



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

Nº de Registro:

Nº de Notificación:

I. INFORMACIÓN GENERAL

1) Responsables de la actividad

a) Entidad

Nombre: **Instituto de Agrobiotecnología** (CSIC-UPNA-Gobierno de Navarra)
Dirección postal: Avda. Pamplona 123,
31192 Mutilva, Navarra

b) Representante legal de la entidad

Nombre y apellidos: **María Jesús Grilló Dolset**
NIF: 17161173E
Cargo: Directora del Instituto de Agrobiotecnología (IdAB)
Tel: 948 168028
Fax: 948 232191
Correo electrónico: dirección.idab@csic.es

c) Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos: **María Jesús Grilló Dolset**
NIF: 17161173E
Cargo: Dra. en Veterinaria
Tel: 948 168028
Fax: 948 232191
Correo electrónico: mariajesus.grillo@unavarra.es

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

Nombre y apellidos: **Santiago Álvarez Folgueras**
NIF: 11415069P
Cargo: Jefe Sección Salud Laboral Universidad Pública de Navarra
Tel: 948 168985
Fax:
Correo electrónico: santiago.alvarez@unavarra.es



e) Indicar cuál de los anteriores actuará como persona de contacto
María Jesús Grilló Dolset

- 2) Debe señalarse si para la ejecución de esta actividad se recibe financiación del Plan Estatal de Investigación Científica y Técnica y de Innovación. Esta información es necesaria para determinar si la actividad se encuentra dentro del supuesto del artículo 3.2.b) de la Ley 9/2003 y, por lo tanto, la competencia recae en la Administración General del Estado.

SI NO

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

a) Fecha de comunicación / autorización de la instalación:

b) Número de referencia del expediente:

II. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD:

- 1) Finalidad de la actividad:

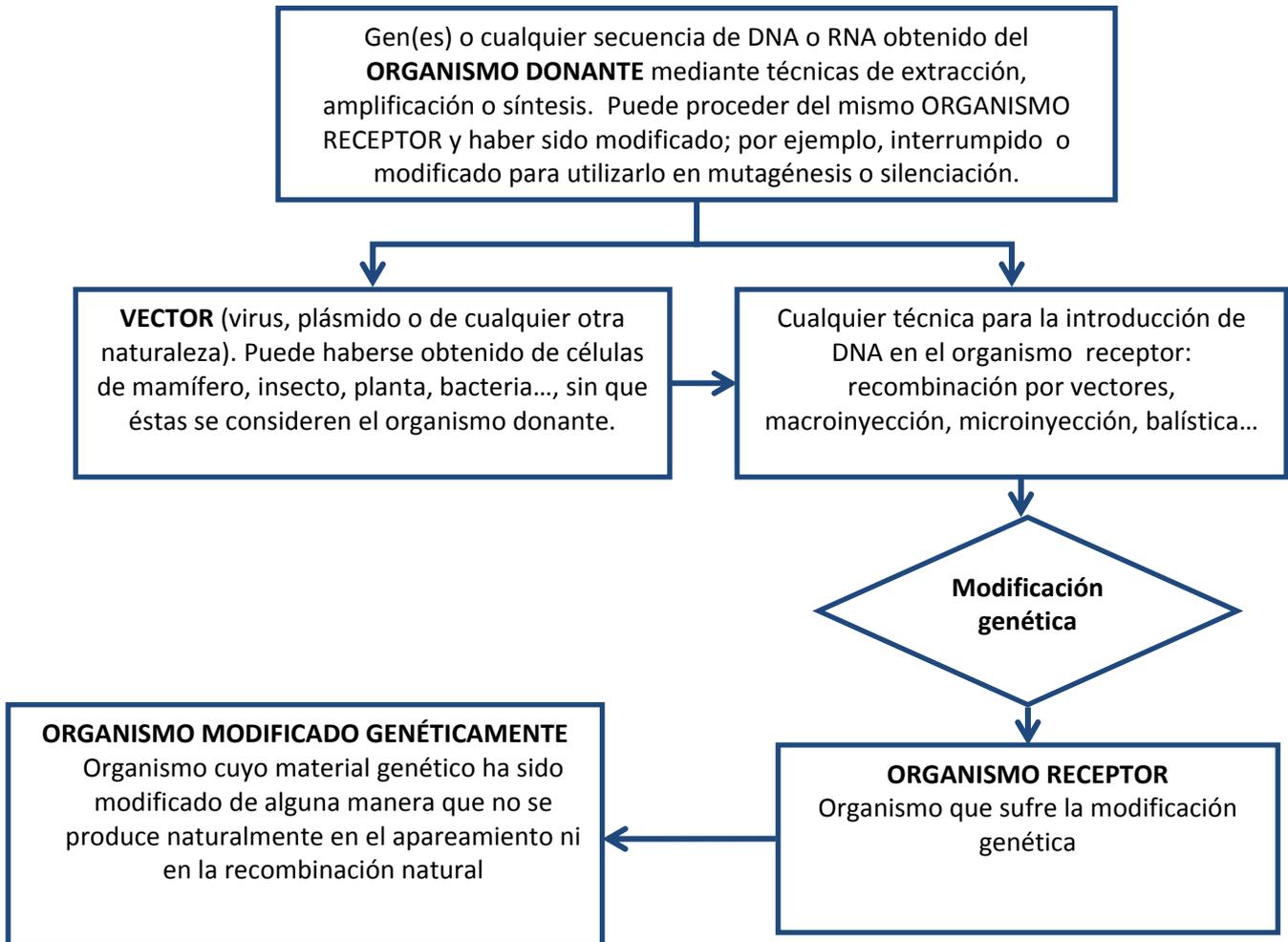
Estudio del papel del lipopolisacárido (LPS) bacteriano en la actividad biológica de *Brucella* spp. y en el desarrollo de nuevas vacunas para uso veterinario.

