



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

Nº de Notificación:

I. INFORMACIÓN GENERAL

1) Responsables de la actividad

a) Entidad

Nombre: Zoetis Manufacturing & Research Spain, S.L
Dirección postal: Ctra. de Camprodon s/n, “La Riba”
17813 Vall de Bianya, Girona

b) Representante legal de la entidad

Nombre y apellidos: Alicia Urniza Hostench, DVM
NIF: 46125673R
Cargo: Directora de I+D
Tel: +34972 290 001; Fax: 972 291 336
Correo electrónico: alicia.urniza@zoetis.com

c) Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos: Elisenda Viaplana Florensa
NIF: 46335149Q
Cargo: Responsable de laboratorio
Tel: +34872060139; Fax: 972 291 336
Correo electrónico: elisenda.viaplana@zoetis.com

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

Nombre y apellidos: Marta Cabana Sumsi
NIF: 45469363L
Cargo: Responsable de Bioseguridad (I+D)
Tel: +34872060359; Fax: 972 291 336
Correo electrónico: marta.cabana@zoetis.com

Nombre y apellidos: Anna Vila Quintana
NIF: 77907809R
Cargo: Responsable de Bioseguridad (GMS)
Tel: +34872060468; Fax: 972 291 336
Correo electrónico: anna.vila@zoetis.com



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

El responsable de bioseguridad de la instalación actuará como persona de contacto

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

SI NO

Si la respuesta a la pregunta anterior es **SI**, debe justificarlo especificando¹:

-Nombre de la convocatoria:

-Referencia del Proyecto y referencia IP del mismo:

-Organismo financiador:

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

a) Fecha de comunicación / autorización de la instalación: 09 de junio de 2010

Número de referencia del expediente: A/ES/10/I-02

II. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD:

- 1) Finalidad de la actividad:

La finalidad de la actividad es el crecimiento de virus modificados genéticamente del Virus de la Peste Porcina Africana (VPPA o ASFV del inglés *African Swine Fever Virus*).

- 2) Clasificación de la actividad:

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

Tipo 1

Tipo 2

Tipo 3

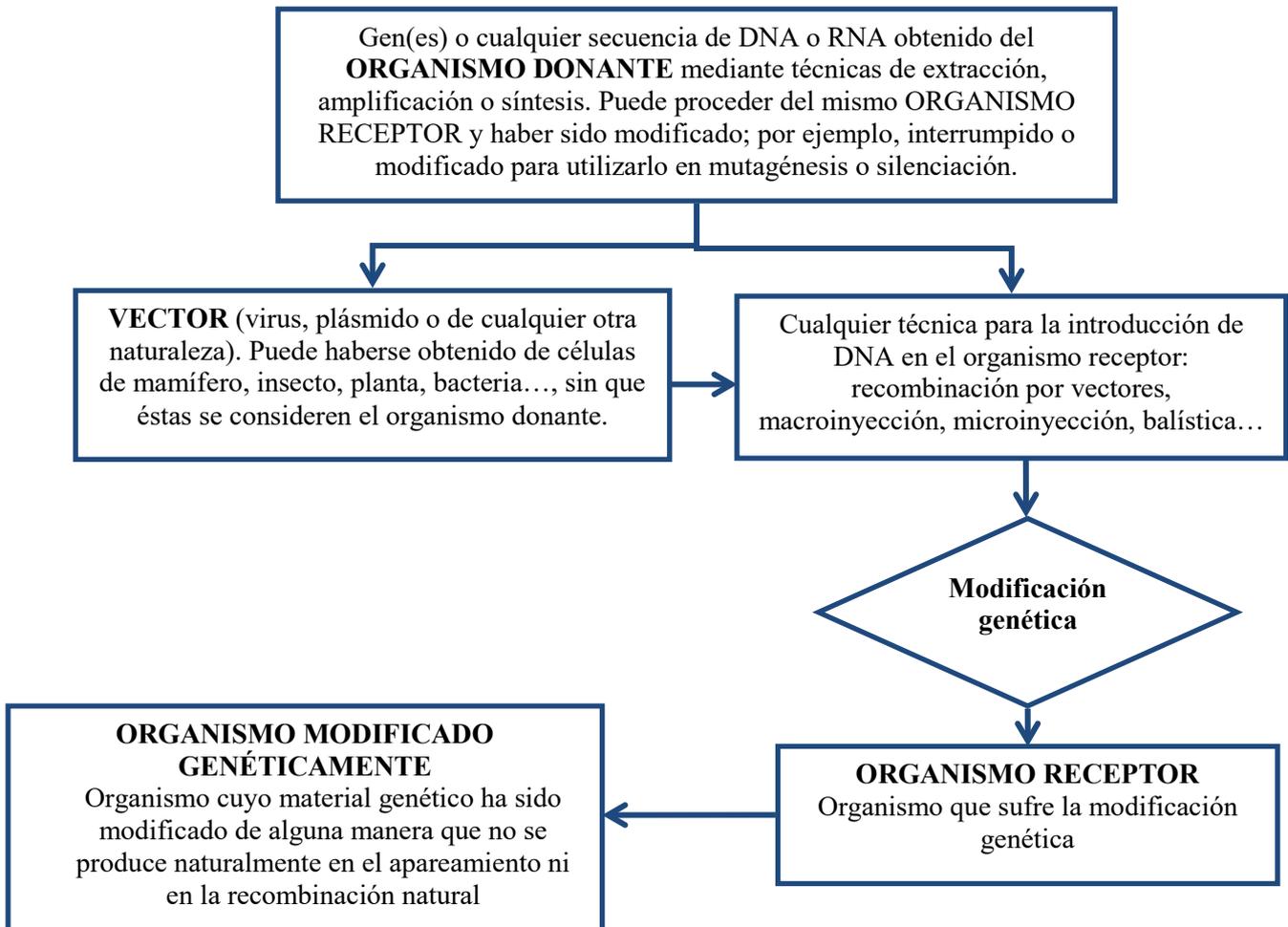
Tipo 4

¹TASAS

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



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: African Swine Fever Virus (ASFV)

Taxonomía: Familia Asfaviridae; Género *Asfivirus*

Nombre común: African Swine Fever Virus o Virus de la Peste Porcina Africana (PPA)

2) Descripción de los métodos de identificación y aislamiento.

a) Técnicas de aislamiento:

El organismo receptor es un ASFV modificado genéticamente y posteriormente clonado y amplificado en cultivos primarios. La modificación genética ofrece al organismo receptor características de atenuación. La caracterización génica del organismo receptor se realizó mediante PCR específica y secuenciación.

b) Técnicas de identificación:

Las técnicas de identificación del organismo receptor se describen en el apartado anterior e incluyen la PCR y secuenciación del genoma del aislado.

c) Marcadores genéticos:

El organismo receptor se diferencia del OMG a nivel genético mediante las técnicas de identificación descritas en el apartado anterior.

d) Marcadores fenotípicos:

No existen marcadores fenotípicos del organismo donante.

e) Estabilidad genética:

La estabilidad genética se ha demostrado después de realizar pases seriados. El virus resultante tiene la estructura genómica requerida.

3) Posibles modificaciones genéticas anteriores:

El organismo receptor es un ASFV modificado genéticamente generado a partir de un proceso de recombinación homóloga, en el que se modificó un gen relacionado con la virulencia de ASFV con la finalidad de generar atenuación y seguridad.



4) ¿Se considera patógeno el organismo receptor?

SI NO

5) En caso afirmativo, especificar para qué clase de los organismos (*seres humanos, animales, plantas*) se considera patógeno este organismo, vivo o muerto, y/o sus productos extracelulares:

Aunque el organismo receptor presenta cierto grado de atenuación en cultivos primarios cuando se compara con la cepa silvestre, es patógeno para cerdos domésticos y jabalíes. En ningún caso se manipulará el virus receptor.

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.*):

a) ¿De qué modo se manifiesta la patogenicidad? El organismo receptor no es patógeno para humanos

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

SI NO

Porqué: El organismo receptor no es patógeno para humanos y en ningún caso se manipulará el virus parental.

