

- Aleatoriamente ☐



- En un sitio definido ☐

○ Localización cromosómica:

○ Secuencias colindantes:

○ 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 ☐

○ Localización cromosómica:

○ Secuencias colindantes:

○ 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*):

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) (ver pie de página⁷)**

1. Descripción del OMG final

Se trata de líneas celulares humanas (HepG2, HepG2-NTCP, Huh-7 y HEK-293T) que sobreexpresan genes celulares, virales o reporteros de interés, o que expresan secuencias de silenciamiento específicas de genes de interés, tal y como queda recogido en los anexos de las autorizaciones A/ES/23/170 y A/ES/23/171 aprobadas por el CIOMG como ACT2 a realizar en la instalación NCB2 autorizada con número A/ES/18/I-08.

Estas líneas celulares se utilizarán en las instalaciones NCB3 para estudios en el contexto de la infección por el VHB y transfección con el genoma episomal del VHB, tal y como se explica en el apartado VI. Descripción de las operaciones.

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*):

⁷ No es necesario cumplimentar este apartado, salvo el punto 1, si el OMG procede de una instalación ya autorizada en España y el OMG ha sido también autorizado, o está en proceso de autorización en otra instalación. [Consultar la Guía práctica para la remisión de solicitudes de registro de instalaciones para llevar a cabo actividades de utilización confinada con organismos modificados genéticamente sobre el documento de acceso a la información que es obligatorio presentar.](#)



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:

--

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).

Infección con el VHB en instalaciones NCB3 con la finalidad de estudiar el efecto que las manipulaciones genéticas realizadas en las líneas celulares humanas (OMGs) tienen sobre el establecimiento de la infección del VHB permitiendo identificar las etapas virales reguladas en cada situación experimental. Para ello, las células OMG se sembrarán en placas multipocillo de 96 a 12 pocillos por placa y serán sometidas a infección con el VHB a una multiplicidad de infección de 500 equivalentes de genoma por célula lo que garantiza que el 10-15% de las células expresen genes virales a las 96 horas post-infección. Los parámetros virales de interés (producción de mRNA, proteínas virales y DNA viral) se medirán a distintos tiempos post-infección (desde los 3 días hasta los 10 días) mediante RT-qPCR (mRNA viral), Western-blot, inmunofluorescencia o ELISA (proteínas virales), y qPCR (DNA viral derivado de replicación), respectivamente.

Producción de la forma silvestre del genoma episomal del VHB (iv-cccDNA) por técnicas de biología molecular: La secuencia lineal de longitud completa que contiene el genoma del VHB se obtendrá mediante amplificación por PCR invertida utilizando oligonucleótidos específicos a partir de DNA total extraído de células infectadas por el VHB en el laboratorio NCB3 del CNB. El laboratorio del Dr. Urtzi Garaigorta ya dispone de la autorización para la generación y uso del virus VHB en dichas instalaciones (A/ES/17/01). El DNA lineal generado por PCR se purificará y se clonará en el plásmido comercial pGEM-T-easy de Promega (<https://www.promega.es/products/pcr/pcr-cloning/pgem-t-easy-vector-systems/?catNum=A1360>).

El plásmido resultante se crecerá en bacterias no patógenas del tipo *E. coli* DH5alpha para amplificarlo y su secuencia se confirmará mediante secuenciación masiva por Oxford Nanopore Technology a través de la empresa PlasmidSaurus. Una vez verificada la secuencia correcta el plásmido (pGEMT-VHB) será sometido a digestión con enzimas de restricción que permitan la ligación intramolecular del fragmento de DNA que contiene la secuencia completa del genoma del VHB. La ligación dará como resultado la generación de una molécula circular de 3182 pares de bases (secuencia completa del DNA del VHB) que carece de secuencias bacterianas y que por lo tanto no se puede amplificar en bacterias. El producto de ligación se someterá a digestión con la enzima T5 exonucleasa con el fin de eliminar cualquier molécula lineal contaminante que no se haya ligado intramolecularmente y se purificará mediante un kit comercial de purificación de DNA de NzyTech. El iv-cccDNA resultante se utilizará en experimentos de transfección en células hepáticas (por ejemplo: Huh-7 y HepG2) que habrán sido o no previamente transducidas para manipular la expresión génica de genes de interés (ACT 2 aprobadas con número de autorización: A/ES/23/170 y A/ES/23/171).