- 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: *Brucella abortus*
Taxonomía: Familia: *Brucellaceae*; Género: *Brucella*
Nombre común: Brucela abortus
- 2) Descripción de los métodos de identificación y aislamiento.
 - a) Técnicas de aislamiento:
Las cepas de referencia de *Brucella* spp. se conservan a -20°C en crioviales con crioprotectores (glicerol o leche lactosada). Para su aislamiento, la cepa de interés se siembra en placas de medio de cultivo enriquecido (Blood Agar Base número ó Trypticase Soja Agar) que son incubadas a 37°C durante 2-5 días.
 - b) Técnicas de identificación:



Identificación bioquímica: Ureasa, oxidasa, aglutinación con acriflavina, tinción con cristal violeta-oxalato, aglutinación con sueros monoespecíficos anti-A y anti-M, sensibilidad a colorantes (tionina, fucsina y safranina), antibióticos (penicilina, estreptomina y polimixina B) y a los fagos Tb, Wb, Iz y R/C.

Identificación molecular: PCR específicas

c) Marcadores genéticos:
Ninguno

d) Marcadores fenotípicos:
Tinción positiva en la técnica de tinción con cristal violeta-oxalato.

e) Estabilidad genética:
Ausencia de transposones u otros elementos genéticos móviles conocidos.

3) Posibles modificaciones genéticas anteriores:
Sin modificaciones genéticas previas

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:
Brucella abortus es un microorganismo patógeno para seres humanos y animales

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.):
Nivel 3

a) ¿De que modo se manifiesta la patogenicidad?
En humanos: fiebre, artromialgia, fibromialgia y otros síntomas no específicos.
En animales (principalmente ovejas y vacas): aborto, esterilidad y debilidad en los animales neonatos.

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

Porqué:

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

8) Experiencia adquirida en relación con la seguridad en la utilización del organismo receptor:
La persona responsable del proyecto, la Dra. María Jesús Grilló, lleva trabajando con distintas especies del género *Brucella*, desde el año 1994 y, en consecuencia, está



ampliamente familiarizada con la manipulación, vías de contagio y otros aspectos de bioseguridad del patógeno.

