



**NOTIFICACIÓN DE PRIMER USO DE INSTALACIONES PARA REALIZAR ACTIVIDADES DE
UTILIZACIÓN CONFINADA CON ORGANISMOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE**

Nº de Notificación:

I. RESPONSABLES DE LA INSTALACIÓN

1) Entidad

Nombre: UNIVERSIDAD DE NAVARRA

Dirección postal: Campus Universitario, Pamplona (Navarra)

2) Representante legal de la entidad

Nombre y apellidos: Isidro Abad

NIF: 21389358W

Cargo: Gerente

Tel: 948425600

Fax: 948425619

Correo electrónico: iabad@unav.es

3) Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos: Fernando de la Puente

NIF: 00398615W

Cargo: Director I+D+i. Universidad de Navarra

Tel: 948425600

Fax: 948425619

Correo electrónico: fpuente@unav.es

Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos: Ignacio Moriyón (**Investigador Principal**)

NIF: 10780218A

Cargo: Catedrático de Microbiología. Universidad de Navarra.

Tel: 948425600

Fax:

Correo electrónico: imoriyon@unav.es

Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos: Raquel Conde-Alvarez

NIF: 44615617-X

Cargo: Profesor Contratado Doctor Microbiología: Universidad de Navarra.

Tel: 948425600

Fax:

Correo electrónico: rconde@unav.es



Responsable científico de la actividad
Nombre y apellidos: Maite Iriarte
NIF: 15852206P
Cargo: Titular de Microbiología. Universidad de Navarra.
Tel: 948425600
Fax:
Correo electrónico: miriart@unav.es

Responsable científico de la actividad
Nombre y apellidos: Amaia Zúñiga
NIF: 44640839R
Cargo: Investigador Dpto Microbiología: Universidad de Navarra
Tel: 948425600
Fax:
Correo electrónico: azuniga@unav.es

- 4) Responsable de bioseguridad de la instalación
Nombre y apellidos: Raquel Conde-Alvarez
NIF: 44615617-X
Cargo: Profesor Contratado Doctor Microbiología: Universidad de Navarra. IP de Proyecto investigación sobre Brucella y brucelosis
Tel: 948425600
Fax:
Correo electrónico: rconde@unav.es

Responsable de bioseguridad del Departamento de Microbiología
Nombre y apellidos: Carlos Gamazo de la Rasilla
NIF: 15838168-T
Cargo: Catedrático de Microbiología. Universidad de Navarra.
Tel: 948425600
Fax:
Correo electrónico: cgamazo@unav.es

- 5) Indicar cuál de los anteriores actuará **como persona de contacto**:
Nombre y Apellidos: Maite Iriarte Cilveti
NIF: 15852206P
Cargo: Profesor Titular Microbiología: Investigador. Proyectos Brucelosis. Universidad de Navarra
Tel: 948425600
Fax:
Correo electrónico: miriart@unav.es

- 6) Existencia de comités de bioseguridad y/o Comité de Seguridad y Salud:

(No se considera obligatorio, pero sí recomendable, la creación de un comité de seguridad biológica. En este sentido, la Comisión Nacional de Bioseguridad ha elaborado unas directrices para la creación de un Comité de Bioseguridad en los centros que trabajan con OMG (ver Anexo



3 de la Guía). Por otro lado, se recuerda que debe constituirse un Comité de Seguridad y Salud en todas las empresas o centros de trabajo que cuenten con 50 o más trabajadores, según el artículo 38 de la Ley 31/1995, de 8 de noviembre, de prevención de riesgos laborales).

SI X NO

En caso afirmativo, especificar funciones del Comité:

En el centro existe una Comisión de Seguridad para Investigación y Laboratorios.

En cada laboratorio hay nombrado un responsable de seguridad.

Funciones de la Comisión de Seguridad para Investigación y Laboratorios:

- a) Coordinar la tarea que llevan a cabo los responsables de seguridad de cada laboratorio para el intercambio de información técnica y preventiva.
- b) Asistir a los distintos departamentos y servicios en la preparación de los expedientes para la obtención de los permisos oficiales necesarios para poder trabajar con agentes biológicos, químicos peligrosos y radioactivos.
- c) Asesorar a los distintos departamentos y servicios sobre aquellos asuntos de seguridad que no puedan resolver por sí mismos.
- d) Certificar la solvencia de las instalaciones, equipos, protocolos de seguridad, etc. que ayuden a llevar a buen fin la solicitud de proyectos, intercambio de materiales de riesgo (reactivos o agentes biológicos) entre laboratorios.
- e) Canalizar las sugerencias sobre seguridad que escapen al ámbito de actuación de los responsables de seguridad de los distintos departamentos o servicios.
- f) Organizar, de acuerdo con el Servicio Mancomunado de Prevención de Riesgos Laborales “Universidad de Navarra”, cursos de formación sobre seguridad en laboratorios, de acuerdo con el artículo 19 de la Ley 31/1995 sobre Prevención de Riesgos Laborales.
- g) Informar al Servicio Mancomunado de Prevención de Riesgos Laborales “Universidad de Navarra”, sobre las evaluaciones que éste Servicio debe realizar para la prevención de los riesgos laborales, con el fin de proteger la seguridad y la salud de los trabajadores y cuando haya cambios en las condiciones de trabajo.
- h) Participar en las auditorías e inspecciones internas, a solicitud del Servicio Mancomunado de Prevención de Riesgos Laborales “Universidad de Navarra”.
- i) Sugerir al Órgano Superior cuantas actividades sean necesarias para coordinar las actividades de la Comisión.

- 7) Debe señalarse si se obtiene financiación del Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica para el desarrollo de las actividades propuestas. Esta información es necesaria para determinar si la instalación 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 X NO

AGL2014-58795-C4-1-R. Ministerio de Economía y Competitividad.

Programa Estatal de Investigación, Desarrollo e Innovación Orientada a los Retos de la Sociedad. La concesión inicial fue para 3 años y nos concedieron



un año de prórroga. Por lo tanto, el periodo de ejecución es 01/01/2015 a 31/12/2018

Los proyectos de Investigación sobre Brucelosis han recibido subvención estatal durante más de 20 años y se va a seguir trabajando en la misma línea

II. DATOS GENERALES DE LA INSTALACIÓN

(Deberá acompañarse un plano de situación, a escala 1:50.000 o similar, de forma que se identifique fácilmente su localización: urbana, suburbana o extraurbana).

Este local fue autorizado como instalación de utilización confinada de tipo 2 (A/ES/17/I-16 carta con fecha 19-06-2017) y se han realizado las obras para adecuarla a los requerimientos establecidos en la legislación para instalaciones de utilización confinada de tipo 3.

Al final de este documento, se incluyen planos de la localización y de la propia instalación y fotografías ilustradas.

1) Dirección de la Instalación:

Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra.
Edificio Investigación.
Calle Irunlarrea 1.
31008 Pamplona. Navarra. España.

2) Localización:

- | | | | |
|----------------|-------------------------------------|----------------|--------------------------|
| a) urbana | <input checked="" type="checkbox"/> | | |
| b) suburbana | <input type="checkbox"/> | | |
| c) extraurbana | <input type="checkbox"/> | i) agrícola | <input type="checkbox"/> |
| | | ii) industrial | <input type="checkbox"/> |

3) Descripción:

- | | | | |
|--------------------------|-------------------------------------|-----------------|--------------------------|
| a) edificio aislado | <input type="checkbox"/> | Nº de Secciones | <input type="checkbox"/> |
| b) parte de un edificio | <input checked="" type="checkbox"/> | Nº de Secciones | 1 |
| c) Conjunto de edificios | <input type="checkbox"/> | Nº de Secciones | <input type="checkbox"/> |

4) Especificar el número de habitaciones de las que consta cada sección, indicando la utilización de cada una de ellas:

La sección cuenta con 4 habitaciones: una esclusa común, un vestuario para el cambio de ropa a la entrada, una zona de trabajo o laboratorio y un vestuario para el cambio de ropa a la salida.

Ver Planos y fotografías adjuntos (al final del documento)



DESCRIPCIÓN DE CADA UNA DE LAS SECCIONES DE LA INSTALACIÓN

(Cumplimentar una hoja por cada una de las secciones o departamentos interesados en la notificación y las adicionales que fueran necesarias).

1) Finalidad de la sección o departamento:

- d) Laboratorio de investigación
- e) Planta piloto o experimental
- f) Planta industrial
- g) Tratamiento después del proceso
- h) Otro, especificar

2) La sección o secciones forman parte de uno o más departamentos a efectos administrativos:

SI NO

En caso afirmativo, indicar a qué departamentos pertenecen y la finalidad de los mismos:

Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra.

3) Nombre y formación del responsable de la sección:

Prof. Raquel Conde-Alvarez

NIF: 44615617-X

Cargo: Profesor Contratado Doctor Microbiología: Universidad de Navarra.

Tel: 948425600

Fax:

e-mail: rconde@unav.es

Dra. en Biología por la Universidad de Navarra. Acreditada por la ANECA como Profesor Titular de Microbiología Especialista en Microbiología y Genética de Microorganismos. Con más de 15 años de experiencia en investigación brucelosis humana y animal, es autora de 27 publicaciones sobre el diagnóstico inmunológico de la brucelosis y sobre la estructura, antígenos y biología molecular de factores de virulencia de *Brucella*. Su investigación actual está centrada en el desarrollo de nuevas vacunas y pruebas diagnósticas. Además posee experiencia en la investigación sobre factores de virulencia *Bartonella* adquirida durante su estancia de 2,5 años en el Biozentrum, Basel, Suiza. En esta etapa participó en el diseño y puesta en funcionamiento el laboratorio de contención P3 (BSL3) del *Swiss Tropical Institute* (Basel) y fue la encargada de la redacción y revisión de los SOP (*estándar operation procedures*) de *Brucella* de este laboratorio. Ha trabajado en otros laboratorios BSL3 de Europa: Centre d'Immunologie de Marseille-Luminy (Marseille, France) y Laboratoire d'immunologie et de microbiologie. URBM (Namur, Belgium). Participa en la docencia de Seguridad en el Laboratorio (Master E-menu y Master MIDI; Universidad de Navarra), asignatura de la que es profesora responsable).