Estas transfecciones del iv-cccDNA se realizarán en el laboratorio NCB3 del CNB, para lanzar la expresión génica viral y establecer así un nuevo modelo de infección por el VHB que permita estudiar la replicación viral en ausencia de etapas previas limitantes, como son la entrada del virus y la reparación de su genoma. La expresión génica derivada del iv-cccDNA dará lugar a la expresión de las mismas proteínas virales que se producen durante la infección natural por el VHB

que son y tienen las siguientes funciones: (1) la proteína del core, necesaria para la encapsidación del RNA pregenómico (pgRNA) viral para el proceso posterior de replicación viral; (2) la polimerasa, encargada de los pasos de retrotranscripción del pgRNA y replicación del genoma viral; (3) la proteína X, que interacciona con proteínas celulares regulando aspectos relacionados con la transcripción viral y celular; y, (4) las proteínas L, M y S de la envuelta también conocido como antígeno S (HBsAg), necesarias para la entrada del virus en la célula hepática.

Transfección del genoma episomal del VHB en instalaciones NCB3 con la finalidad de establecer un modelo viral que permita estudiar los efectos de las manipulaciones genéticas directamente sobre la estabilidad y actividad transcripcional del cccDNA del VHB. Este modelo permite obviar efectos que pudieran darse en etapas tempranas de la infección como: la entrada viral o la producción del cccDNA, y permiten centrar directamente el estudio en la regulación de la expresión génica viral, replicación y producción de partículas virales. Para ello se sembrarán las células OMG en placas multipocillo de 6 o 12 pocillos por placa y serán sometidas a transfección con el reactivo Eugene HD (Roche) siguiendo las especificaciones del fabricante. Se transfectará 1µg de iv-cccDNA por cada 1x10⁵ células. Pasadas 20 a 24h se retirará el medio de transfección, se lavarán las células con PBS y se incubarán en medio de cultivo fresco durante periodos variables de tiempo dependiendo de los requerimientos experimentales. Los parámetros virales de interés (producción de mRNA y proteínas virales) se medirán a distintos tiempos post-transfección (24, 48, 72 y 96 horas) mediante RT-qPCR y Western-blot, inmunofluorescencia o ELISA, respectivamente.

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

No aplica

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

Se sembrarán las células modificadas genéticamente en placas multipocillo de 96 a 12 pocillos por placa dependiendo del experimento a realizar. Estas se someterán a:

Infección con el VHB (moi = 500 equivalentes de genoma por célula) en instalaciones NCB3

Transfección de 1µg de iv-cccDNA de VHB por cada 1x10⁵ células mediante liposomas (Eugene HD) en instalaciones NCB3.

b. Número aproximado de plantas por ensayo:

No aplica

c. Número aproximado de animales por ensayo:

No aplica

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).

Al menos 5 años

VII. EVALUACIÓN DE RIESGO (ver pie de página⁸)

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. Organismo receptor.

- b. Organismo donante.

- c. Inserto.

- d. Vector.

2. Identificar las posibles propiedades nocivas del OMG⁹

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

Las líneas celulares (OMGs) que se van a utilizar no tienen efectos sobre la salud humana, animal o vegetal. Además, se mantendrán en laboratorios de nivel 2 y 3 de contención biológica y únicamente abandonarán dichas instalaciones tras ser sometidos a inactivación química.

- b. Efectos para el medio ambiente.

Las líneas celulares (OMGs) que se van a utilizar no tienen efectos sobre el medio ambiente. Además, se mantendrán en laboratorios de nivel 2 y 3 de contención biológica y únicamente abandonarán dichas instalaciones tras ser sometidos a inactivación química.

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

Las fases más críticas tienen que ver con los ensayos de infección con el VHB o transfección del iv-cccDNA del VHB, ya que se trata de un agente biológico de riesgo 3. Es por ello que todas las manipulaciones que conlleven el uso del VHB se realizarán en el laboratorio de CBN3 siguiendo la normativa vigente.

Se evitará la centrifugación y la formación de aerosoles que pueden implicar un mayor riesgo de bioseguridad.

⁸ No es necesario cumplimentar este apartado, salvo los puntos 2, 3 y 4, si el OMG procede de una instalación ya autorizada en España y el OMG ha sido también autorizado, o está en proceso de autorización en otra instalación. [Consultar la Guía práctica para la remisión de solicitudes de registro de instalaciones para llevar a cabo actividades de utilización confinada con organismos modificados genéticamente sobre el documento de acceso a la información que es obligatorio presentar.](#)

⁹ Si se considera que no tienen efectos adversos para la salud y el medio ambiente, también hay que justificarlo.

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

Todos los experimentos de infección con el VHB y transfección del iv-cccDNA del VHB se realizarán en las instalaciones de nivel 3 de contención biológica siguiendo las normas de bioseguridad establecidas y recogidas en el reglamento de funcionamiento del laboratorio de cultivo de nivel 3 del CNB.