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?:
Sí, es capaz de sobrevivir, pero no de forma indefinida

En caso afirmativo:

b) Capacidad de crear estructuras de resistencia o letargo:

- | | | |
|------|----------------------------|--------------------------|
| i) | esporas | <input type="checkbox"/> |
| ii) | endosporas | <input type="checkbox"/> |
| iii) | quistes | <input type="checkbox"/> |
| iv) | esclerocios | <input type="checkbox"/> |
| v) | esporas asexuales (hongos) | <input type="checkbox"/> |
| vi) | esporas sexuales (hongos) | <input type="checkbox"/> |
| vii) | otros, especifíquese | |

c) Otros factores que afectan la capacidad de supervivencia:

Condiciones ambientales desfavorables, como desecación, calor, rayos UV, etc.

d) Posibles nichos ecológicos:

Tejidos animales (especialmente, placentas de rumiantes), agua y superficies, en ausencia de iluminación UV.

e) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:

10) Efectos posibles sobre el medio ambiente:

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

No descritos.

b) Interacciones con otros organismos y efectos sobre éstos:

No son previsibles.

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

Brucella spp. se encuentra en numerosos países de todo el mundo, especialmente en zonas en vía de desarrollo donde no se han llevado a cabo programas de control. *B. abortus* tiene preferencia por infectar al ganado vacuno, colonizando la placenta, induciendo el aborto en el último tercio de la gestación y posteriormente, siendo excretada en leche.

12) Hábitat natural del organismo:

El ganado vacuno es el hospedador natural de *B. abortus*, aunque puede afectar a otras especies animales y al ser humano. En condiciones adecuadas, *Brucella* spp. puede persistir en el medio ambiente, siendo el contacto directo con los animales y sus derivados la principal vía de contagio.



IV. INFORMACIÓN RELATIVA AL ORGANISMO DONANTE

- 1) Nombre científico: *Brucella abortus*
Taxonomía: Familia: *Brucellaceae* Género: *Brucella*
Nombre común: Brucela abortus
- 2) Tipo de material genético obtenido del organismo donante:
Gen *de interés*.

- 3) Método de obtención:
- a) Extracción
 - b) PCR
 - c) Síntesis *in vitro*

4) Función del gen/genes en el organismo donante
El gen *de interés* codifica un enzima esencial para la biosíntesis del LPS de *Brucella*. Así, su eliminación implica la modificación del LPS de liso a rugoso y la posible reducción de la virulencia en el OMG resultante.

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 que modo se manifiesta la patogenicidad?
De igual manera que en el organismo receptor.

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

Puesto que el gen *de interés* participa en la biosíntesis del LPS, la eliminación de este gen del genoma de *B. abortus* implica que el LPS pasa de ser liso a ser rugoso. Esta modificación del LPS puede afectar directamente a la capacidad de infección de la bacteria ya que el LPS es el principal factor de virulencia en *Brucella*.

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

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:
Obtención de una cepa rugosa de *B. abortus* para su evaluación *in vivo* (virulencia residual y protección) como posible vacuna frente a la infección virulenta por *Brucella* spp.
- 3) Método utilizado para llevar a cabo la modificación genética:
La delección del gen *de interés* de *B. abortus* se realizará por un método de doble recombinación homóloga denominado PCR overlapping, ampliamente utilizado por nuestro equipo (Conde et al. 2006) que permitirá la obtención de mutantes no polares y carentes de resistencias antibióticas adicionales.
- 4) ¿Se ha utilizado un vector en el proceso de modificación?
SÍ NO

En caso afirmativo:

- a. Tipo e identidad del vector:
pJQK: vector derivado del plásmido suicida pJQK que contiene el gen *de interés* delecionado y, además, incluye un gen que aporta resistencia a kanamicina.
- b. Si se trata de un virus:
Es defectivo en replicación SÍ NO
- c. Aportar mapa de restricción del vector (funciones y posición de genes estructurales, genes marcadores, elementos reguladores, sitios de inserción, origen de replicación, origen, función y secuencia de otros elementos presentes en el vector):

Antibiótico: gen que confiere resistencia a Antibiótico

SacBR: gen que confiere sensibilidad a la sacarosa

tra: factor de transcripción que regula el operon *tra* (necesario para que se produzca la conjugación con la cepa receptora).