- 1) Descripción de las dependencias dentro de cada sección: laboratorios, cuartos de técnicas o equipos, oficinas, etc.

(Se adjuntará plano de dichas dependencias: sección (es) o conjunto del edificio, a escala y con el detalle suficiente que permita apreciar las circunstancias relevantes en cada caso para la evaluación de riesgos).

Ver Planos y Fotografías en Adjunto (al final del documento).

- **La entrada al Edificio donde se encuentran la instalación BSL-3** tiene el acceso prohibido al público general. El acceso está controlado mediante tarjetero electrónico (doble), restringido sólo a personal autorizado, video vigilancia y por el personal de la Universidad de Navarra.
- **El Laboratorio P3 se encuentra a su vez en una zona aislada del resto del edificio** y separada con puertas que tienen **cerradura con llave**. Las puertas están debidamente marcadas con la señalización: **“Acceso restringido a personal autorizado. Zona de Riesgo Biológico”**
- **La puerta de entrada al laboratorio de Nivel de Bioseguridad 3** (en adelante P3 o BSL-3) y las puertas interiores están debidamente señalizada y dispone del correspondiente pictograma (**Acceso restringido a personal autorizado. Zona de Riesgo Biológico**). El acceso está restringido mediante tarjetero únicamente a personal autorizado que ha recibido la formación adecuada.
- La zona de entrada está dotada de **tubos germinicidas y para control de vectores UV**.
- La **instalación es hermética y estanca** (incluyendo las salidas de aire, luminarias, enchufes) para permitir la fumigación
- Las **ventanas están selladas y no son practicables**.
- Las **superficies son de fácil limpieza**. Las **paredes, suelos y techos son continuos, redondeadas y sin aristas** y están recubiertos con un **material termosellado** que facilita su limpieza.
- Las **bisagras de las puertas y tiradores o pomos** están diseñados para **evitar la retención de partículas y facilitar su limpieza**.
- La instalación consta de una sala común, un vestuario para el cambio de ropa a la entrada, una zona de trabajo o laboratorio y un vestuario para el cambio de ropa a la salida. La **entrada y la salida son por esclusas independientes**.
- Existen dos sistemas de **esclusa en serie que actúan “en cascada” para evitar la salida del aire contaminado al resto del edificio**
- La regulación se encargará de mantener el **interior de los locales en depresión respecto al exterior de forma escalonada**, lo que unido a la presencia de las dos esclusas, impide que las dos puertas de paso de cada una de ellas puedan estar abiertas de forma simultánea, y garantiza que no pueda existir flujo de aire desde estos locales hacia el exterior.
- La **sala de trabajo se encuentra en presión negativa** de modo que se contenga el potencial riesgo dentro de dicha sala.
- Las **puertas están diseñadas para mantener la estanqueidad** necesaria para el mantenimiento de las presiones diferenciales.



- Las puertas tienen señales luminosas que indican si las presiones son correctas.
- El **aire de entrada y de salida es tratado para conseguir** una despresurización en diferentes zonas del laboratorio con **filtración absoluta (filtros HEPA)** , 25 renovaciones a la hora.
- El sistema de aireación consta de sistemas de **detección de anomalías en la depresión y su indicación mediante alarmas tanto dentro como fuera del laboratorio BSL-3**
- La calidad del aire y concentración y tamaño de partículas sigue la norma ISO 8 según UNE EN 14644-1. (Ver certificación ENAC en doc. Adjuntos).
- Existe una **pantalla que permite verificar las condiciones de presión, temperatura, humedad** de las distintas salas.
- Ante la avería en el sistema de enclavamiento o falsa maniobra en la apertura de las puertas hay un **sistema de emergencia** que liberará los enclavamientos de las puertas de entrada y salida, accionable desde el exterior y desde el laboratorio (setas de emergencia)
- **La vestimenta** que se utiliza (buzo Tyvek calzas, gorro, guantes, mascarilla) se autoclava en el interior de la instalación y se saca de la instalación a través de un SAS
- **Dentro de la sala de trabajo** existen equipos propios: dos cabinas de seguridad clase II-A, dos autoclaves, dos estufas, dos incubadores, centrifuga con rotor de seguridad biológica para evitar aerosoles, fermentador, frigorífico a 4°C y un arcón a -80°C, espectrofotómetro, microscopio, SAS, un equipo portátil para esterilización con peróxido de hidrógeno y una lámpara móvil de luz UV.
- Las **cabinas de seguridad Biológica** son controladas periódicamente y han recibido la acreditación ENAC correspondiente (Ver Anexos con certificados para cada sala).
- **El equipamiento que aloja material biológico está señalizado** con el pictograma de Riesgo Biológico
- **La zona de trabajo dispone de ventana de observación así como de teléfono para comunicarse con el exterior.**
- La zona de trabajo dispone de una **ducha y lava ojos de emergencia**.
- **La entrada y salida de material al BSL-3 se realizará a través de un SAS (Albian)** que dispone de **irradiación UV** y sistema de recirculación de **Peróxido de hidrógeno** y ventilación. Está dotado de un filtro HEPA. El PassBox y el carro de peróxido de hidrógenos asociados disponen de sistemas de alarma para detectar cualquier anomalía en el funcionamiento del sistema.
- Se dispone de un **lavabo** en el laboratorio de trabajo y en la zona próxima a la salida. El manejo de dicho lavabo se realizará mediante un **grifo de control infrarrojo**.
- Las instalaciones cumplen la Normativa UNE EN 12128 referente a los niveles de contención biológica de nivel BSL-3 y RD664/1997, Ley 9/2003, RD 178/2004 , Directiva 2009/41/Ce del Parlamento Europeo y del Consejo y las normativas vigentes para la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos y OMG derivadas.



III. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD

1) Objetivo de la actividad:

(Para actividades tipo 2, 3 y 4, en la que ya se haya presentado un Formulario Tipo A, es suficiente un listado de las actividades que se van a realizar).

Se van a desarrollar **las siguientes actividades:**

1. Actividades de investigación con agentes biológicos *Brucella* (spp. *abortus*, *melitensis*, *suis*, *ovis*), y organismos modificados genéticamente derivados, que hasta ahora se han realizado en la instalación BSL-3 del CIMA-Universidad de Navarra con número de referencia A/ES/05/I-09 autorizada en la Resolución 827-2006 de 4 de abril, y resolución 1043/2011 de 24 de junio. Estas actividades se quieren realizar en la nueva instalación para la cual se solicita la autorización.

Listado de Actividades (previamente autorizadas por la CNB y CIOMG)

A/ES/11/43	A/ES/16/06	A/ES/17/30
A/ES/11/44	A/ES/16/07	A/ES/17/31
A/ES/11/45	A/ES/16/14	A/ES/17/32
A/ES/15/76	A/ES/16/15	A/ES/17/33
A/ES/15/77	A/ES/16/16	A/ES/17/34
A/ES/15/78	A/ES/16/23	A/ES/17/35
A/ES/15/79	A/ES/17/17	A/ES/17/36
A/ES/16/03	A/ES/17/18	A/ES/17/78
A/ES/16/04	A/ES/17/29	A/ES/18/10
A/ES/16/05		

2. Se pide además la autorización para una nueva actividad que se detalla en el Parte A y Parte C que se adjuntan encaminada, como las anteriores, a la obtención de *Brucella* modificada genéticamente dentro de la línea de la investigación sobre vacunas frente a la brucelosis (*B. abortus* mutantes en genes de metabolismo IV).

Los procedimientos para esta nueva actividad son los mismos que se utilizaron para las actividades ya autorizadas señaladas en la lista anterior.

2) Clasificación de la actividad



- 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 aplicable¹ (*tipo de transporte, manejo y embalaje, documentación de acompañamiento e identificación o/y etiquetado*):

El transporte se realizará con una empresa especializada y siguiendo las normas de seguridad previstas para *Brucella*: “Infectious substances in category A. packing instructions P620, label UN2814”

IV. MEDIDAS DE CONFINAMIENTO Y OTRAS MEDIDAS DE PROTECCIÓN APLICADAS

(El objetivo de este apartado es la descripción completa de las condiciones de la instalación, con objeto de que la Comisión Nacional de Bioseguridad pueda evaluar si se garantiza el grado de confinamiento exigido por la legislación (ver anexo 2 de la Guía, que recoge el anexo II del Real Decreto 178/2004).

Si procede, se cumplimentará una hoja por cada una de las distintas secciones o departamentos interesados en la notificación. En ningún caso se aceptará que en un mismo formulario Parte B se incluyan distintos niveles de confinamiento).