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

El organismo receptor no contiene agentes biológicos contaminantes.

8) Experiencia adquirida en relación con la seguridad en la utilización del organismo receptor:

El virus receptor se manipuló en instalaciones de alto nivel de biocontención durante varios años sin ningún incidente que comprometiera la bioseguridad ni el medio ambiente.

Las instalaciones de Zoetis Manufacturing & Research Spain, S.L. han sido previamente autorizadas para la actividad de utilización confinada de tipo 3. En nuestras instalaciones únicamente se manipulará el OMG y en ningún caso se manipulará el organismo receptor.

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?: No se conocen datos al respecto.

En caso afirmativo: No aplica



b) Capacidad de crear estructuras de resistencia o letargo:

- i) esporas
- ii) endosporas
- iii) quistes
- iv) esclerocios
- v) esporas asexuales (hongos)
- vi) esporas sexuales (hongos)
- vii) otros, especifíquese

c) Otros factores que afectan la capacidad de supervivencia: No aplica

d) Posibles nichos ecológicos: No aplica

e) Tiempo de generación en ecosistemas naturales: No aplica

10) Efectos posibles sobre el medio ambiente:

a) Implicaciones en procesos ambientales (*p.ej. fijación del nitrógeno o regulación del pH del suelo*): No existen efectos sobre el medio ambiente.

b) Interacciones con otros organismos y efectos sobre éstos:

Los huéspedes de las cepas naturales de ASFV son de la especie porcina (doméstica y salvaje). La epidemiología de ASF es compleja debido a que se presentan distintos patrones de infección en África y Europa-Asia. Los ASFV producen una serie de síndromes que varían de la forma hiperaguda, aguda a la enfermedad crónica con portadores del virus aparentemente sanos. La enfermedad más aguda se caracteriza por una elevada fiebre, hemorragias y elevada tasa de mortalidad.

En cerdos domésticos y jabalís europeos las manifestaciones clínicas de la enfermedad son variables, mientras que los jabalís africanos presentan infecciones de tipo subclínico e inaparente actuando como reservorios de la enfermedad.

Las garrapatas del género *Ornithodoros* actúan tanto como vectores biológicos de la enfermedad como reservorios del virus (OIE, 2009. Technical disease card of African Swine Fever; OIE, 2012, Terrestrial Manual; European Food Safety Authority (EFSA) 2010, Scientific review on African Swine Fever.

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

El organismo receptor es un OMG generado en el laboratorio y no se ha liberado al medio ambiente.



Respecto a las cepas naturales, se conoce que el ASFV está presente en cerdos salvajes y cerdos domésticos en un gran número de países de África subsahariana.

Se han notificado casos históricamente en África, Oriente Medio, Europa del Este Cerdeña, países del Cáucaso y Federación Rusa. La enfermedad se ha detectado también en Europa occidental, comenzando en 2014 en los países bálticos y Polonia, y últimamente se han identificado dos casos de ASF en jabalíes en Bélgica y Rumania. En agosto de 2018, China reportó su primer brote de peste porcina africana. El virus ASF es resistente y puede sobrevivir durante largos períodos en climas fríos y calientes, incluso en productos de cerdo secos o curados. La descomposición o congelación de la carne no desactiva el virus.

Está considerada de declaración obligatoria por la Organización mundial de Sanidad Animal (OIE).

12) Hábitat natural del organismo:

Los huéspedes de las cepas naturales de ASFV son de la especie porcina (doméstica y salvaje).

IV. INFORMACIÓN RELATIVA AL ORGANISMO DONANTE

1) Nombre científico: Anémona

Taxonomía:

Nombre común: Anémona

2) Tipo de material genético obtenido del organismo donante:

El material genético del organismo donante proviene de un vector de transferencia obtenido por síntesis de ADN. El plásmido contiene regiones flanqueantes del gen de interés y un casete del gen marcador derivado de anémonas marinas.