MCS: caja de clonaje, en la que se incluye el inserto deseado y sitios de corte para diversas enzimas de clonaje

LacZ: gen que codifica la enzima β -galactosidasa y que permite la discriminación por color colonial de las cepas *E. coli* que llevan el inserto de interés.

- d. Gama de hospedadores del vector:
Enterobacterias
- e. Características de la movilidad del vector:
- i) factores de movilización
El vector es un plásmido inestable o suicida para *Brucella* spp. de manera que si no se integra en el genoma de la bacteria, es incapaz de replicarse y termina desapareciendo.
- ii) Si el vector es un bacteriófago ¿se han inactivado sus propiedades lisogénicas?
No procede.



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:

El inserto correspondiente al gen *de interés* delecionado tiene 827 pb y no incluye ningún sitio de corte para enzimas de restricción.

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

Zona corriente arriba del gen *de interés*: 1-306 pb.

Gen *de interés* delecionado: 307-540 pb

Zona corriente abajo del gen *de interés*: 541-827 pb

c) Descripción del método utilizado para la transformación:

La obtención del mutante de interés se realizará por un método de doble recombinación homóloga denominado PCR overlapping, basado en la selección antibiótica con kanamicina y la sensibilidad a sacarosa aportadas en la conjugación con el plásmido pJQK. De esta manera, se obtendrá un mutante no polar de *B. abortus* con el gen *de interés* delecionado carente de resistencias antibióticas adicionales a las de la propia cepa parental.

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

El inserto no posee elementos estructurales ya que el único gen incluido en él está delecionado

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

El inserto no posee elementos reguladores.

f) ¿El inserto ha sido secuenciado completamente?

Sí

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

Zona corriente arriba del gen *de interés*: 1-306 pb.

Zona corriente abajo del gen *de interés*: 541-827 pb

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

No

VI. INFORMACIÓN RELATIVA AL ORGANISMO MODIFICADO GENÉTICAMENTE

1) Estado y expresión del material genético introducido:

a) ¿Es un plásmido libre?

No

En caso afirmativo:

i) Número de copias:

No procede



ii) ¿El plásmido recuperado corresponde al construido?
No procede

b) ¿Está integrado en los cromosomas nucleares?
Sí

En caso afirmativo:

i) número de copias:
Una

ii) localización cromosómica:

El inserto se localiza en un ORF del genoma de *B. abortus* y sustituye al marco de lectura del gen *de interés* original.

iii) secuencias colindantes

Secuencia situada corriente arriba del inserto:

AGG-----TAA

Secuencia situada corriente abajo del inserto:

AAT-----AGA

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

El mutante obtenido es no polar por lo que no se modifica 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):

i) Determinación de la estructura del inserto (secuenciación)

ii) Transcripcionales (nivel de síntesis de mRNA)

iii) Traduccionales (nivel de síntesis de proteínas)

Aportar toda la documentación al respecto.

La zona del plásmido pJQK que contiene el gen *de interés* delecionado (inserto de interés) fue secuenciada y cotejada satisfactoriamente con la secuencia diseñada *in silico*

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:
Esta propiedad biológica será evaluada *in vivo* una vez obtenido el OMG.

b) ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta al modo o tasa de reproducción?
En caso afirmativo, especifíquese:
Esta propiedad biológica será evaluada *in vivo* una vez obtenido el OMG.