¹ 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/>



I.- LABORATORIOS		
	SÍ	NO
El laboratorio se encuentra separado de otras zonas del mismo edificio	X	
El laboratorio se encuentra en un edificio independiente		X
El laboratorio es hermético, permitiendo que se fumigue	X	
Existencia de una entrada y salida independientes	X	
Mobiliario y equipos	SÍ	NO
Superficies resistentes a agentes de descontaminación y de fácil limpieza	X	
Acceso al laboratorio a través de una esclusa	X	
Presión negativa respecto a la presión del medio ambiente inmediato	X	
Aire de entrada y de salida del laboratorio tratado con filtros HEPA	X	
<ul style="list-style-type: none"> Indicar el tipo de filtro HEPA: 	TROX- TECHNIK H13 EN1822	
Cabina de seguridad biológica	X	
<ul style="list-style-type: none"> Indicar el tipo y localización de la/s cabinas de seguridad biológica: 	2 cabinas CSB BIO II-A, dentro del laboratorio	
Autoclave	X	
<ul style="list-style-type: none"> Indicar la localización del autoclave (dentro del edificio; dentro del laboratorio) 	2 autoclaves Dentro del laboratorio.	
Normas de trabajo	SÍ	NO
Acceso restringido	X	
<ul style="list-style-type: none"> ¿Cómo se restringe el acceso? (ej. huella digital, tarjeta del personal autorizado, llave) 	Puerta entrada a BSL-3: Mediante tarjeta únicamente para personal autorizado. (Previamente hay que pasar una puerta con llave, un control por video-cámara, doble tarjetero y personal de la Universidad)	
Señalización de peligro biológico en la puerta	X	
Señalización de peligro biológico en el equipamiento que aloja material biológico	X	
Medidas específicas para evitar la formación y difusión de aerosoles	X	
El personal está obligado a ducharse antes de abandonar la zona controlada		X
Indumentaria de protección	X	



<ul style="list-style-type: none"> Indicar qué indumentaria de protección y EPIs se utilizan 	Buzo Tyvek calzas, gorro, guantes, mascarilla, gafas	
Lavado de la ropa de trabajo		
<ul style="list-style-type: none"> Indicar quien es responsable del lavado de la ropa de trabajo (empresa gestora; en la propia instalación) 	La ropa es desechable. Se autoclavará en la propia instalación y se sacará a través del SAS	
Espacio específico para la ropa de trabajo (percheros; taquillas)	X	
Cambio de ropa y calzado antes de entrar y salir de la instalación	X	
Control eficaz de roedores e insectos	X	
Residuos	SÍ	NO
Inactivación de los OMG en el material contaminado y en los residuos	X	
Inactivación de los OMG en los efluentes de los lavabos, desagües, duchas o efluentes similares	X	
Otras medidas	SÍ	NO
Material para la recogida de posibles vertidos (vermiculita; papel absorbente) disponible en la zona de trabajo	X	
Almacenamiento de material fungible y reactivos en el propio laboratorio	X	
Ventana de observación o similar para ver a los ocupantes	X	



1) Adjuntar documentación relativa a protocolos de uso, validación y revisión periódica de equipos e instalaciones.

Se Adjunta la siguiente información:

Se realizará un mantenimiento de las instalaciones y equipos por parte del Servicio de Mantenimiento de la Universidad de Navarra y empresas especializadas subcontratadas.

Se adjunta certificado ENAC de la empresa Alpe Metrología Industrial sobre

- las 4 salas (sala común, vestuario de entrada, laboratorio, vestuario de salida)
- las 2 cabinas de seguridad biológica

- Certificación instalación y validación SAS y sistema Peróxido de hidrógeno

- Contrato con empresa gestora de residuos (Consedur).

2) Indicar que otras normas internas (PNT) se aplican, tanto a la instalación como a la actividad o actividades que se desarrollan (exposición a agentes biológicos, experimentación con animales, gestión y eliminación de residuos, etc.)

A todo el personal que accede a las instalaciones previamente se le ha realizado una vigilancia de la salud específica y dispone de aptitud médica para estas actividades (Área de Medicina del trabajo. Servicio de Prevención de Riesgos Laborales de la Universidad de Navarra.

Los usuarios han sido informados y formados de los riesgos de la actividad.
Disponen de las fichas de seguridad de los agentes biológicos y OMGs y de Manual de Bioseguridad de Laboratorio.

La manipulación de los Agentes Biológicos y OMGs derivadas se realizará en cabinas de bioseguridad BIO-IIA siempre por personal especializado y entrenado para el trabajo con este tipo de microorganismos

El material empleado en las instalaciones nunca saldrá de las mismas sin ser previamente esterilizados. Una vez autoclavado se sacará a través del SAS.

Existe un protocolo de gestión de residuos derivados de las actividades con los agentes biológicos y OMGs:
Los líquidos son inactivados con hipoclorito sódico diluido y/o autoclavados.
Los sólidos son autoclavados, eliminados en bolsas cerradas, en contenedores rígidos, ya como residuos no biopeligrosos. Se sacan al exterior a través del SAS. Son retirados por una empresa gestora de residuos (Consedur). Dicha empresa sigue normas específicas para la contención de derrames.

Se cumplen las indicaciones de la normativa, R.D. 664/97 y Guía Técnica, 2014, protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo. Decreto Foral 296/1993, de 13 de septiembre, por el que se establece la normativa para la gestión de Residuos Sanitarios.
R.D.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, por la que se establece el régimen jurídico de la utilización confinada, liberación voluntaria y comercialización de organismos modificados genéticamente.



V. PLANES DE EMERGENCIA

(Se deberá cumplimentar para todos los casos excepto para operaciones de utilización confinada de Tipo 1).

- 1) Información sobre prevención de accidentes y planes de actuación en situaciones de emergencia:

El edificio cuenta con un plan de actuación en caso de emergencias implantado, que contempla tanto los recursos materiales (sistema de detección, alarma, sistema de extinción de incendios, señalización de rutas de evacuación...) como recursos humanos (jefe de emergencia, centro de control, equipo de primera intervención...).

Anualmente se realiza como mínimo un simulacro de evacuación

En caso de accidente, los profesionales están informados del modo de actuación; deberán acudir al Servicio de Urgencias de la Clínica Universidad de Navarra, CUN. Todo el personal ha sido formado e informado sobre ello.

Todos los trabajadores han realizado un curso de formación sobre Seguridad en el Laboratorio que imparte el Servicio de Prevención de Riesgos Laborales.

Se ha suministrado el Manual de Bioseguridad del Laboratorio donde se especifican normas de trabajo, gestión de residuos y normas de actuación en caso de accidente.

Únicamente está permitido el acceso a personas previamente autorizadas: acceso mediante tarjeta.

Ante ACCIDENTES derivados de la actividad, se tomarán las siguientes medidas:

Retirar del área al resto del personal e impedir el acceso al área.

Avisar (por orden):

- al Responsable de Seguridad (Dr. Gamazo, Dr. Moriyón) (si es necesario al propio domicilio).
- a uno de los Doctores del Departamento (si es necesario al propio domicilio).

En la desinfección de superficies y equipos de trabajo se seguirán las siguientes normas:

1. Se realizará siempre con el equipo completo de protección personal Buzo, Tyvek, guantes, mascarilla y gafas de protección.

2. Accidentes menores (tubos o matraces con menos de 100 ml de caldo, placas con cultivo):

- Cubrir los derrames con material absorbente, y añadir desinfectante Limoseptic Plus (disponible en el local).
- Dejar actuar durante 30 minutos antes de limpiar.
- Desechar los residuos en un contenedor específico. Posteriormente son autoclavados y se sacarán al exterior a través del SAS.
- La zona se desinfectará con hipoclorito sódico.

3. Accidentes relacionados con el arcón incubador (rotura de vidrios o caída de tapones).

- Vestir EPPs (EPIs) adecuados: Buzo, gafas, mascarilla, calzas...
- Detener la ventilación y el giro del arcón. Dejar 1h en reposo para que se depositen los aerosoles.



- Introducir los desinfectantes: NDP Air total (Vesimin) (sal de amonio cuaternario) y Sanit Total DVF (Proder Pharma), (glutaral y alcohol isopropílico)
Siguiendo las instrucciones del fabricante
- Ventilar.

- **Derrames accidentales o espumas en el fermentador.**

Secar el derrame con material absorbente.
Limpiar el área con hipoclorito al 1%

- **Para la desinfección completa del local se utilizará:**

Un sistema de desinfección por aerosolización de peróxido de hidrógeno (Equipo Albian BK100M650K).

Además se dispone de las siguientes formas complementarias de desinfección:

NDP Air total (Vesimin) (sal de amonio cuaternario)

Sanit Total DVF (Proder Pharma), (glutaral y alcohol isopropílico)

Se utilizarán según las instrucciones del fabricante

4. En el caso de accidente biológico por contacto, salpicadura, inhalación, punción o corte:

Exposición ocular a aerosoles o salpicaduras:

- Lavar al menos 15 minutos con agua.
- Acudir a Urgencias para valoración y tratamiento.

Exposición a agujas o material punzante.

- Lavar cuidadosamente la zona herida con agua corriente sin restregar
- Dejar manar la sangre durante 2-3 minutos (inducir el sangrado)
- Desinfectar la herida con povidona yodada (u otro desinfectante)
- Cubrir la herida con un apósito impermeable
- Acudir a Urgencias de Clínica Universidad de Navarra (situada en el edificio de enfrente) para valoración y tratamiento.

Inmunoprofilaxis y profilaxis antibiótica:

- No existen vacunas humanas fiables.
- De forma inmediata, ante la sospecha de infección accidental en el laboratorio, realizar un tratamiento profiláctico con doxiciclina a dosis normal durante 7 días.

Tratamiento:

- Estreptomina (15 días) combinada con doxiciclina (45 días).