3) Método de obtención:

a) Extracción

b) PCR

c) Síntesis *in Vitro*

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

El gen en el organismo donante actúa como marcador de los virus recombinantes

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



SI NO

a) En caso afirmativo, especificar para que organismos:

i) seres humanos

ii) animales

iii) plantas

b) ¿De qué modo se manifiesta la patogenicidad? El ADN del vector de transferencia no es patógeno.

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

El gen marcador codifica por una proteína que no está implicada en la patología ni en ningún efecto nocivo de la anémona.

6) ¿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

b) Deleción de material genético

c) Sustitución de bases

d) Fusión celular

e) Otros, especifíquese

2) Finalidad de la modificación genética:

El objetivo de la modificación genética es la reducción de la patogenicidad del ASFV para permitir la inducción de una respuesta inmune protectora en cerdos.

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

El OMG se generó a partir de un proceso de recombinación homóloga entre el genoma de ASFV y el vector de transferencia.



Los virus recombinantes se identificaron por la expresión del gen marcador y se aislaron en cultivos celulares. Los virus recombinantes derivados fueron caracterizados y se analizó el genoma mediante PCRs específicas.

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

SÍ NO

En caso afirmativo:

a) Tipo e identidad del vector: Plásmido de transferencia.

b) Si se trata de un virus: No se trata de un virus

Es defectivo en replicación SÍ NO

c) Aportar mapa de restricción del vector (*funciones y posición de genes estructurales, genes marcadores, elementos reguladores, sitios de inserción, origen de replicación, origen, función y secuencia de otros elementos presentes en el vector*):

No se dispone del mapa del plásmido de transferencia utilizado.

d) Gama de hospedadores del vector: Bacterias *E.coli*

El vector portador del gen marcador utilizado como vector para la construcción del OMG no se manipuló en las instalaciones de Zoetis.

e) Características de la movilidad del vector: No aplica

i) factores de movilización No existen

ii) Si el vector es un bacteriófago ¿se han inactivado sus propiedades lisogénicas?
No presenta actividades lisogénicas

iii) ¿Puede el vector transferir marcadores de resistencia a otros organismos? El vector no puede transferir marcadores de resistencia.

5) Información del inserto:

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

El casete completo incluye el gen marcador flanqueado por las secuencias correspondientes al gen a modificar del genoma del ASFV..

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

Información confidencial.

c) Descripción del método utilizado para la transformación:



El origen del inserto proviene de un ADN sintético.

La función del gen marcador es la de localizar e identificar el OMG resultante durante el proceso de clonaje y purificación.

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

No existen genes estructurales en el inserto..

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

El único elemento regulador descrito en el inserto es el promotor del gen de ASFV. Éste promotor es específico para ASFV y no es reconocido el huésped..

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:

a) ¿Es un plásmido libre? No, no es un plásmido libre.

En caso afirmativo:

i) Número de copias:

ii) ¿El plásmido recuperado corresponde al construido?

b) ¿Está integrado en los cromosomas nucleares?:

El material genético está integrado en el genoma viral de ASFV.

En caso afirmativo:

i) número de copias:

ii) localización cromosómica:

iii) secuencias colindantes

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



- c) Si se trata de un virus:
- i) La inserción es específica
 - ii) La inserción se produce al azar
 - iii) Existe la posibilidad de formación de partículas víricas
- d) Análisis moleculares realizados relativos a la expresión del producto deseado (*PCR, Northern, secuenciación, otros*):
- iv) Determinación de la estructura del inserto (secuenciación)
 - v) Transcripcionales (nivel de síntesis de mRNA)
 - vi) Traduccionales (nivel de síntesis de proteínas)

Aportar toda la documentación al respecto.

Durante el proceso de obtención del OMG se realizaron diferentes ensayos con el fin de verificar la construcción y caracterizar el virus recombinante resultante.

Para diferenciar los virus recombinantes del parental se seleccionaron los virus mediante la detección por PCR y por secuenciación.

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, no es diferente.

- b) ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta al modo o tasa de reproducción? En caso afirmativo, especifíquese: No, no es diferente.

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

Se esperan diferencias en patogenicidad entre el OMG y el organismo receptor.

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

Se esperan diferencias en patogenicidad entre el OMG y el organismo receptor.