- c) ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad para el hombre, plantas o animales? En caso afirmativo, especificar:
Esta propiedad biológica será evaluada *in vivo* una vez obtenido el OMG.
- d) ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta a los posibles efectos sobre el medio ambiente? En caso afirmativo, especifíquese:
Se desconoce
- e) ¿Es diferente el OMG en cuanto a las características nutricionales? En caso afirmativo, especifíquese:
Se desconoce
- f) Marcadores específicos del OMG:
El OMG resultante mantiene los mismos marcadores específicos que la cepa receptora, a excepción de aquellos asociados a la cadena O del LPS (estructura ausente en el OMG resultante).
- 3) Estabilidad genética del OMG (Estado y secuencia del inserto después de un cierto número de generaciones)
El OMG es estable indefinidamente.
- 4) Posibilidad de transferencia de material genético a otros organismos:
No es previsible la transferencia de material genético a otros organismos.
- 5) Descripción de métodos de identificación y aislamiento empleados.
- a) Técnicas utilizadas para la identificación del OMG.
PCR del gen *de interés*
Análisis fenotípico: tinción con cristal violeta-oxalato
- b) Técnicas empleadas para aislar el OMG en el medio ambiente.
El OMG se mantendrá en un nivel 3 de biocontención, sin ser liberado al medio ambiente.

VII. DESCRIPCIÓN DE LAS OPERACIONES

- 1) Naturaleza de las operaciones:
- | | |
|------------------|--------------------------|
| a) Enseñanza | <input type="checkbox"/> |
| b) Investigación | x |
| c) Desarrollo | <input type="checkbox"/> |
- 2) Volumen o cantidad de OMG a utilizar:
- a) Volumen máximo en el caso de microorganismos: 10 mL
- b) Número de plantas:
- c) Número de animales:
- 3) Periodo previsto para la actividad de utilización confinada
(Debe concretarse lo más posible la duración de la actividad (por ejemplo, teniendo en consideración la duración de la financiación de los proyectos a los que están asociados las actividades con los OMG)).
Desde Junio 2015-2020, prorrogable en función de los resultados.
- 4) Finalidad de la actividad de utilización confinada, incluidos los resultados esperados:



Estudio del papel del LPS bacteriano en la actividad biológica de *Brucella* spp. y en el desarrollo de nuevas vacunas para uso veterinario.

- 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:
El OMG se ha obtenido en el IdAB.
- 6) Información sobre el transporte de los OMG en el caso de que provengan de, o se destinen a otros centros o instalaciones, así como descripción de las medidas adoptadas durante el mismo en virtud de la legislación aplicable¹ (tipo de transporte, manejo y embalaje, documentación de acompañamiento e identificación o/y etiquetado).
El OMG obtenido no va a ser enviado a otros centros.
- 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):
La manipulación del OMG se realizará dentro del Laboratorio P3 (nivel de biocontención 3) perteneciente al IdAB. Siempre que sea posible, el OMG será cultivado en medio de cultivo sólido (para evitar la formación de aerosoles) y cuando sea necesaria la obtención de un cultivo líquido, el volumen máximo de trabajo será de 10 mL (10^9 - 10^{10} UFC/mL). La manipulación se realizará siempre por personal especializado y entrenado para el trabajo con este tipo de microorganismos. En los procesos de manejo del OMG se utilizarán equipos de protección individual desechables (bata, gorro, gafas, calzas, mascarilla y guantes).
- 8) Descripción de las medidas de confinamiento y protección que vayan a aplicarse
El trabajo a realizar con el OMG obtenido se realizará en el Laboratorio P3, que dispone de ventilación con presión negativa, filtros microbiológicos absolutos en la entrada y salida de aire y control periódico de nivel de partículas tipo ISO 5. Dicho laboratorio consta de 3 salas de acceso consecutivo conectadas entre sí por un sistema de puertas con cierre autoenclavable. 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, cultivos celulares y experimentación animal (número de registro animalario: ES/31-2016-000002-CR-SU-US) con patógenos bacterianos que requieren nivel de bioseguridad 3. Esta última sala dispone de autoclave de doble cara, intercambiador SAS de materiales con esterilización mediante iluminación UV, ventanas estancas que permiten la observación del operador desde los laboratorios contiguos y está desprovista de fregaderos o sumideros.