Todos los miembros del laboratorio que trabajarán en contacto con el VHB están ya vacunados frente al VHB y presentan serología positiva por lo que se consideran protegidos ante la infección en caso de que por accidente se expusieran al virus.

Todos los residuos biológicos que se generen serán inmediatamente inactivados dentro de los recintos de contención (cabinas de bioseguridad) mediante la utilización de germicidas de amplio espectro usados en rotación. Posteriormente, los residuos líquidos ya inactivados se enviarán a la planta de tratamiento de efluentes líquidos del laboratorio y los sólidos se autoclavarán. Los procedimientos de autoclavado y esterilización por calor en la planta “Biowaste” se han validado previamente y se validarán periódicamente mediante la utilización de kits de esporas del microorganismo testigo *Bacillus stearothermophilus*. Estas validaciones se han realizado a nivel interno (servicio de bioseguridad del CNB) y a nivel externo (empresas homologadas en validaciones de estos sistemas). Para mayor información remitirse a la solicitud de autorización de la instalación.



VIII. DESCRIPCIÓN DE LAS MEDIDAS DE PROTECCIÓN Y CONTROL ADOPTADAS DURANTE LA UTILIZACIÓN CONFINADA¹⁰

1. Adopción de las Buenas Prácticas de Laboratorio:

Las normas a seguir serán las expuestas en el reglamento de funcionamiento del laboratorio de cultivos “in vitro” de nivel 3 de contención biológica incluido en la solicitud de autorización.

2. Formación del personal adscrito:

El personal adscrito ha recibido la formación e información indicada en “Descripción de la información suministrada a los trabajadores”, apartado que se adjuntó a la documentación para la solicitud de autorización del laboratorio de cultivos “in vitro” de nivel 3 de contención biológica.

Todo el personal implicado tiene experiencia en la manipulación de los agentes biológicos que se indican en esta solicitud y su formación académica es licenciatura o doctorado.

3. Programas de limpieza/desinfección/descontaminación:

Viene descrito en el apartado 6.F del reglamento de funcionamiento de la instalación que se incluyó en la documentación correspondiente a la solicitud del laboratorio.

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

Vienen descritos en los apartados 6.B, 6.C, 6.D y 6.G. del Reglamento de funcionamiento de la instalación que se ha incluido en la documentación correspondiente a la solicitud del laboratorio.

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

Vienen descritos en el apartado 6.D. del Reglamento de funcionamiento de la instalación y más específicamente en “Procedimientos y planes de comprobación de la eficacia permanente de las medidas de confinamiento”. Esta información se ha incluido en la documentación correspondiente a la solicitud del laboratorio. Además el servicio de seguridad biológica velará por el cumplimiento de las normas de control de acceso, manipulación, descontaminación, esterilización, sanitización, etc. según se indica en diferentes apartados del citado Reglamento.

IX. GESTION E INACTIVACIÓN DE RESIDUOS

1. Encargado de la gestión de residuos:

a. Gestión interna: SÍ ☒ NO ☐

– Método de inactivación, forma final, destino de cada uno de los tipos de residuos generados:

Todo lo concerniente a la gestión de los residuos generados se especifica en los apartados 4.F y 6.H del Reglamento de funcionamiento de la instalación que se ha incluido en la documentación correspondiente a la solicitud del laboratorio

b. Gestión por una empresa externa: SÍ ☒ NO ☐

¹⁰ 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.



- Nombre de la empresa externa encargada de la gestión de los residuos:

CONSENU

X. PREVENCIÓN DE ACCIDENTES DE LA ACTIVIDAD NOTIFICADA

1. Condiciones en las que podría producirse un accidente:

Vienen indicadas en el Plan de emergencias y evacuación incluido en la documentación correspondiente a la solicitud del laboratorio.

2. Equipamiento de seguridad (especifíquese):

Viene indicado en el Plan de emergencias y evacuación incluido en la documentación correspondiente a la solicitud del laboratorio

3. Descripción de la información y formación suministrada a los trabajadores:

Documentación:

-Manual de Seguridad e Higiene en los laboratorios del CNB.

-Reglamento de Funcionamiento y Plan de Emergencias del laboratorio de cultivos “in vitro” de nivel 3 de contención biológica del CNB.

-Procedimientos Normalizados de Trabajo del Servicio de Bioseguridad del CNB.

Cursos y seminarios:

-Seminarios generales sobre normas de seguridad frente a agentes biológicos, químicos y radiactivos impartido por el Servicio de Bioseguridad del CNB.

-Seminarios específicos sobre el Reglamento de Funcionamiento y Plan de Emergencias del laboratorio de cultivos “in vitro” de nivel 3 de contención biológica del CNB

4. Planes de emergencia y contingencia:

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