PARTE A Y C	DIRECCION GENERAL CALIDAD Y EVALUACIÓN AMBIENTAL
Actividades de tipo 3 y 4	COMISIÓN NACIONAL DE BIOSEGURIDAD

NOTIFICACIÓN SOBRE ACTIVIDADES DE UTILIZACIÓN CONFINADA DE ORGANISMOS MODIFICADOS GENETICAMENTE

I. INFORMACIÓN GENERAL

1. Responsables de la actividad

a. Entidad

Nombre: GlaxoSmithKline Investigación y Desarrollo, S.L

Dirección postal: Calle Severo Ochoa 2, 28760 Tres Cantos, Madrid

b. Representante legal de la entidad

Nombre y apellidos:

NIF:

Cargo:

Tel:

Correo electrónico:

c. Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos:

NIF:

Cargo:

Tel:

Correo electrónico:

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

Nombre y apellidos:

NIF:

Cargo:

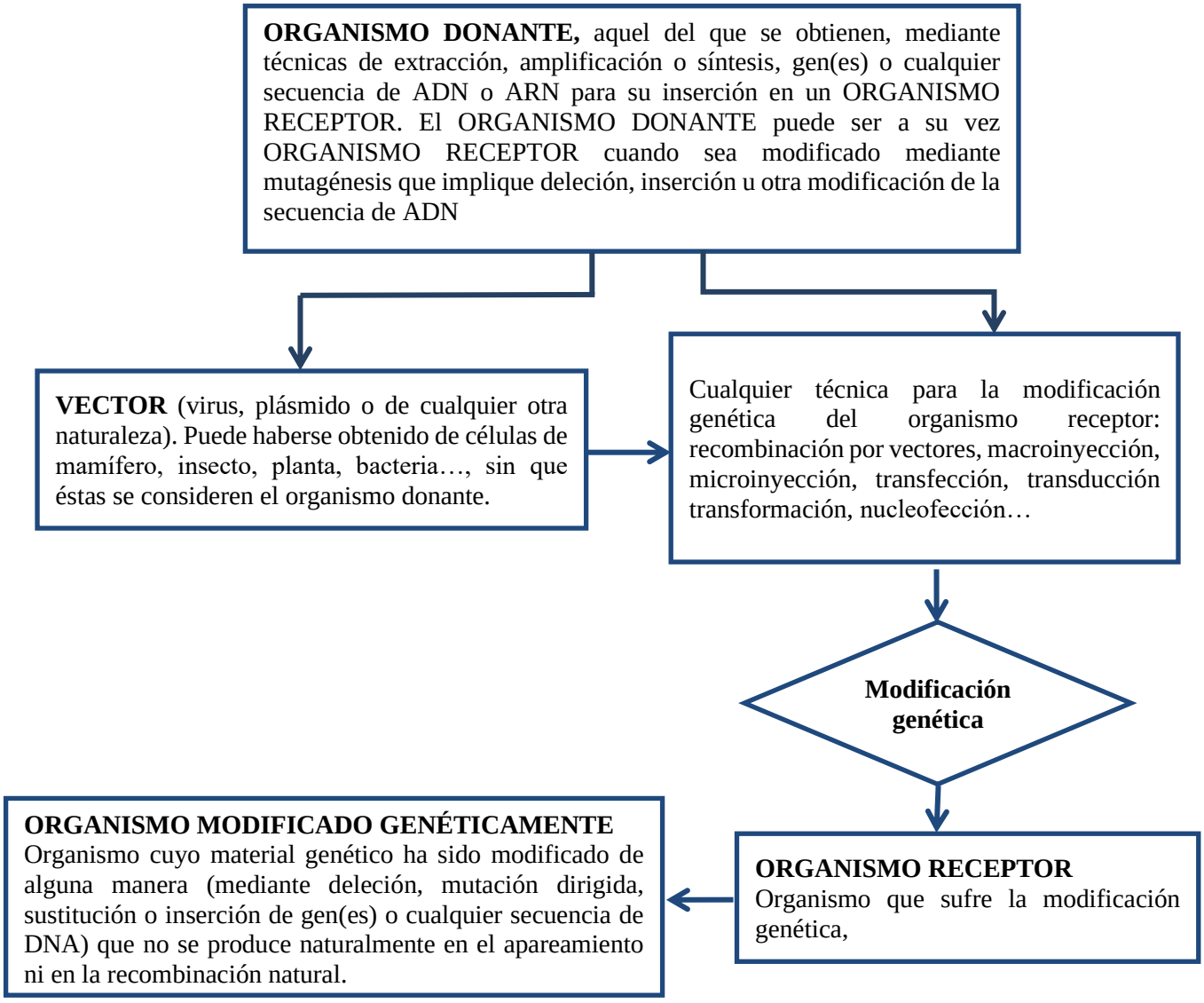
Tel:

Correo electrónico:

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

PLAZA DE SAN JUAN DE LA CRUZ, 10
28071 MADRID
TEL.: 91 597 56 50

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



II. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD:

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

SI ☐ NO ☒

Si la respuesta a la pregunta anterior es **SI**, debe justificarlo especificando[1]**:**

– Nombre de la convocatoria:

– Referencia del Proyecto y referencia IP del mismo:

– Organismo financiador:

Otro tipo de financiación[2] ☐

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

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

A/ES/06/I-01

– Fecha de autorización de la instalación:

08/04/2006

Si el OMG no se genera en la instalación[3]:

– Nombre de la instalación de origen del OMG:

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

[1] **TASAS**
Están exentos del pago de la tasa los casos en los que se cumplan dos requisitos, que la actividad se realice en el marco de los Planes Estatales de Investigación Científica y Técnica y de Innovación; y que se desarrolle por una institución, ente u órgano público.

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

[3] Debe tenerse en cuenta que, si los OMG proceden de otra instalación española, ésta deberá haber cumplido con los requisitos establecidos en la legislación española de OMG. Si la actividad no dispone de número de notificación en el momento de presentar la solicitud, se deberá indicar el número de registro asignado a la misma.

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

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

3. Finalidad de la actividad:

La finalidad de la actividad es la identificación de nuevos fármacos antimaláricos

4. Clasificación de la actividad:

(Para la clasificación del tipo de riesgo de las operaciones se seguirá el procedimiento establecido conforme al artículo 4 y el anexo III de la Directiva 2009/41/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 6 de mayo, relativa a la utilización confinada de microorganismos modificados genéticamente, y la Decisión de la Comisión 2000/608/CE, de 27 de septiembre, relativa a las Notas de orientación para la evaluación del riesgo).

Tipo 3 ☒

Tipo 4 ☐

III. INFORMACIÓN RELATIVA A LA OBTENCIÓN DEL OMG (ver pie de página[5])

1. Organismo receptor del cual deriva el OMG:

Células humanas/primates	☐	Detallar las líneas celulares:
Células: otras	☐	Detallar las líneas celulares:
Animal	☐	
Planta	☐	
Bacteria	☐	
Hongo	☐	

[4] Legislación vigente que afecta al transporte de OMG:

- **(ADR) Clase 6.2 (Materias infecciosas)** del Acuerdo Europeo de Transporte Internacional de Mercancías Peligrosas por Carretera y principales modificaciones.
- **Reglamento (CE) Nº 1/2005 del Consejo, de 22 de diciembre de 2004, relativo a la protección de los animales durante el transporte y las operaciones conexas y por el que se modifican las Directivas** 64/432/CEE **y 93/119/CE y el Reglamento (CE) Nº** 1255/97**. 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) Nº 1946/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 15 de julio de 2003, relativo al movimiento transfronterizo de organismos modificados genéticamente [Diario Oficial L 287 de 5.11.2003].**
- **Artículo 18.2.c del Protocolo de Cartagena sobre Bioseguridad**. Documentación acompañamiento en el movimiento transfronterizo: https://bch.cbd.int/protocol/
- **Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances** Edición bianual de la OMS

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

Virus ☐

Protozoos ☒

-Especificar el nombre científico y común:

Plasmodium falciparum; cepa: Dd2-attB

a. Descripción de los métodos de identificación y aislamiento.

i) Técnicas de aislamiento: La cepa parental Dd2 es un clon derivado de W2-MEF, que se seleccionó del clon W2-MCII después de 6 meses de cultivo continuo en presencia de mefloquina. W2-MCII deriva del clon W2'82 después de 12 meses de cultivo continuo en presencia de mefloquina que a su vez deriva de la cepa Indochina III/CDC. Esta cepa se aisló de un paciente de Laos con fallo terapéutico a cloroquina..