VIII.- **INFORMACIONES ADICIONALES RELATIVAS A LA UBICACIÓN DE LA INSTALACIÓN**

- 1) Proximidad a fuentes de peligro potenciales:

¹ Legislación vigente que afecta al transporte de OMG:

- 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. El formulario necesario para acompañar a los OMG en el transporte, puede encontrarse en el siguiente enlace: (<http://www.biodiv.org/biosafety/cop-mop/result.aspx?id=8288&lg=1>)
- Normativa nacional e internacional (OACI/IATA, OMI/MDG, TPF/RID y TPD/ADR) para el transporte de mercancías peligrosas y, en particular, de sustancias infecciosas y muestras para diagnóstico.



El accidente podría producirse por pinchazos o cortes con material que contuviera el microorganismo o contacto a través de mucosas con aerosoles que contuvieran el microorganismo.

- 2) Equipamiento de seguridad (especifíquese):
Ver apartado V del formulario B
- 3) Descripción de la información suministrada a los trabajadores:
Todos los trabajadores recibirán por escrito el Plan de Acogida al IdAB.
- 4) Planes de emergencia:
Ver apartado VI del formulario B



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

Nº de Registro:	Nº de Notificación:
-----------------	---------------------

I. RESPONSABLES DE LA ACTIVIDAD

a) Entidad

Nombre: **Instituto de Agrobiotecnología** (CSIC-UPNA-Gobierno de Navarra)
Dirección postal: Avda. Pamplona 123,
31192 Mutilva, Navarra

b) Representante legal de la entidad

Nombre y apellidos: **María Jesús Grilló Dolset**
NIF: 17161173E
Cargo: Directora del Instituto de Agrobiotecnología (IdAB)
Tel: 948 168028
Fax: 948 232191
Correo electrónico: dirección.idab@csic.es

c) Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos: **María Jesús Grilló Dolset**
NIF: 17161173E
Cargo: Dra. en Veterinaria
Tel: 948 168028
Fax: 948 232191
Correo electrónico: mariajesus.grillo@unavarra.es

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

Nombre y apellidos: **Santiago Álvarez Folgueras**
NIF: 11415069P
Cargo: Jefe Sección Salud Laboral Universidad Pública de Navarra
Tel: 948 168985
Fax:
Correo electrónico: santiago.alvarez@unavarra.es

e) Indicar cuál de los anteriores actuará como persona de contacto
María Jesús Grilló Dolset



II. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD.

1. Objetivo de la actividad:

Estudio del papel del lipopolisacárido (LPS) bacteriano en la actividad biológica de *Brucella* spp. y en el desarrollo de nuevas vacunas para uso veterinario.

2. Duración prevista de la actividad:

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).

Desde Junio 2015 hasta Junio 2020, prorrogable en función de los resultados.

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

1.1 Organismo receptor.

Bacteria: *Brucella abortus*

Taxonomía: Familia *Brucellaceae*; Género *Brucella*

Nombre común: Brucela abortus

1.2 Organismo donante.

B. abortus

1.3 Inserto.

Gen *de interés* deletado, junto con parte de las secuencias colindantes corriente arriba y debajo de dicho gen.

1.4 Vector

Vector pJQK- Δ 0540 (ver formulario B), derivado del plásmido pJQK

1.5 Organismo modificado genéticamente resultante.

Brucella abortus con una delección en el gen *de interés*.

1.5.1 Efectos para la salud humana.

Como máximo, los mismos que los originados por la cepa parental

1.5.2 Efectos para el medio ambiente.

Brucella abortus no se multiplica fuera de sus huéspedes o de las condiciones de cultivo. Sí es capaz de sobrevivir en el ambiente en determinadas condiciones, pero no de forma indefinida.