- e) ¿Es diferente el OMG en cuanto a las características nutricionales? En caso afirmativo, especifíquese: No, no es diferente.



- f) Marcadores específicos del OMG: PCR específicas para demostrar la pureza del OMG.
- 3) Estabilidad genética del OMG (*Estado y secuencia del inserto después de un cierto número de generaciones*):

La estabilidad genética del inserto es alta ya que no se han detectado cambios en la expresión génica después de realizar múltiples pases del virus en cultivos celulares.

- 4) Posibilidad de transferencia de material genético a otros organismos:

La transferencia de material genético a otros organismos únicamente es posible si las células son co-infectadas con algún otro aislado de ASFV.

- 5) Descripción de métodos de identificación y aislamiento empleados:

- a) Técnicas utilizadas para la identificación del OMG:

La identificación del OMG se realizó mediante la detección específica por PCR del gen de interés.

- b) Técnicas empleadas para aislar el OMG en el medio ambiente: No aplica

VII. DESCRIPCIÓN DE LAS OPERACIONES

- 1) Naturaleza de las operaciones:

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

- 2) Volumen o cantidad de OMG a utilizar:

- a) Volumen máximo en el caso de microorganismos: Máximo 10 L
- b) Número de plantas: No aplica
- c) Número de animales: No aplica

- 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 asociadas las actividades con los OMG).

Se prevé un periodo de ocho años.

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



Crecimiento del OMG de ASFV.

- 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. En el caso de centros españoles, indicar el número de notificación si se conoce:

El OMG se generó en un centro de investigación que dispone de instalaciones de elevado nivel de biocontención para la investigación con virus animales. Los niveles de biocontención están regulados por una guía que define los requerimientos de control y biocontención para prevenir la liberación al medio ambiente de patógenos animales que puedan causar enfermedades en humanos y animales.

- 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 aplicable² (*tipo de transporte, manejo y embalaje, documentación de acompañamiento e identificación o/y etiquetado*):

El OMG es un ASFV clasificado con nivel 3 de confinamiento BSL3 no se generará en las instalaciones de Zoetis Manufacturing & Research Spain, S.L.

Se recibirá un stock del OMG. Para el transporte de dicho material, se seguirá la reglamentación internacional relativa al transporte de sustancias infecciosas, concretamente al transporte y movimiento transfronterizo de organismos modificados genéticamente, siguiendo las *Instrucciones para el Transporte sin riesgos de Mercancías Peligrosas por Vía Aérea* publicadas por la Organización de Aviación Civil Internacional (OACI) relativas al transporte de sustancias infecciosas UN3373 y UN2900. Concretamente, el embalaje constará de tres contenedores, el primero de los cuales será a prueba de derrames. El segundo y tercer contenedores se embalarán conforme con los requerimientos de la ADR y la IATA para envíos de sustancias infecciosas que afectan a animales de clase 6.2, Categoría A. Estas medidas aseguran el cumplimiento de las normativas de transporte terrestre y aéreo para este tipo de patógeno.

Entre el primer y segundo contenedor, habrá suficiente material absorbente para absorber la sustancia infecciosa en el improbable caso que haya un vertido del primer contenedor. El contenedor terciario cumplirá los estándares UN de envíos. Esto significa que está testado para resistir caídas y reventones durante el transporte.

² 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.
- **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/>



El transporte va a ser realizado a través de un Courier especializado que asegure un transporte seguro y que la calidad del material biológico se mantiene.

- 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*):

El crecimiento del OMG se llevará a cabo mediante técnicas de cultivos celulares.

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

Los estudios de crecimiento del virus recombinante se llevarán a cabo en laboratorios de bioseguridad de nivel 3 (BSL 3) de acceso restringido.

El trabajo en la zona BSL 3 se realiza mediante procedimientos establecidos de flujo de material, vestimenta y personal específicos del laboratorio.

Todo trabajo relacionado con el virus se hará en cabinas de bioseguridad de clase 2, utilizando técnicas asépticas para reducir el riesgo de infección. Los cultivos se harán en recipientes estancos.