ii) Técnicas de identificación: Diferentes técnicas de biología molecular: PCR, secuenciación, western-blot

iii) Marcadores genéticos: Todos los genes, ya que su genoma está secuenciado, son comprobables por PCR y/o secuenciación.

iv) Marcadores fenotípicos: Resistencia a cloroquina, pirimetamina y mefloquina.

v) Estabilidad genética: No se encuentran descritas tasas de mutación para estos organismos

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

SI ☒

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

No está certificado pero el hecho de que las cepas se distribuyan para su uso en estado de congelación disminuye las probabilidades de otro tipo de contaminación.

NO ☐

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

c. Modificación genética anterior:

SI ☒

– Describir:

La cepa Dd2attB (DOI: 10.1038/nmeth904) tiene integrado el fragmento attB de 44 pares de bases en el gen no esencial cg6 que codifica una proteína similar a la glutaredoxin y el gen de la dihidrofolato reductasa humana (DHFR - resistencia a WR99210) como marcador de selección.

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

No se han descrito

NO ☐

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

P. falciparum se considera Grupo 3*

SI ☒

Para:

Humanos	☒
Animales	☐
Plantas	☐
Otros	☐

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

Plasmodium falciparum, principalmente, produce una primera infección hepática tras la forma natural de transmisión a través de la picadura por su vector, el mosquito *Anopheles*. Esta primera infección hepática es asintomática, pero genera formas parasitarias capaces de ser liberadas al torrente circulatorio sanguíneo empezando el ciclo intraeritrocítico del parásito asociado a síntomas en el humano infectado de picos febriles y anemia. Un curso más grave de la enfermedad puede conllevar en casos mucho menos frecuentes a una malaria severa y coma cerebral

NO ☐

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

SI ☐ NO ☐

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

Existe una gran experiencia en la comunidad científica y médica internacionales en el estudio de *P. falciparum*, con publicaciones científicas describiendo trabajos realizados con este microorganismo. En nuestras instalaciones llevamos trabajando con ese microorganismo durante más de 15 años.

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

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

SI ☐

- Capacidad de crear estructuras de resistencia o letargo:

esporas	☐
endosporas	☐
quistes	☐
esclerocios	☐
esporas asexuales (hongos)	☐

esporas sexuales (hongos) ☐

otros, especifíquese:

NO ☒

ii) Otros factores que afectan la capacidad de supervivencia:

No aplica.

iii) Posibles nichos ecológicos:

Seres Humanos.

iv) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:

No aplica.

h. Efectos posibles sobre el medio ambiente:

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

No aplica..

ii) Interacciones con otros organismos y efectos sobre éstos:

No aplica

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

P. falciparum se encuentra distribuido en regiones en las que cohabita con su vector. Las regiones de mayor incidencia de malaria causada por *P. falciparum* son Africa subsahariana, sudeste asiático y Sudamérica

j. Hábitat natural del organismo:

Seres humanos

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

Humanos	☐
Animal	☐
Planta	☐
Bacteria	☐
Hongo	☒
Virus	☐
Protozoos	☐

-Especificar el nombre científico y común:

Saccharomyces cerevisiae (levadura de cerveza)

a. Se trabaja con él durante la actividad:

SI ☐ NO ☒

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

SI ☒

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

El gen de la DHODH se amplificó de un plásmido.

NO ☐

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

c. Modificación genética anterior:

SI ☐

– Describir:

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

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

SI ☐ Para:

Humanos ☐

Animales ☐

Plantas ☐

Otros ☐

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

NO ☒

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

SI ☐ NO ☐

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

Gen codificante

g. Método de obtención:

– Extracción ☐

– PCR ☒

– Síntesis *in vitro* ☐

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

Dihidroorotato Deshidrogenasa: Oxidorreductasa que cataliza la conversión de dihidroorotato a orotato con quinonas como aceptor de electrones en la biosíntesis de las pirimidinas.

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

No

IV. INFORMACIÓN RELATIVA A LA MODIFICACIÓN GENÉTICA (ver pie de página[6])

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

Expresión del gen DHODH de *S. cerevisiae* en *P. falciparum* para identificar inhibidores de la cadena de transporte de electrones específicos de *P. falciparum*.