2. Clasificación inicial del organismo modificado genéticamente:

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

- | | |
|--------|-------------------------------------|
| Tipo 1 | <input type="checkbox"/> |
| Tipo 2 | <input type="checkbox"/> |
| Tipo 3 | <input checked="" type="checkbox"/> |
| Tipo 4 | <input type="checkbox"/> |

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

3.1. Características de la actividad (medidas de confinamiento y control, y exposición humana y ambiental).

No es previsible que el OMG objeto de estudio produzca efectos nocivos en la salud humana o animal, ni sobre el medio ambiente, dadas las condiciones de manipulación del mismo y las condiciones de confinamiento a las que es sometido en las instalaciones del Laboratorio P3 (ver formularios A y B).

3.2. Concentración y escala utilizadas.

El proceso se realizará a escala experimental, por lo que la presencia del OMG de estudio no será de magnitud elevada.

3.3. 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).

Todos los procesos (obtención de transformantes y su posterior subcultivo) que requieran la utilización de OMGs van a ser realizados en cabinas de flujo laminar tipo Bio-IIA, teniendo en cuenta las medidas preventivas necesarias en la realización de cualquier operación que se lleva a cabo en un laboratorio de biotecnología. Además, el almacenamiento se hará teniendo en cuenta las medidas de confinamiento apropiadas. Por todo ello, no es previsible que los cultivos de OMGs produzcan efectos nocivos.

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

Clasificación de la actividad (conforme al artículo 5 y Anexo III de la Directiva 98/81/CE y Decisión de la Comisión 2000/608/CE, de 27 de septiembre):

Nivel de riesgo 3.

Consideramos nuestra actividad de riesgo tipo 3, por lo cual el grado 3 de confinamiento es suficiente para proteger la salud humana o animal y el medio ambiente.

Medidas de confinamiento

-Superficies de trabajo resistentes a ácidos, álcalis, disolventes, desinfectantes y agentes de descontaminación y de fácil limpieza.

-Autoclave *in situ* para inactivación del material contaminado.



- Indumentaria de protección personal adecuada: bata de laboratorio, gorro, gafas de protección, mascarilla, guantes de nitrilo.
- Separación de la zona propia de trabajo de laboratorio de la de trabajo de mesa
- Cabinas de flujo laminar BIO-IIA para el trabajo con material bacteriano.
- Normas de trabajo generales adecuadas.
- Los microorganismos viables se mantienen en un sistema cerrado aislados del entorno.
- Control de generación de aerosoles e inhalación de éstos mediante protección adecuada.
- Procesamiento adecuado de los residuos generados.

5. Determinación del riesgo en el caso de que se produzca una liberación accidental:
Desarrollar con la extensión que proceda, siguiendo el orden propuesto.

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

La instalación no se encuentra próxima a fuentes de peligro potenciales y el laboratorio está ubicado en zonas con temperatura regulable, climatizada y dotada de sistema de eliminación de aire con control microbiológico mediante filtros HEPA del 99,9%. Las posibilidades de una liberación accidental son mínimas debido a los equipos y sistemas empleados en la manipulación del microorganismo y a los protocolos establecidos para la eliminación de los residuos, que son inactivados (por autoclavado o tratamiento con hipoclorito sódico) previamente a su eliminación. Por lo tanto, no se estiman peligros derivados de la ubicación de la instalación.

b) Condiciones en las que podría producirse un accidente.

El accidente podría producirse por pinchazos o cortes con material que contuviera el microorganismo o contacto a través de mucosas con aerosoles que contuvieran el microorganismo.

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

Vigilancia de las instalaciones mediante personal de seguridad y sistemas de alarmas, tanto del Laboratorio P3 como de los equipos y aparatos del propio laboratorio (Ver apartado V del formulario B).

Medidas de confinamiento:

- Manipulación de los microorganismos en cabinas de bioseguridad Bio-IIA Telstar
- Autoclave de doble acceso.
- Presión negativa continua
- Sistema de enjaulamiento para animales de experimentación: jaulas ventiladas individualmente.
- Esclusa de entrada y salida de la sala con bloqueo de puertas
- Guantes de nitrilo.
- Mascarillas respiratorias.
- Gafas de protección.