2) Para instalaciones en las que se vayan a llevar a cabo operaciones de utilización confinada de tipo 3 y 4, deberá adjuntarse además la siguiente información:

a) Riesgos específicos y potenciales debidos al emplazamiento

No existen riesgos derivados del emplazamiento

b) Medidas preventivas aplicadas, tales como equipos de seguridad, sistemas de alarma y métodos de confinamiento.



Equipamiento de seguridad

- El acceso al laboratorio es restringido por tarjeta.
- El laboratorio se encuentre en depresión respecto a las zonas contiguas, ésta se consigue tras sucesivas caídas de presión en cada una de las esclusas de acceso al laboratorio de contención. Existen alarmas que detectan los cambios de presión
- Cuentan con una ducha y lavaojos de descontaminación.
- Para la manipulación de agentes biológicos se dispone de dos cabina de seguridad biológica IIA
- Dispone de dos autoclaves, un SAS, un equipo portátil de esterilización mediante peróxido de hidrógeno y una lámpara ultravioleta portátil.
- Los residuos líquidos son tratados en un sistema de tratamiento de aguas antes de su vertido al exterior.
- Existe un control desde el exterior mediante ventanas de observación y de un teléfono.
- Se dispone de un botiquín dentro del laboratorio.
- La señal de alarma del edificio es audible desde el interior de las instalaciones.

Más información en el apartado dedicado a la descripción de la Instalación

- c) Procedimientos y planes de comprobación de la eficacia permanente de las medidas de confinamiento.

Se realizará un mantenimiento preventivo de las instalaciones por parte del Servicio de Mantenimiento de la Universidad de Navarra y empresas especializadas subcontratadas.

Se dispone de contratos con empresas especializadas en el mantenimiento de cabinas de seguridad biológica, autoclaves, incubadores, fermentador, SAS, otros equipos.

Descripción de la información suministrada a los trabajadores.

Todos los trabajadores han realizado en Curso de Seguridad en Laboratorios que imparte el Servicio de Prevención de Riesgos Laborales.

Se les ha suministrado el Manual de Bioseguridad del Laboratorio y del manejo de los Agentes Biológicos y OMGs donde se especifican normas de trabajo, gestión de residuos y normas de actuación en caso de accidente.

Información necesaria para que la autoridad competente pueda evaluar los planes de respuesta en situación de emergencia elaborados de conformidad con el artículo 13 de la Directiva 2009/41/CE



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

Nº de Registro:

Nº de Notificación:

I. INFORMACIÓN GENERAL

1) Responsables de la actividad

a) Entidad

Nombre: UNIVERSIDAD DE NAVARRA

Dirección postal: Campus Universitario s/n, Pamplona (Navarra)

b) Representante legal de la entidad

Nombre y apellidos: Isidro Abad Gosálbez

NIF: 21389358W

Cargo: Gerente

Tel: 948425600

Fax: 948425619

Correo electrónico: iabad@unav.es

c) Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos: Ignacio Moriyón Uría

NIF: 10780218-A

Cargo: Catedrático Microbiología: Universidad de Navarra

Tel: 948425600

Fax: 948425619

Correo electrónico: imoriyon@unav.es

Nombre y apellidos: Maite Iriarte Cilveti

NIF: 15852206P

Cargo: Profesor Titular Microbiología: Universidad de Navarra

Tel: 948425600

Fax: 948425619

Correo electrónico: miriart@unav.es

Nombre y apellidos: Raquel Conde-Alvarez

NIF: 44615617-X



Cargo: Profesor Contratado Doctor Microbiología: Universidad de Navarra
Tel: 948425600
Fax: 948425619
Correo electrónico: rconde@unav.es

Nombre y apellidos: Amaia Zúñiga-Ripa
NIF: 44640839R
Cargo: Investigador Dpto Microbiología: Universidad de Navarra
Tel: 948425600
Fax:
Correo electrónico: azuniga@unav.es

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

Nombre y apellidos: Raquel Conde-Alvarez
NIF: 44615617-X
Cargo: Responsable bioseguridad Laboratorio P3
Tel: 948425600
Fax:
Correo electrónico: rconde@unav.es

Responsable de bioseguridad del Departamento de Microbiología
Nombre y apellidos: Carlos Gamazo de la Rasilla
NIF: 15838168-T
Cargo: Catedrático de Microbiología. Universidad de Navarra.
Tel: 948425600
Fax:
Correo electrónico: cgamazo@unav.es

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

Nombre y apellidos: Maite Iriarte Cilveti
NIF: 15852206P
Cargo: Profesor Titular Microbiología: Universidad de Navarra
Tel: 948425600
Fax: 948425619
Correo electrónico: miriart@unav.es

- 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 X 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).



[Ver 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:

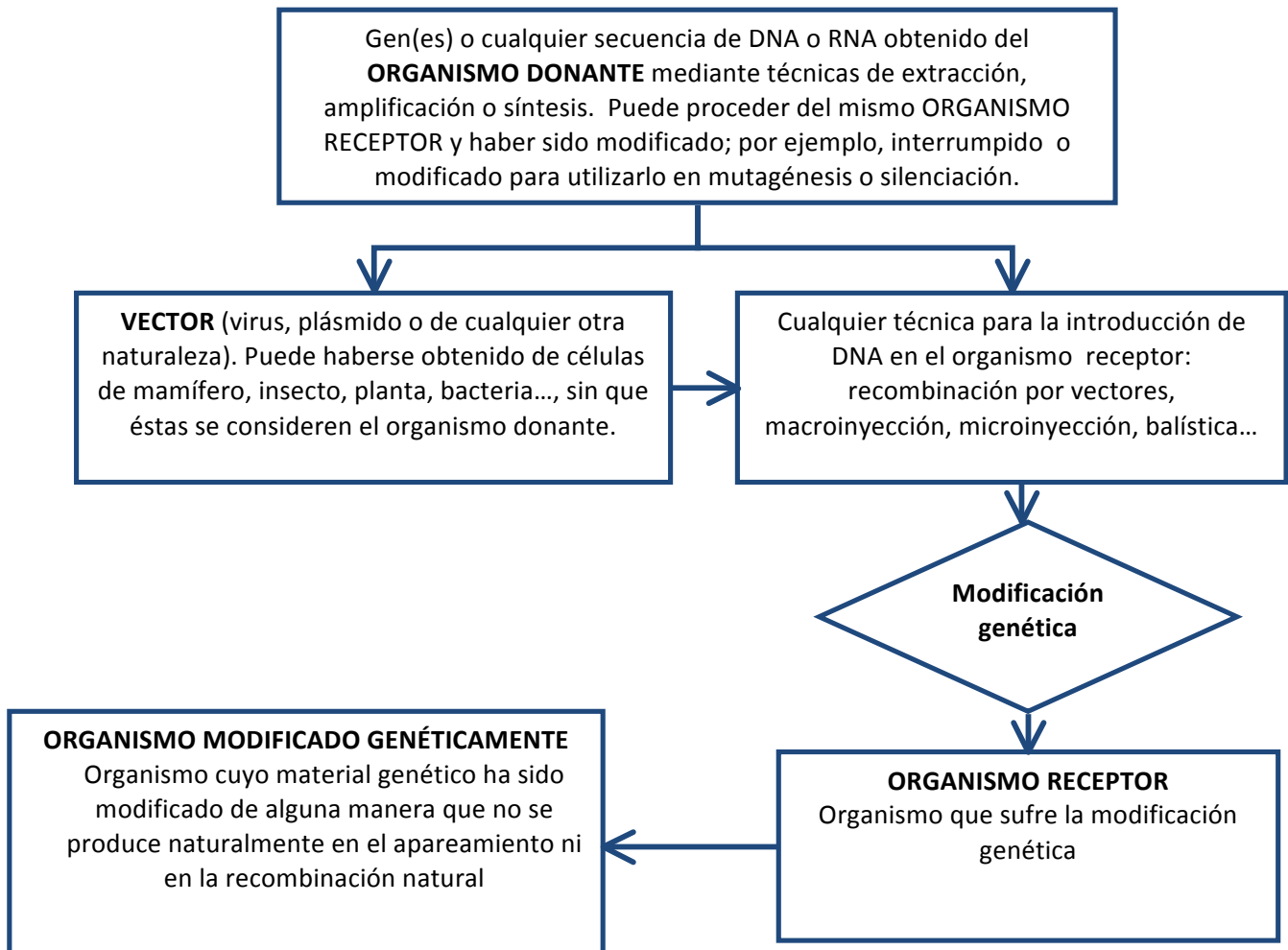
[Obtención de vacunas frente a la brucelosis](#)

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 3

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: Género *Brucella*; familia *Brucellaceae*
Nombre común: *Brucela abortus*,
- 2) Descripción de los métodos de identificación y aislamiento.
 - a) Técnicas de aislamiento:

Las cepas de *B. abortus*, se conservan liofilizadas en doble ampolla, bien a -80°C en crioviales con crioprotectores (glicerol, leche descremada o suero fetal-DMSO), en un congelador situado en una zona P3. Se aíslan en placas de medio de cultivo rico (Luria-Bertani Broth, Blood Agar Base, o trypticasa soja) que se incuban a 37°C durante 2-5 días.

- b) Técnicas de identificación:

Identificación convencional: 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, estreptomycin y polimixina B) y a los fagos Tb, Wb, Iz y R/C.



Identificación molecular: PCR específica

c) Marcadores genéticos:

Presencia de la secuencia IS711 o secuencias específicas de especie

d) Marcadores fenotípicos:

Aglutinación con antisueros específicos.

e) Estabilidad genética:

Estables (ausencia de plásmidos u otros elementos genéticos intercambiables con otras bacterias, o entre las propias brucelas).