2. Tipo de modificación genética:

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

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

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

Otros, especifique:

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

SÍ ☒ NO ☐

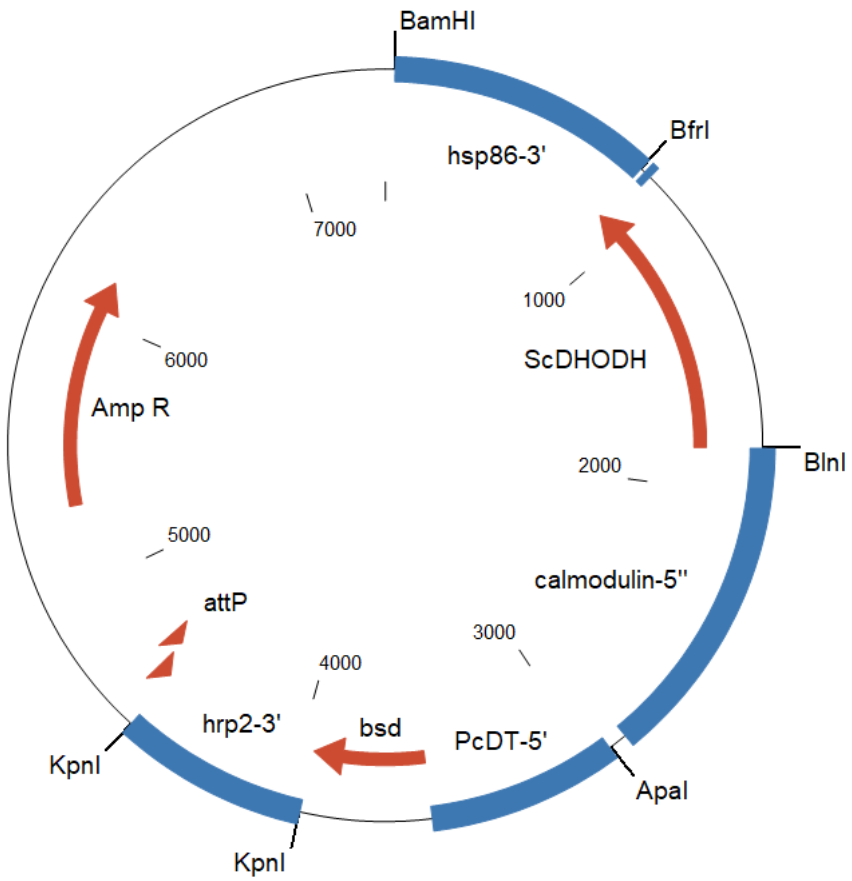
En caso afirmativo:

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

Plásmido: pLN-ScDHODH-flag-attP

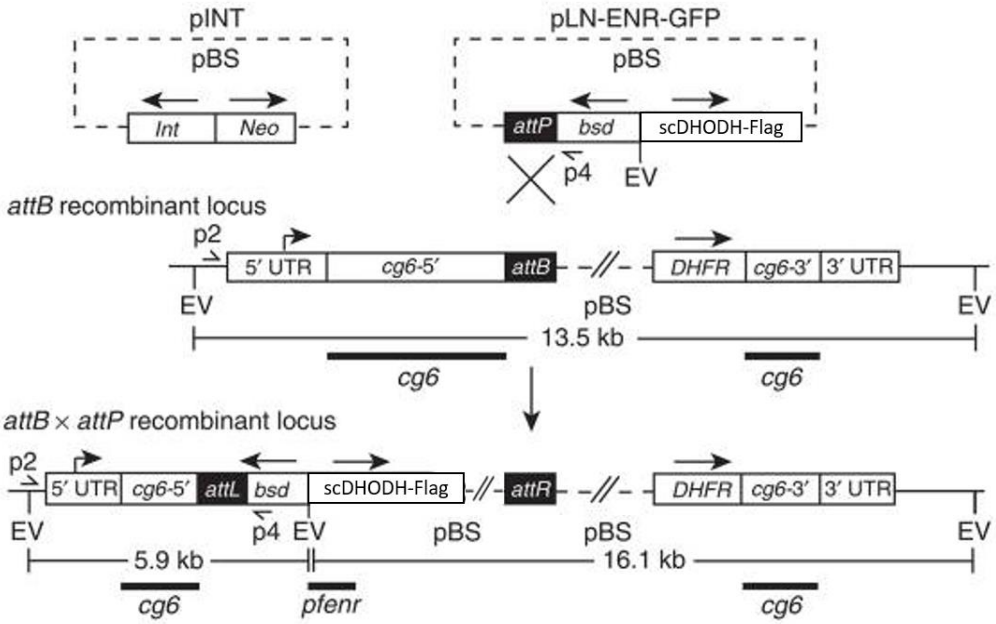
i) Aportar mapa de restricción del vector. Indicar las funciones y posición de genes estructurales, genes marcadores, elementos reguladores, sitios de inserción, origen de replicación y cualquier otro elemento presente en el vector.