Ducha y dispositivo para lavado ocular

Botiquín de primeros auxilios y fármacos



d) Planes de emergencia (para actividades tipo 3 y 4).

El Plan de Prevención de Riesgos Laborales de la Universidad Pública de Navarra, define las responsabilidades de los diferentes actores en la prevención de accidentes en la Universidad, siendo este el instrumento básico alrededor del cual se establecen todas las medidas encaminadas a prevenir accidentes, incidentes y enfermedades. Además, este Plan establece los mecanismos para evitar la manifestación de situaciones de riesgo, a partir de los principios de la Acción Preventiva, definidos en la Ley 31/95 de Prevención de Riesgos Laborales.

La herramienta básica para evitar los accidentes es la Evaluación de Riesgos, definiendo como tal las distintas operaciones encargadas de detectar situaciones que, los técnicos capacitados para ello, pudieran identificar como no seguras conforme a criterios legales o al juicio profesional del Técnico encargado de la Evaluación. Una vez detectada una situación efectiva y contrastada de riesgo, es identificada, comparada con los referentes legales existentes y, caso de ser tenida como una situación de riesgo, es trasladada para su eliminación. Sólo en aquellos casos en que no sea técnicamente posible su eliminación se plantea la evaluación y aquellas otras medidas preventivas que deriven de dicha evaluación.

Si las medidas a adoptar conllevan acciones formativas o informativas, en el Plan se identifica el procedimiento de elaboración de programas específicos que den respuesta a las necesidades detectadas. Las acciones, pueden estar programadas dentro del Plan de Formación de la Universidad o pueden ser particularizadas para determinados Departamentos o Centros.

Si las medidas a adoptar conllevan obras o modificaciones de instalaciones, el Plan identifica el procedimiento de traslado de dichas situaciones de no conformidad a la Sección de Obras y Mantenimiento.

Si las medidas a adoptar conllevan la adquisición de equipamiento de protección colectiva, el plan establece los procedimientos para adquirir los distintos tipos de protección.

Si las medidas a adoptar conllevan la adquisición de equipos de protección individual, el Plan establece el procedimiento específico para ello.

Periódicamente, la Universidad organiza acciones informativas sobre cuestiones que afectan al trabajo seguro en los laboratorios.

Adicionalmente y con carácter general, los edificios de la Universidad Pública de Navarra afectados por la utilización confinada de Organismos Modificados Genéticamente, cuentan con un Plan de Emergencias de Autoprotección, que ordena las actuaciones a tener en cuenta ante una situación de emergencia general (i.e. incendio, explosión y aviso de bomba o presencia de paquete sospechoso).

Dada la inocuidad de las actividades desarrolladas en el Instituto de Agrobiotecnología, es altamente improbable que se produzca ninguna situación de emergencia extraordinaria.

Aún así, rutinariamente, se trabajará con los siguientes sistemas de protección:

Recogida periódica de residuos tóxicos o peligrosos y de cadáveres de animales de experimentación (referencia del Registro de Operadores de Subproductos de Origen Animal No Destinados a Consumo Humano: S.31.CEX.01.071; Duin) por las empresas acreditadas Productos Oppac SA y Duin SL, respectivamente. Hasta su recogida, los residuos tóxicos o peligrosos se almacenan en un anexo al edificio del IdAB (**Sección 14**) y los cadáveres de animales de experimentación se conservan congelados.

Protección personal



- Conocimiento de la normativa básica de higiene y seguridad en laboratorio (adopción de las buenas prácticas del laboratorio por todo el personal).
- Bata blanca de laboratorio.
- Guantes de látex y nylon, desechables.
- Mascarillas respiratorias.
- Gafas de protección.

Ducha y dispositivo para lavado ocular de emergencia

Botiquín de primeros auxilios

Posibilidad de desinfección (por autoclavado o lavado con hipoclorito) de todo el material modificado genéticamente, así como de limpieza y eliminación de cualquier líquido derramado.