3) Posibles modificaciones genéticas anteriores:

Sin modificaciones genéticas previas

4) ¿Se considera patógeno el organismo receptor?

SI X 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:

Los microorganismos vivos pueden ser patógenos 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.):

Brucella abortus, (organismo receptor) está clasificada como patógeno tipo 3.

a) ¿De que modo se manifiesta la patogenicidad?

En humanos: fiebre, artromialgia, fibromialgia y otros síntomas no específicos
En animales (principalmente rumiantes): aborto y esterilidad.

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

SI X NO

Porqué: la bacteria no posee mecanismos de intercambio genético.

7) 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:

Las personas que interviene en el proyecto llevan trabajando con distintas especies del género *Brucella* desde hace décadas, sin haber tenido accidente alguno y están familiarizadas con todos los aspectos relativos a la 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?:

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.

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 | <input type="checkbox"/> |

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

Son desfavorables el calor, la exposición a la luz o al sol y la sequedad.

- d) Posibles nichos ecológicos:

Ninguno fuera de los huéspedes animales naturales.

- e) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:

NO se multiplica en ambientes naturales (aparte de sus huéspedes).

- 10) Efectos posibles sobre el medio ambiente:

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

Ninguno

- b) Interacciones con otros organismos y efectos sobre éstos:

Ninguno



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

Brucella abortus se encuentra en rumiantes, camélidos, suidos, lépidos, varias especies de roedores salvajes, pinnípedos y cetáceos en todos los lugares del mundo donde se ha investigado su presencia.

- 12) Hábitat natural del organismo:

El interior de varios tipos de células (macrófagos, dendríticas, células epiteliales y otras) de sus huéspedes (ver 11).

IV. INFORMACIÓN RELATIVA AL ORGANISMO DONANTE

- 1) Nombre científico: *Brucella abortus*
Taxonomía: Género *Brucella*; familia *Brucellaceae*
Nombre común: *Brucella abortus*

- 2) Tipo de material genético obtenido del organismo donante:

Distintos genes implicados en el metabolismo de *Brucella* con una delección en la región central

- 3) Método de obtención:

- a) Extracción
b) PCR X
c) Síntesis *in vitro*

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

Los genes están supuestamente implicados en el metabolismo de *Brucella*

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

SI X NO

- a) En caso afirmativo, especificar para que organismos:

- i) seres humanos X
ii) animales X
iii) plantas

- b) ¿De que modo se manifiesta la patogenicidad?

En humanos: fiebre, artromialgia, fibromialgia y otros síntomas no específicos.
En animales (principalmente rumiantes): aborto y esterilidad

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



No

5) ¿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 X
- b) Deleción de material genético X
- c) Sustitución de bases
- d) Fusión celular
- e) Otros, especifíquese

2) Finalidad de la modificación genética:

La finalidad de cada una de las construcciones es construir mutantes defectuosos en el metabolismo de *Brucella*. Generar atenuación o avirulencia

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

Se seguirá el mismo procedimiento para todas las construcciones

El gen *de interés* mutado se clonará en el vector pJQK. El plásmido derivado de pJQK en el que se ha clonado el gen *de interés* mutado se introducirá en *Brucella abortus* por conjugación. El plásmido es suicida y no puede replicarse en *Brucella abortus*. Se producirá la recombinación homóloga entre el gen salvaje presente en el cromosoma y el gen mutado presente en el plásmido.

El resultado final de este proceso es la sustitución, en el cromosoma de *Brucella abortus*, del gen *de interés* salvaje por el gen *de interés* mutado. El organismo obtenido tiene una mutación no polar y no lleva ningún marcador de resistencia a antibiótico adicional. El plásmido suicida, al no poder replicarse en *Brucella abortus*, se extingue. Para más información ver la referencia:

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

SÍ NO

En caso afirmativo:

a. Tipo e identidad del vector:

Se utilizará el mismo plásmido para realizar todas las construcciones

Plásmido derivado del vector pJQK (también llamado pJQKm)



El vector pJQK y sus derivados son suicidas (es decir no pueden replicarse) en *Brucella abortus*, y ello lleva a la extinción del plásmido. En este vector se clonará el **gen de interés** mutado.

- b. Si se trata de un virus: No procede

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):

Se muestra la carta del vector pJQK (pJQKm) con los genes y sitios de restricción más significativos. En el polisitio de clonaje (MCS) se clonará el **gen de interés** mutado.

Características más importantes del vector pJQKm y sus derivados

KmR: Gen que confiere resistencia a Kanamicina.

sacBR: Gen que confiere la sensibilidad a la sacarosa

oriV: Origen de replicación (p15a ori de pACYC184). Funcional sólo en enterobacterias

oriT: Origen de transferencia RP4. Permite la movilización del plásmido en bacterias Gram negativas

lacZα: codifica el péptido alfa de la beta-galactosidasa. Permite la identificación de fragmentos clonados

traJ: codifica la proteína que se une a oriT y se requiere para la transferencia del plásmido durante el proceso de conjugación

- d. Gama de hospedadores del vector:

Enterobacterias

- e. Características de la movilidad del vector:

- i) factores de movilización

El vector es únicamente movilizable entre una bacteria Gram negativa previamente tratada y un *E. coli* específico que contenga el plásmido, y únicamente en condiciones óptimas de incubación (37°C)

- 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?

Si, pero únicamente en las condiciones de movilización descritas arriba

- 5) Información del inserto:

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

El inserto contiene el gen presuntamente implicado en el metabolismo de *Brucella* con



una delección de la región central

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

Puesto que el gen del inserto tiene una delección interna no es funcional.

c) Descripción del método utilizado para la transformación:

Se seguirá el mismo procedimiento para todas las construcciones

El plásmido derivado de pJQK donde se ha *clonado el gen de interés* mutado se introducirá por transformación en la cepa de *E.coli* S17 λ -*pyr* (nalidixico (Nal) sensible) y se transferirá a *B. abortus* (Nal R, kanamicina (Km) S) por conjugación. El plásmido derivado de pJQK no puede replicarse en *Brucella* y, por lo tanto, el gen mutado presente en este plásmido se recombinará con la región correspondiente del cromosoma de *B. abortus* donde se encuentra el gen salvaje. Los exconjugantes donde se produzca la primera recombinación y, por lo tanto, la integración de todo el plásmido suicida en el cromosoma, se seleccionarán sobre placas de TSA con Nal y Km mantenidas a 37°C.

Para favorecer la segunda recombinación, las bacterias se crecieron a 37 °C, en medio líquido con agitación, pero sin Km. Aquellas en las que se produjo la doble recombinación, se seleccionaron en TSA con Nal y sacarosa al 5% y se comprobará que se vuelven sensibles a la Km. Para diferenciar los clones en los que la segunda recombinación de lugar a la recuperación del gen salvaje, de aquellos en los que se produzca la sustitución del gen salvaje por el gen mutado, se realizará una PCR con cebadores que flanquean la ORF. En el primer caso (recuperación del gen salvaje) el tamaño esperado del fragmento será mayor que en el segundo (obtención del mutante).

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

El inserto contiene el gen presuntamente implicado en el metabolismo de *Brucella* con una delección de la región central

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

No hay

f) ¿El inserto ha sido secuenciado completamente?

Si

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

No

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

No



VI. INFORMACIÓN RELATIVA AL ORGANISMO MODIFICADO GENÉTICAMENTE

1) Estado y expresión del material genético introducido:

Común a todas las construcciones

a) ¿Es un plásmido libre? **NO**

En caso afirmativo:

i) Número de copias:

ii) ¿El plásmido recuperado corresponde al construido?

b) ¿Está integrado en los cromosomas nucleares?

SI.

Al introducir el material genético se produce la sustitución del gen original presente en el cromosoma bacteriano por el gen mutado. Este gen mutado es inactivo.

En caso afirmativo:

i) número de copias: **1**

ii) localización cromosómica: **el gen mutado se localiza en la misma zona del cromosoma donde estaba el gen original al que ha sustituido**

iii) secuencias colindantes **Las mismas que en el organismo original**

iv) ¿La inserción activa o inactiva la expresión de otros genes?: **La inserción inactiva únicamente el gen que se quiere mutar. El mutante construido es NO polar y por lo tanto la expresión de otros genes NO se ve alterada.**

c) Si se trata de un virus: No procede

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): **PCR con oligonucleótidos específicos que hibridan en ambos extremos del gen de interés**

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.

No procede

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
Se estudiará cuando se obtenga el OMG

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



- Se estudiará cuando se obtenga 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:
El metabolismo de Brucella es un factor clave para su virulencia. Se espera que una mutación en un gen metabólico disminuya la virulencia (es decir se espera que la OMG resultante esté más atenuada que la cepa original)
- d) ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta a los posibles efectos sobre el medio ambiente? En caso afirmativo, especifíquese:
Se estudiará cuando se obtenga el OMG
- e) ¿Es diferente el OMG en cuanto a las características nutricionales? En caso afirmativo, especifíquese:
Se estudiará cuando se obtenga el OMG
- f) Marcadores específicos del OMG:

El gen implicado en el metabolismo con una delección en la región central

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 existe

5) Descripción de métodos de identificación y aislamiento empleados.

- a) Técnicas utilizadas para la identificación del OMG.

El OMG se puede diferenciar de la cepa parental mediante una reacción de PCR empleando dos oligonucleótidos que hibriden uno con la región situada antes del codon de iniciación del gen de interés y otro con la región situada inmediatamente después del codon "stop" de dicho gen. El tamaño del fragmento PCR obtenido será mayor en el caso de la cepa parental que en el caso del OMG

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

No se va a liberar al medio ambiente.