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



El plásmido contiene el gen de la DHODH de *Saccharomyces* regulado por el promotor de la calmodulina y el terminador de hsp86. Contiene el marcador de selección (en *P. falciparum*) Blasticidina regulado por el promotor PcDT y el teminador hrp2. El marcador de selección en *E.coli*, para la amplificación del plásmido es Ampicilina. Por último contiene la región attP para su recombinación mediada por la integrasa Bxb1 en la cepa Dd2 que tiene insertada la región attB.

Después de la integración del vector, el locus cg6 quedaría de la siguiente manera:



ii) Si se trata de virus:

- Es defectivo en replicación SÍ ☐ NO ☐
- Indicar cómo se obtiene el vector viral. Si se utilizan plásmidos para su obtención aportar mapa de restricción del/los plásmido/s. Indicar las funciones y posición de genes estructurales, genes marcadores, elementos reguladores, sitios de inserción, origen de replicación, origen, función y secuencia de otros elementos presentes.

b. Gama de hospedadores del vector:

E. coli y *Plasmodium*

c. Características de la movilidad del vector:

i) factores de movilización

No poseen

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

No aplica

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

No

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

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

Gen de la DHODH de *Saccharomyces* (Dihidroorotato Deshidrogenasa: Oxidorreductasa que cataliza la conversión de dihidroorotato a orotato con quinonas como aceptor de electrones en la biosíntesis de las pirimidinas) regulado por el promotor de la calmodulina y el terminador de hsp86.

Marcador de selección (en *P. falciparum*) Blasticidina regulado por el promotor PcDT y el teminador hrp2

b. Información sobre los genes estructurales:

No aplica

c. Información sobre los elementos reguladores:

No aplica

d. ¿Ha sido secuenciada?

Sí.

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

No.

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

No.

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

a. Si el vector es un plásmido:

i) Se pierde ☐

ii) Se inserta en el genoma ☐

- Aleatoriamente ☐
- En un sitio definido ☒
  - Localización cromosómica:

    Gen no esencial cg6 que codifica una proteína similar a la glutaredoxin.
  - Secuencias colindantes:

    Ver sección “Mapa de restricción.”
  - La inserción activa o inactiva la expresión de otros genes:

    No

iii) Se mantiene en forma episómica ☐

- Número de copias:
- Se dispone de información sobre la estabilidad del vector

b. Si el vector es un virus:

i) Se mantiene en forma episómica ☐

ii) Se inserta en el genoma ☐

- La inserción se produce al azar ☐
- La inserción es específica ☐
  - Localización cromosómica:
  - Secuencias colindantes:
  - La inserción activa o inactiva la expresión de otros genes:

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

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

i) Determinación de la estructura del inserto (secuenciación) ☒

ii) Transcripcionales (nivel de síntesis de mRNA) ☐

iii) Traduccionales (nivel de síntesis de proteínas) ☐

V. INFORMACIÓN RELATIVA AL ORGANISMO MODIFICADO GENÉTICAMENTE (OMG) (ver pie de página[7])

1. Descripción del OMG final

Plasmodium falciparum Dd2-attB-scDHODH. Es una cepa de *Plasmodium falciparum* que se trata de un clon recombinante producido por una integracion específica mediada por la integrasa Bxb1. El gen de levadura DHODH (Dihidroorotato Deshidrogenasa) se amplificó del plásmido y se clonó en el plásmido pLN-ENR-GFP (DOI: 10.1038/nmeth904). El constructo final se transfectó en la cepa Dd2attB (DOI: 10.1038/nmeth904) que tiene integrado el fragmento attB de 44 pares de bases en el gen no esencial cg6 que codifica una proteína similar a la glutaredoxin.

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:

No.

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

No.

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

Resistente a Atovaquona y otros inhbidores de la cadena de transporte de electrones específicos de *P. falciparum*..

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

No.

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

No.

f. Marcadores específicos del OMG:

La inserción es comprobable por PCR y/o secuenciación.

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

Es estable.

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

Ninguna conocida.

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

5. Descripción de métodos de identificación y aislamiento planificados:

a. Técnicas utilizadas para la identificación del OMG:

PCR y secuenciación.

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

No puede vivir libre en el medio ambiente ni tiene formas aislables del medio ambiente.

VI. DESCRIPCIÓN DE LAS OPERACIONES

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

Evaluación de la actividad antimalárica *in vitro* frente a la colección de compuestos de GSK con el objeto de identificar moléculas que inhiban la cadena de transporte de electrones. Esta cepa es resistente a aquellos inhibidores específicos de *P. falciparum*, ya que el gen de *S. cerevisiae* es capaz de complementar la función del gen de *P. falciparum*. Los inhbidores de esta ruta serán inactivos en esta cepa, mientras que serán activos en la cepa parental Dd2-attB.

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

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

i) Para preparación de lotes

Se conservarán gliceroles de 1ml (10-20 unidades).

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

Volumen máximo de 200 ml de cultivo.

b. Número aproximado de plantas por ensayo:

c. Número aproximado de animales por ensayo:

3. Naturaleza de las operaciones:

a. Enseñanza ☐

b. Investigación ☒

c. Desarrollo ☐

4. Periodo previsto para la actividad de utilización confinada:

(Debe concretarse lo más posible la duración de la actividad, por ejemplo, teniendo en consideración la duración de la financiación de los proyectos a los que están asociados las actividades con los OMG).

Uno o dos ensayos al año de manera indefinida.

VII. EVALUACIÓN DE RIESGO (ver pie de página[8])

Se tendrán en cuenta los elementos y el procedimiento conforme al Anexo I del Real Decreto 178/2004 de 30 de enero, por el que se aprueba el Reglamento general para el desarrollo y ejecución de la Ley 9/2003, de 25 de abril, y la Decisión de la Comisión 2000/608/CE, de 27 de septiembre, relativa a las notas de orientación para la evaluación de riesgo).

1. Identificar cómo pudieran afectar las posibles propiedades nocivas del organismo receptor, donante, inserto y vector al OMG que se va a generar:

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

a. Organismo receptor.

El organismo receptor es *Plasmodium falciparum*. *P. falciparum* está clasificado dentro del nivel de bioseguridad 3* (aquel agente que puede provocar una enfermedad grave en el hombre y constituir un serio peligro para los trabajadores, con riesgo de que se propague a la colectividad y existiendo generalmente una profilaxis o tratamiento eficaz. Normalmente no infeccioso a través del aire (RD 664/1997)). Existen tratamientos eficaces que erradican el patógeno. No se les conoce participación en procesos ambientales. Ni se conocen plásmidos ni virus endógenos capaces de movilizar el ADN introducido a otras especies o microorganismos. No tienen fases de vida libre ni forman estructuras resistentes de supervivencia en el medio

b. Organismo donante.

Saccharomyces cerevisiae es una levadura que se ha usado extensivamente en la historia en el procesamiento de alimentos. Se ha utilizado durante siglos como agente leudante del pan y como fermentador de bebidas alcoholicas. Con una extensa historia de aplicaciones industriales, esta levadura ha sido sujeto o modelo de múltiples estudios en el campo de la microbiología.

c. Inserto.

Tanto la secuencia introducida como el marcador genéticos que permite seleccionar los clones con la modificación genética han sido ampliamente utilizados y descritos en la literatura. Ni el marcador de resistencia utilizado, ni el fragmento introducido, hacen al organismo resistente a los antimaláricos utilizados en el tratamiento de primera línea frente al parásito.

d. Vector.

El plásmido pLN ha sido ampliamente utilizado y descrito en la literatura. No se ha reportado propiedades nocivas.