VII. DESCRIPCIÓN DE LAS OPERACIONES

1) Naturaleza de las operaciones:

- a) Enseñanza
- b) Investigación X
- c) Desarrollo

2) Volumen o cantidad de OMG a utilizar:

a) Volumen máximo en el caso de microorganismos:

Volumen máximo: 10 ml por experimento

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)).

10 años prorrogable según resultados

Financiación: AGL2014-58795-C4-1-R. Ministerio de Economía y Competitividad

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

Estudio del papel del metabolismo en la virulencia de *Brucella* con el objetivo final de desarrollar nuevas vacunas contra la brucelosis

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:

La OMG se va a generar en nuestro laboratorio

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 transporte se realizará con una empresa especializada y siguiendo las normas de seguridad previstas para *Brucella*: Infectious substances in category A. packing instructions P620, label UN2814

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.



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 se realizará en campana de bioseguridad BIO-IIA situada dentro de un laboratorio con biocontención tipo 3 cuya autorización se solicita (ver Parte B)

La manipulación se realizará siempre por personal especializado y entrenado para el trabajo con este tipo de microorganismos. El cultivo se realizará en 15 ml de medio de cultivo líquido en matraces de 25 ml (por experimento). También se realizarán cultivos en medio sólido (placas de Petri).

La concentración máxima de los cultivos en medio líquidos será de 10^8 ufc/ml.

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

El OMG resultante se manejará en la Instalación de nivel de contención 3 para la cual se solicita la autorización (Ver Parte B)

- Las instalaciones se encuentran en una zona de acceso prohibido al público general. El acceso está controlado mediante tarjetero electrónico y restringido sólo a personal autorizado.
- En caso de corte de corriente, todo el funcionamiento de la instalación está garantizado por un grupo electrógeno.
- La puerta de entrada dispone del correspondiente pictograma de riesgo biológico y acceso restringido.
- El equipamiento que aloja material biológico está señalizado con el pictograma de peligro biológico
- La instalación es hermética y estanca (incluyendo las salidas de aire, luminarias, enchufes) para permitir la fumigación
- Las ventanas están selladas y no son practicables.
- Las superficies son de fácil limpieza. Las paredes, suelos y techos son continuos, redondeadas y sin aristas y están recubiertos con un material termosellado que facilita su limpieza.
- La instalación consta de una entrada y una salida por esclusas independientes.
- Existen dos sistemas de exclusa en serie que actúan "en cascada" para evitar la salida del aire contaminado al resto del edificio
- La regulación se encargará de mantener el interior de los locales en depresión respecto al exterior de forma escalonada, lo que unido a la presencia de las dos esclusas, impide que las dos puertas de paso de cada una de ellas puedan estar abiertas de forma simultánea, y garantiza que no pueda existir flujo de aire desde estos locales hacia el exterior.
- La sala de trabajo se encuentra en presión negativa de modo que se contenga el potencial riesgo dentro de dicha sala.
- **La vestimenta** que se utiliza (buzo Tyvek calzas, gorro, guantes, mascarilla) se autoclava en el interior de la instalación y se saca de la instalación a través de un SAS
- **Dentro de la sala de trabajo** existen equipos propios como son dos cabinas de seguridad clase II-A, dos autoclaves, dos estufas, dos incubadores, centrifuga con rotor de seguridad biológica para evitar aerosoles, fermentador, bioscreen, frigorífico a 4°C y un arcón a -80°C, espectrofotómetro, microscopio, SAS, un equipo portátil para esterilización con peróxido de hidrógeno y una lámpara móvil de luz UV.



- La zona de trabajo dispone de ventana de observación así como de teléfono para comunicarse con el exterior.

A todo el personal que accede a las instalaciones previamente se le ha realizado una vigilancia de la salud específica y dispone de aptitud médica para estas actividades (Área de Medicina del trabajo. Servicio de prevención de riesgos laborales. Los investigadores han realizado los reconocimientos médicos previstos por la ley (art 22. ley 31/1995) y son aptos para los trabajos asignados.

Los usuarios han sido informados y formados de los riesgos de la actividad. Disponen de las fichas de seguridad de los agentes biológicos y OMGs y de Manual de Bioseguridad de Laboratorio.

La manipulación de los Agentes Biológicos y OMGs derivadas se realizará en cabinas de bioseguridad BIO-IIA siempre por personal especializado y entrenado para el trabajo con este tipo de microorganismos

El material empleado en las instalaciones nunca saldrá de las mismas sin ser previamente esterilizados. Una vez autoclavado se sacará a través del SAS.

Existe un protocolo de gestión de residuos derivados de las actividades con los agentes biológicos y OMGs: Los líquidos son inactivados con hipoclorito sódico diluido y/o autoclavados. Los sólidos son autoclavados, eliminados en bolsas cerradas, en contenedores rígidos, ya como residuos no biopeligrosos. Se sacan al exterior a través del SAS. Son retirados por una empresa gestora de residuos (Consedur). Dicha empresa sigue normas específicas para la contención de derrames.

Se cumplen las indicaciones de la normativa, R.D. 664/97 y Guía Técnica, 2014, protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo.

Decreto Foral 296/1993, de 13 de septiembre, por el que se establece la normativa para la gestión de Residuos Sanitarios.

R.D.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, por la que se establece el régimen jurídico de la utilización confinada, liberación voluntaria y comercialización de organismos modificados genéticamente.

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

- 1) Proximidad a fuentes de peligro potenciales:

No hay ninguna fuente de peligro potencial en la proximidad

- 2) Descripción de las condiciones climáticas predominantes:

Condiciones ambientales (temperatura, luz y presión del aire) controladas por un sistema de climatización propio del Laboratorio P3.

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



Ver Parte B

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

1) Adopción de las Buenas Prácticas de Laboratorio:

Se seguirán las siguientes normas:

- a. mantener la exposición del lugar de trabajo y del medio ambiente a cualquier organismo modificado genéticamente al nivel más bajo posible en la práctica
- b. aplicar medidas de control industrial en la fuente y, de ser necesario, completar éstas con vestimenta y equipo personal de protección adecuados
- c. comprobar y mantener de forma adecuada las medidas y equipos de control
- d. verificar, cuando proceda, la presencia de organismos de proceso viables fuera del confinamiento físico primario
- e. proporcionar al personal la formación adecuada
- f. crear comités y subcomités de seguridad biológica, si es preciso
- g. formular y aplicar códigos de práctica locales para la seguridad del personal, según las necesidades
- h. si procede, disponer señales de riesgo biológico
- i. establecer instalaciones de limpieza y descontaminación para el personal
- j. llevar los correspondientes registros
- k. prohibir que se coma, beba, fume, se empleen cosméticos o se almacenen alimentos para el consumo humano en la zona de trabajo
- l. prohibir pipetear con la boca
- m. establecer, si procede, protocolos de trabajo por escrito con el fin de garantizar la seguridad
- n. tener a disposición desinfectantes adecuados y procedimientos específicos de desinfección en caso de que organismos modificados genéticamente se hayan esparcido (por ejemplo, duchas lavaojos)
- o. disponer en caso necesario de un lugar de almacenamiento de total seguridad para equipo y materiales de laboratorio contaminados

Previo al inicio del trabajo y anualmente, todos los trabajadores serán citados por el Servicio de Prevención de Riesgos Laborales de la Universidad de Navarra para realizar la vigilancia de la salud. Será preceptiva la aptitud médica para continuar con la actividad de investigación. Esta vigilancia incluirá una serología convencional (rosa de Bengala y, si es positiva, SAT y Coombs). Los resultados se conservarán en un Registro en la Secretaría del Depto. y las muestras de suero se guardan en un contenedor específico dentro del congelador de la Colección de Sueros del Depto. La historia médica laboral de los investigadores se custodia en las instalaciones del Servicio de Prevención.

2) Formación del personal adscrito:



La instalación dispone de un sistema de tratamiento de aguas residuales antes del vertido al colector general.

Los residuos sólidos así como todo el material que ha estado en contacto con los microorganismos son autoclavados y eliminados en contenedores cerrados. Se sacarán de la instalación a través del SAS.

Una vez fuera de la instalación, son trasladados a un almacén debidamente señalizado, en espera de ser recogidos por la empresa gestora de residuos. La empresa gestora es CONSENUR.

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

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

- 2) Equipamiento de seguridad (especifíquese):
Equipo completo de protección personal. Para trabajo en P3: Buzo Tyvek, mascarilla, gafas de protección, guantes etc...
 - El acceso al laboratorio es restringido por tarjeta.
 - El laboratorio se encuentre en depresión respecto a las zonas contiguas, ésta se consigue tras sucesivas caídas de presión en cada una de las esclusas de acceso al laboratorio de contención.
 - Cuentan con una ducha y lavajos de descontaminación.
 - Para la manipulación de agentes biológicos se dispone de dos cabina de seguridad biológica IIA
 - Dispone de dos autoclaves, un SAS, un equipo portátil de esterilización mediante peróxido de hidrógeno y una lámpara ultravioleta portátil.
 - Los residuos líquidos son tratados en un sistema de tratamiento de aguas antes de su vertido al exterior.
 - Existe un control desde el exterior mediante ventanas y de un teléfono.
 - Se dispone de un botiquín dentro del laboratorio.
 - La señal de alarma del edificio es audible desde el interior de las instalaciones.