2. Identificar las posibles propiedades nocivas del OMG[9]

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

Como el organismo sin modificar.

b. Efectos para el medio ambiente.

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

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

Ninguno previsible

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

Manipulación del cultivo.

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

Los marcadores genéticos introducidos no afectan a la sensibilidad del organismo frente a los antimalaricos de primera línea usados en clínica, por lo que el OMG debe seguir siendo clasificado como el organismo parental, nivel 3. Por todo lo anterior, creemos que laboratorios que cumplen todos los requisitos del nivel de contención 3, incluyendo de doble puerta con control de accesos y área de cambio de ropa, presión atmosférica negativa respecto a las áreas adyacentes, y procedimientos operativos que eliminan o minimizan el uso de objetos punzantes y cortantes.

VIII. DESCRIPCIÓN DE LAS MEDIDAS DE PROTECCIÓN Y CONTROL ADOPTADAS DURANTE LA UTILIZACIÓN CONFINADA[10]

1. Adopción de las Buenas Prácticas de Laboratorio:

Los investigadores y el personal auxiliar utilizan batas de laboratorio y que sólo salen de los laboratorios en bolsas cerradas parar ser autoclavadas. Los procedimientos normalizados de trabajo (PNTs), de obligado cumplimiento, especifican entre otras normas, el uso de guantes de laboratorio, la prohibición de introducir en el laboratorio objetos punzantes o cortantes salvo en ocasiones puntuales, cuando sea imprescindible para la realización de la actividad y bajo autorización y supervisión del jefe de laboratorio, y la obligación de abrir y manipular contenedores con microorganismo vivo solamente dentro de las cabinas de bioseguridad .

El material biológico que requiera su salida fuera del laboratorio de nivel 3 para posteriores estudios deberá ser tratado mediante un método que garantice su total inactivación como material infectivo.

La total inactivación de *P. falciparum* se llevará a cabo mediante alguno de los siguientes procedimientos aprobados: congelación del material a -70ºC durante una incubación de una noche, fijación con un cantidad mínima de 0.025% de glutaraldehido para lectura por citometría o por imagen, lisis de eritrocitos humanos con saponina. Los residuos que puedan contener células viables de *P. falciparum* se inactivarán según se describe a continuación en función de su naturaleza como residuo sólido o líquido:

Residuos sólidos:

El material con superficies expuestas contaminadas con cultivos de *P. falciparum*, o con sangre o sueros humanos (por ejemplo pipetas), se inactivará previamente dentro de la cabina, mediante contacto directo de la superficie contaminada con una solución al 1% (p/v) de Presept u otra que contenga al menos 5.000 p.p.m. de cloro libre, durante al menos 1 hora. La solución desinfectante se preparará fresca cada día. Una vez inactivados serán introducidos en bolsas de bioseguridad que serán introducidas en contenedores de autoclave para su salida como residuos a autoclavar.

Residuos líquidos:

Los residuos líquidos potencialmente contaminados se inactivarán llevándolos a una concentración de 1% (p/v) Presept, o con 5.000 p.p.m. de cloro libre, y manteniéndolos a esa concentración durante al menos 1 hora. Dado que una alta concentración de proteínas reduce la potencia desinfectante del cloro, la concentración final de sangre ó sus productos en el residuo tratado no excederá 1/20 de su concentración fisiológica. En las bombas de aspiración de residuos líquidos deben depositarse pastillas de Preset o lejía líquida antes de su uso. Una vez transcurrido el tiempo de inactivación los residuos pueden ser vertidos en el bidón donde se recogen los residuos líquidos. A partir de la hora de exposición al desinfectante, los residuos líquidos pueden ser transportados fuera de la instalación para su eliminación como residuos líquidos ya inactivados siguiendo los procedimientos establecidos.

2. Formación del personal adscrito:

Todo el personal adscrito cuenta con la formación académica requerida para el puesto de trabajo, más el entrenamiento específico proporcionado por su supervisor, más los cursos de formación a

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

los que se refiere el artículo 12 del Real Decreto 664/1997, y la formación continua obtenida con la asistencia a cursos y congresos según lo apropiado a su nivel profesional.

3. Programas de limpieza/desinfección/descontaminación:

Plasmodium falciparum no es capaz de sobrevivir fuera de los medios de cultivo o de su huésped natural (humanos). Las superficies de trabajo se descontaminarán con Etanol 70% antes y después de cada uso. Existen planes normalizados de trabajo para actuaciones en caso de accidente o derrames. Todos los laboratorios y cabinas de seguridad están acondicionadas para poder realizar una desinfección con peróxido de hidrógeno (VHP). La desinfección con VHP se realizará periódicamente como medida de prevención.

La limpieza rutinaria de suelos se realizará por el mismo personal que trabaja en el laboratorio y se realizará con CR36. Todo el material y los desechos se descontaminarán antes de sacarlos del área de contención.

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

No son necesarios aparatos dedicados exclusivamente para el confinamiento. El organismo se manejará siempre en cabinas de bioseguridad de tipo BIOII que están incluidos en un plan de mantenimiento preventivo regular realizado por la empresa autorizada

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

Todos los sistemas de contención del laboratorio están incluidos en un plan de mantenimiento preventivo regular realizado por la empresa de mantenimiento autorizada. Al menos una vez al año se realizará una desinfección del laboratorio, cabinas de seguridad y aparatos como medida preventiva con peróxido de hidrógeno.

IX. GESTION E INACTIVACIÓN DE RESIDUOS

1. Encargado de la gestión de residuos:

a. Gestión interna: SÍ ☐ NO ☐

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

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

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

Todos los residuos, una vez esterilizados, son retirados por empresas especializadas autorizadas: CONSENUR, S.A. para los sólidos y GESTIÓN Y VALORIZACIÓN DEL CENTRO, S.L. para los líquidos, para ser eliminados según la legislación medioambiental vigente.

X. PREVENCIÓN DE ACCIDENTES DE LA ACTIVIDAD NOTIFICADA

1. Condiciones en las que podría producirse un accidente:

Todo el trabajo con microorganismos vivos se realizará en cabinas de bioseguridad de tipo BIOII. El peligro de un accidente podría producirse por el pinchazo o corte con material que contuviese

células parasitizadas. Por ello, todas las actividades que supongan un riesgo de ingestión de material biológico del laboratorio están estrictamente prohibidas. Estas incluyen comer, beber y aplicar cosméticos. El pipeteo con la boca está específicamente prohibido.

No está permitido el rencapsulado de las agujas hipodérmicas. No está permitido el uso de objetos punzantes o cortantes para la manipulación in vitro de *P. falciparum* . Los portas para microscopio deben tener bordes esmerilados y puntas redondeadas para minimizar el riesgo de corte. Se extreman las precauciones para evitar su rotura durante el uso. En general no debe utilizarse material de vidrio. Si fuera imprescindible el uso de material de vidrio, además de los portas de microscopio, la excepción debe hacerse constar en el cuaderno de laboratorio y llevar el visado del responsable del laboratorio, que será responsable de que se extremen las precauciones para evitar roturas y cortes.

2. Equipamiento de seguridad (especifíquese):

Existe un gradiente de presión desde el exterior al laboratorio. Seguridad personal: batas y dobles guantes. Cabinas de bioseguridad de tipo BIOII. Centrífugas con cierre de seguridad. Recipientes y mesas auxiliares para minimizar el riesgo de que se produzca la caída y rotura de recipientes que contengan microorganismos. Se evitará la utilización de material de cristal. Todos los laboratorios y las cabinas de seguridad están preparadas para poder realizar una desinfección completa con peróxido de hidrogeno.

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

Todo el personal adscrito cuenta con la formación académica requerida para el puesto de trabajo, más el entrenamiento específico proporcionado por su supervisor, más los cursos de formación a los que se refiere el artículo 12 del Real Decreto 664/1997, y la formación continua obtenida con la asistencia a cursos y congresos según lo apropiado a su nivel profesional.

4. Planes de emergencia y contingencia:

Los planes de emergencia del centro DDW se encuentran integrados en el Plan de Autoprotección de los edificios de GLAXOSMITHKLINE, situados en la calle Severo Ochoa, 2 del Parque Tecnológico de Madrid, en Tres Cantos, (MADRID). Este plan de autoprotección tiene por finalidad la organización de los recursos humanos y los medios materiales disponibles para la prevención del riesgo de incendio o de cualquier otro equivalente, así como para garantizar la evacuación y la intervención inmediata.