- 3) Descripción de la información suministrada a los trabajadores:
Los trabajadores disponen de la “Hoja de Seguridad de Brucella” elaborada en el departamento de Microbiología de la Universidad de Navarra. Este protocolo se lleva utilizando durante más de 40 años sin dar lugar a ninguna incidencia.

En caso de accidente, los profesionales están informados del modo de actuación; deberán acudir al Servicio de Urgencias de la Clínica Universidad de Navarra, CUN. Todo el personal ha sido formado e informado sobre ello.

Todos los trabajadores han realizado un curso de formación Seguridad en el Laboratorio que imparte el Servicio de Prevención de Riesgos Laborales.

Se ha suministrado el Manual de Bioseguridad del Laboratorio donde se especifican normas de trabajo, gestión de residuos y normas de actuación en caso de accidente.



Únicamente está permitido el acceso a personas previamente autorizadas: acceso mediante tarjeta.

4) Planes de emergencia:

El Edificio donde está situado el laboratorio de contención 3 dispone de Plan de Emergencia de Autoprotección, anualmente se realizan simulacros de evacuación.

Los edificios cuenta con un plan de actuación en caso de emergencias implantado, que contempla tanto los recursos materiales (sistema de detección, alarma, sistema de extinción de incendios, señalización de rutas de evacuación...) como recursos humanos (jefe de emergencia, centro de control, equipo de primera intervención...).

Están nombrados Equipos de Primera Intervención, sus integrantes han recibido una formación específica acerca de las normas a atender en caso de producirse una emergencia y una formación práctica sobre el uso de los medios de extinción.

Principales riesgos en el laboratorio:

- Aerosoles (riesgo más importante), tras producirse un derrame o una mala praxis.
- Cortes y punciones en el manejo de agujas.

Ante derrames derivados de la actividad se tomarán las siguientes medidas

Retirar del área al resto del personal e impedir el acceso al área.

Avisar (por orden):

- al Responsable de Seguridad (Dr. Gamazo, Dr. I.Moriyón) (si es necesario al propio domicilio).
- a uno de los Doctores del Departamento (si es necesario al propio domicilio).

En la limpieza y desinfección de derrames se deben seguir las siguientes normas:

1. Se realizará siempre con el equipo completo de protección personal Buzo, Tyvek, guantes, mascarilla y gafas de protección.

2. Accidentes menores (tubos o matraces con menos de 100 ml de caldo, placas con cultivo,):

- Cubrir los derrames con material absorbente, y añadir desinfectante Limoseptic Plus (disponible en el local).
- Dejar actuar durante 30 minutos antes de limpiar
- Desechar los residuos en un contenedor específico. Posteriormente serán autoclavados y se sacarán al exterior a través del SAS
- La zona se desinfectará con hipoclorito sódico

3. Accidentes en el incubador (rotura de vidrios o caída de tapones).

- Vestir EPPs adecuados: Buzo, gafas, mascarilla, calzas,
- Detener la ventilación y el giro del arcón. Dejar 1h en reposo para que se depositen los aerosoles.
- Introducir los desinfectantes: NDP Air total (Vesismin) (sal de amonio cuaternario) y Sanit Total DVF (Proder Pharma), (glutaral y alcohol isopropílico) Siguiendo las instrucciones del fabricante



- Ventilar.

Derrames accidentales o espumas en el fermentador.

Secar el derrame con material absorbente.

Limpiar el área con hipoclorito al 1%

Para la desinfección completa del local se utilizará:

Se dispone de un sistema de desinfección por aerosolización de peróxido de hidrógeno (Equipo Albian BK100M650K).

Además se dispone de las siguientes formas complementarias de desinfección:

NDP Air total (Vesismin) (sal de amonio cuaternario

Sanit Total DVF (Proder Pharma), (glutaral y alcohol isopropílico

Se utilizarán según las instrucciones del fabricante

En el caso de accidente por inhalación, contacto, punción o corte:

- Exposición ocular a aerosoles o salpicaduras:
Lavar al menos 15 minutos con agua.
Acudir al Urgencias para valoración y tratamiento.
- Exposición por agujas o material punzante.
Lavar cuidadosamente la zona herida con agua corriente, sin restregar.
Dejar manar la sangre durante 2-3 minutos (inducir el sangrado).
Desinfectar la herida con povidona yodada (u otro desinfectante).
Cubrir la herida con un apósito impermeable.
Acudir al Urgencias para valoración y tratamiento.

Inmunoprofilaxis y profilaxis antibiótica:

- * No existen vacunas humanas fiables.
- * De forma inmediata, ante la sospecha de infección accidental en el laboratorio, realizar un tratamiento profiláctico con doxiciclina a dosis normal durante 7 días.

Tratamiento:

- * Estreptomina (15 días) combinada con doxiciclina (45 días).



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

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

Cumplimentar un formulario tipo C por cada actividad tipo 2, 3 o 4. En caso de actividades tipo 1, deben seguirse las instrucciones recogidas en el apartado III.1.a de la Guía para la remisión de solicitudes de registro de instalaciones.

I. RESPONSABLES DE LA ACTIVIDAD

1) Entidad

Nombre: UNIVERSIDAD DE NAVARRA

Dirección postal: Campus Universitario s/n, Pamplona (Navarra)

2) Representante legal de la entidad

Nombre y apellidos: Isidro Abad Gosálbez

NIF: 21389358W

Cargo: Gerente

Tel: 948425600

Fax: 948425619

Correo electrónico: iabad@unav.es

3) Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos: Ignacio Moriyón Uría

NIF: 10780218-A

Cargo: Catedrático Microbiología: Universidad de Navarra

Tel: 948425600

Fax: 948425619

Correo electrónico: imoriyon@unav.es

Nombre y apellidos: Maite Iriarte Cilveti

NIF: 15852206P

Cargo: Profesor Titular Microbiología: Universidad de Navarra

Tel: 948425600

Fax:

Correo electrónico: miriart@unav.es

Nombre y apellidos: Amaia Zúñiga-Ripa

NIF: 44640839R

Cargo: Investigador Dpto Microbiología: Universidad de Navarra



Tel: 948425600
Fax:
Correo electrónico: azuniga@unav.es

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

Nombre y apellidos: Raquel Conde-Alvarez
NIF: 44.615.617 X
Cargo: Responsable bioseguridad Laboratorio P3
Tel: 948425600
Fax:
Correo electrónico: rconde@unav.es

Responsable de bioseguridad del Departamento de Microbiología

Nombre y apellidos: Carlos Gamazo de la Rasilla
NIF: 15838168-T
Cargo: Catedrático de Microbiología. Universidad de Navarra.
Tel: 948425600
Fax:
Correo electrónico: cgamazo@unav.es

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

Nombre y apellidos: Maite Iriarte Cilveti
NIF: 15852206P
Cargo: Profesor Titular Microbiología: Universidad de Navarra
Tel: 948425600
Fax: 948425619
Correo electrónico: miriart@unav.es

II. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD.

1. Objetivo de la actividad:

[Obtención de vacunas frente a la brucelosis](#)

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).

[10 años prorrogable según resultados](#)

Financiación: AGL2014-58795-C4-1-R. Ministerio de Economía y Competitividad

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.



- a) Organismo receptor.
Brucella abortus. Más información en Parte A
- b) Organismo donante.
Brucella abortus. Más información en Parte A
- c) Inserto.

Genes implicados en el metabolismo con una deleción en la región central
Puesto que los genes tiene(n) una deleción interna no son funcionales.

- d) Vector.
pJQK (también llamado pJQKm)
- e) Organismo modificado genéticamente resultante.

Mutantes implicados en el metabolismo
- f) Efectos para la salud humana y la sanidad animal y vegetal.
Los mismos que el organismos receptor. Se confirmará cuando se disponga del
OMG
- g) Efectos para el medio ambiente.
Ninguno

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 3 X

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 manipulación se realizará dentro de laboratorio y animalario con biocontención tipo 3 para el que solicita autorización (ver Parte B).

- Las instalaciones se encuentran en una zona de acceso prohibido al público general. El acceso está controlado mediante tarjetero electrónico y restringido sólo a personal autorizado.
- En caso de corte de corriente, todo el funcionamiento de la instalación está garantizado por un grupo electrógeno.
- La puerta de entrada dispone del correspondiente pictograma de riesgo biológico y acceso restringido.
- El equipamiento que aloja material biológico está señalizado con el pictograma de peligro biológico



- La instalación es hermética y estanca (incluyendo las salidas de aire, luminarias, enchufes) para permitir la fumigación
- Las ventanas están selladas y no son practicables.
- Las superficies son de fácil limpieza. Las paredes, suelos y techos son continuos, redondeadas y sin aristas y están recubiertos con un material termosellado que facilita su limpieza.
- La instalación consta de una entrada y una salida por esclusas independientes.
- Existen dos sistemas de exclusa en serie que actúan “en cascada” para evitar la salida del aire contaminado al resto del edificio
- La regulación se encargará de mantener el interior de los locales en depresión respecto al exterior de forma escalonada, lo que unido a la presencia de las dos esclusas, impide que las dos puertas de paso de cada una de ellas puedan estar abiertas de forma simultánea, y garantiza que no pueda existir flujo de aire desde estos locales hacia el exterior.
- La sala de trabajo se encuentra en presión negativa de modo que se contenga el potencial riesgo dentro de dicha sala.
- **La vestimenta** que se utiliza (buzo Tyvek calzas, gorro, guantes, mascarilla) se autoclava en el interior de la instalación y se saca de la instalación a través de un SAS

Dentro de la sala de trabajo existen equipos propios como son dos cabinas de seguridad clase II-A, dos autoclaves, dos estufas, dos incubadores, centrifuga con rotor de seguridad biológica para evitar aerosoles, fermentador, bioscreen, frigorífico a 4°C y un arcón a -80°C, espectrofotómetro, microscopio, SAS, un equipo portátil para esterilización con peróxido de hidrógeno y una lámpara móvil de luz UV.

- La zona de trabajo dispone de ventana de observación así como de teléfono para comunicarse con el exterior.

A todo el personal que accede a las instalaciones previamente se le ha realizado una vigilancia de la salud específica y dispone de aptitud médica para estas actividades (Area de Medicina del trabajo. Servicio de prevención de riesgos laborales. Los investigadores han realizado los reconocimientos médicos previstos por la ley (art 22. ley 31/1995) y son aptos para los trabajos asignados.

Los usuarios han sido informados y formados de los riesgos de la actividad. Disponen de las fichas de seguridad de los agentes biológicos y OMGs y de Manual de Bioseguridad de Laboratorio.

La manipulación de los Agentes Biológicos y OMGs derivadas se realizará en cabinas de bioseguridad BIO-IIA siempre por personal especializado y entrenado para el trabajo con este tipo de microorganismos

El material empleado en las instalaciones nunca saldrá de las mismas sin ser previamente esterilizados. Una vez autoclavado se sacará a través del SAS.

Existe un protocolo de gestión de residuos derivados de las actividades con los agentes biológicos y OMGs: Los líquidos son inactivados con hipoclorito sódico diluido y/o autoclavados. Los sólidos son autoclavados, eliminados en bolsas cerradas, en contenedores rígidos, ya como residuos no biopeligrosos. Se sacan al exterior a través del SAS. Son retirados por una empresa



gestora de residuos (Consenur). Dicha empresa sigue normas específicas para la contención de derrames.

Se cumplen las indicaciones de la normativa, R.D. 664/97 y Guía Técnica, 2014, protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo.

Decreto Foral 296/1993, de 13 de septiembre, por el que se establece la normativa para la gestión de Residuos Sanitarios.

R.D.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, por la que se establece el régimen jurídico de la utilización confinada, liberación voluntaria y comercialización de organismos modificados genéticamente.

b) Concentración y escala utilizadas.

El proceso se realizará a escala experimental, Máximo 10 ml por cultivo

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).

Los cultivos se realizarán en cabinas de flujo laminar tipo Bio-IIA, dentro de un laboratorio P3 (Ver Parte B) y teniendo en cuenta las medidas preventivas necesarias en la realización de cualquier operación en este tipo de laboratorios. 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 ni se liberen al entorno.

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

Nivel de riesgo 3.

El grado 3 de confinamiento es suficiente para proteger la salud humana o animal y el medio ambiente.

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

No es previsible que los OMG's objeto de estudio produzcan efectos nocivos en la salud humana o animal, ni sobre el medio ambiente, dadas las condiciones de manipulación de los mismos y las condiciones de confinamiento a las que son sometidos en las instalaciones.

La manipulación del OMG's se realizará en una campana de bioseguridad situada dentro de un laboratorio con biocontención tipo 3, campana de flujo laminar vertical 30/70.

La manipulación se realizará siempre por personal especializado, autorizado y entrenado para el trabajo con este tipo de microorganismos.

Es obligatorio el cambio de ropa de trabajo de modo que el investigador se colocará un buzo desechable, calzas, gafas de seguridad, guantes y mascarilla P3 al entrar a este laboratorio.



La sala cuenta con un autoclave, un sistema de descontaminación mediante peróxido de hidrógeno (en adelante SAS) y un equipo portátil de descontaminación mediante peróxido de hidrógeno.

Existe un protocolo de gestión de residuos: los líquidos son tratados en una estación de tratamiento de aguas antes de ser vertidos en el colector general, los sólidos son autoclavados antes de su eliminación en contenedores cerrados ya como residuos biopeligrosos. La empresa gestora es CONSENUR.

Servicios auxiliares: sistema de tratamiento de residuos sólidos y líquidos.

Existe un procedimiento de actuación para el caso de que se produzca un derrame de material biológico. Ver punto 5.4.

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

El laboratorio de contención de nivel 3 está localizados en el dpto. Microbiología de la Universidad de Navarra. Edificio de Investigación.

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, tratamiento en SAS o tratamiento de aguas residuales) previamente a su eliminación.

No se estiman peligros derivados de la ubicación de la instalación.

5.2. Condiciones en las que podría producirse un accidente.

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

Existe un procedimiento para la recogida de derrames.

Existe un protocolo, conocido por los investigadores, para evitar infecciones locales, la herida será tratada con un desinfectante eficaz (povidona yodada, clorhexidrina al 5% u otro en su defecto).

Será atendido en el Servicio de Urgencia de la Clínica Universidad de Navarra y se aplicará el protocolo ante accidente biológico, como medida preventiva ante un accidente grave se podría tratar con antibióticos al sujeto del accidente.

5.3. Equipos de seguridad, sistemas de alarma y métodos de confinamiento adicionales.

Vigilancia de las instalaciones mediante, teléfono y sistemas de alarmas y de domótica.



El acceso está limitado al personal que tiene la formación necesaria para trabajar con microorganismos de nivel 3. Este personal tiene una única tarjeta de acceso.

Medidas de confinamiento:

- Manipulación de los microorganismos en cabinas de bioseguridad IIA, (Telstar).
- Autoclave y SAS.
- Presión negativa en cascada.
- Esclusa de entrada y salida de la sala con bloqueo de puertas.
- Luz ultravioleta.
- Buzo de trabajo desechable.
- Guantes de nitrilo.
- Mascarillas respiratorias tipo FFP3.
- Gafas de protección.
- Ducha y dispositivo para lavado ocular.
- Botiquín de primeros auxilios.

5.4. Planes de emergencia.

El Edificio donde está situado el laboratorio de contención 3 dispone de Plan de Emergencia de Autoprotección, anualmente se realizan simulacros de evacuación.

Los edificios cuenta con un plan de actuación en caso de emergencias implantado, que contempla tanto los recursos materiales (sistema de detección, alarma, sistema de extinción de incendios, señalización de rutas de evacuación...) como recursos humanos (jefe de emergencia, centro de control, equipo de primera intervención...).

Están nombrados Equipos de Primera Intervención, sus integrantes han recibido una formación específica acerca de las normas a atender en caso de producirse una emergencia y una formación práctica sobre el uso de los medios de extinción.

Principales riesgos en el laboratorio:

- Aerosoles (riesgo más importante), tras producirse un derrame o una mala praxis.
- Cortes y punciones en el manejo de agujas.

Ante derrames derivados de la actividad se tomarán las siguientes medidas

Retirar del área al resto del personal e impedir el acceso al área.

Avisar (por orden):

- al Responsable de Seguridad (Dr. Gamazo, Dr. I.Moriyón) (si es necesario al propio domicilio).
- a uno de los Doctores del Departamento (si es necesario al propio domicilio).

En la limpieza y desinfección de derrames se deben seguir las siguientes normas:

1. Se realizará siempre con el equipo completo de protección personal Buzo, Tyvek, guantes, mascarilla y gafas de protección.

2. Accidentes menores (tubos o matraces con menos de 100 ml de caldo, placas con cultivo,):



- Cubrir los derrames con material absorbente, y añadir desinfectante Limoseptic Plus (disponible en el local).
- Dejar actuar durante 30 minutos antes de limpiar
- Desechar los residuos en un contenedor específico. Posteriormente serán autoclavados y se sacarán al exterior a través del SAS
- La zona se desinfectará con hipoclorito sódico

3, Accidentes en el incubador (rotura de vidrios o caída de tapones).

- Vestir EPPs adecuados: Buzo, gafas, mascarilla, calzas,
- Detener la ventilación y el giro del arcón. Dejar 1h en reposo para que se depositen los aerosoles.
- Introducir los desinfectantes: NDP Air total (Vesimin) (sal de amonio cuaternario) y Sanit Total DVF (Proder Pharma), (glutaral y alcohol isopropílico) Siguiendo las instrucciones del fabricante
- Ventilar.

Derrames accidentales o espumas en el fermentador.

Secar el derrame con material absorbente.

Limpiar el área con hipoclorito al 1%

Para la desinfección completa del local se utilizará:

Se dispone de un sistema de desinfección por aerosolización de peróxido de hidrógeno (Equipo Albian BK100M650K).

Además se dispone de las siguientes formas complementarias de desinfección:

NDP Air total (Vesimin) (sal de amonio cuaternario)

Sanit Total DVF (Proder Pharma), (glutaral y alcohol isopropílico)

Se utilizarán según las instrucciones del fabricante.

En el caso de accidente por inhalación, contacto, punción o corte:

- Exposición ocular a aerosoles o salpicaduras:
 - Lavar al menos 15 minutos con agua.
 - Acudir al Urgencias para valoración y tratamiento.
- Exposición por agujas o material punzante.
 - Lavar cuidadosamente la zona herida con agua corriente, sin restregar.
 - Dejar manar la sangre durante 2-3 minutos (inducir el sangrado).
 - Desinfectar la herida con povidona yodada (u otro desinfectante).
 - Cubrir la herida con un apósito impermeable.
 - Acudir al Urgencias para valoración y tratamiento.

Inmunoprofilaxis y profilaxis antibiótica:

- * No existen vacunas humanas fiables.
- * De forma inmediata, ante la sospecha de infección accidental en el laboratorio, realizar un tratamiento profiláctico con doxiciclina a dosis normal durante 7 días.

Tratamiento:



* Estreptomicina (15 días) combinada con doxiciclina (45 días).