Todos los residuos generados durante los estudios se descontaminarán en las instalaciones del Laboratorio BSL 3. Los residuos líquidos se descontaminarán por un proceso validado de descontaminación en autoclave siguiendo procedimientos normalizados de trabajo establecidos. Los residuos sólidos generados en el laboratorio se descontaminan con un ciclo validado de descontaminación en autoclave siguiendo procedimientos normalizados de trabajo establecidos.

Las distintas áreas del laboratorio BSL 3 se descontaminarán mediante un sistema validado de descontaminación que garantiza la biocontención, previene la fuga de microorganismos al exterior y evita posibles contaminaciones cruzadas.

Los efluentes generados en el laboratorio BSL 3 procedentes de los laboratorios, desagües, servicios, duchas, etc... se tratarán y descontaminarán con el fin de evitar cualquier riesgo para la salud personal y para el medio ambiente.

VIII. INFORMACIONES ADICIONALES RELATIVAS A LA UBICACIÓN DE LA INSTALACIÓN

- 1) Proximidad a fuentes de peligro potenciales:

El riesgo de contaminación en dependencias cercanas a la instalación o en el medio ambiente externo a Zoetis Manufacturing&Research Spain S.L. es prácticamente inexistente por las siguientes razones:

El laboratorio está equipado con todos los medios e infraestructura de contención necesaria, resaltándose el sistema de tratamiento de aire con gradientes de presión negativa, la presencia



de filtros absolutos HEPA para la entrada y la salida de aire, el sistema de descontaminación del laboratorio BSL-3, los sistemas de descontaminación de líquidos y sólidos por autoclave y el sistema de inactivación biológica de efluentes líquidos.

2) Descripción de las condiciones climáticas predominantes:

El clima es mediterráneo de montaña media. Las precipitaciones son abundantes durante todo el año, siendo el invierno la estación más seca. Las frecuentes lluvias generan unos veranos frescos, mientras que la influencia del Pirineo hace que los inviernos sean fríos.

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: Las operaciones indicadas se realizarán en las instalaciones de Zoetis Manufacturing & Research Spain, S.L. que han sido previamente autorizadas para la actividad de utilización confinada de tipo 3.

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

1) Adopción de las Buenas Prácticas de Laboratorio:

El laboratorio de Investigación de Zoetis Manufacturing & Research Spain S.L. está inscrito con el número BPL049CAT en el Programa de verificación del cumplimiento de buenas prácticas de laboratorio establecido por la Dirección General de Ordenación y Regulación Sanitarias de la Generalitat de Cataluña y fue certificado por primera vez por el Departamento de Agricultura, Ganadería, Pesca, Alimentación y Medio Natural el 25 de Marzo de 2011.

El centro cumple los principios de BPL, establecidos en el Real decreto 822/1993.

El laboratorio está sometido a inspecciones periódicas por parte de la Subdirección General de Farmacia y Productos Sanitarios, organismo encargado de la aplicación de estos principios en el campo de medicamentos y productos sanitarios y cosméticos en Cataluña, de acuerdo con el Real Decreto 2043/1994. La última inspección del laboratorio se realizó en Marzo de 2017.

La metodología de trabajo de los principios BPL se cumple en la realización de los estudios realizados en todas las instalaciones del Departamento de I+D (instalaciones BL2 y BL3).

2) Formación del personal adscrito:

Todo el personal está cualificado para el puesto de trabajo que desempeña y sigue programas de formación periódicos. El personal responsable de la manipulación del OMG tiene una amplia experiencia en los procedimientos de trabajo dentro de la zona de confinamiento.

3) Programas de limpieza/desinfección/descontaminación:

Se dispone de procedimientos normalizados de trabajo para la limpieza, desinfección y descontaminación de equipos e instalaciones.



Los restos de material desechable utilizado en el laboratorio considerado como residuos sanitarios de la planta se depositan en contenedores especiales para residuos de la empresa. Los residuos y el material contaminado son tratados en el mismo laboratorio por métodos químicos o térmicos (autoclave) antes de entregarlos a una empresa gestora externa que procede a su eliminación. Esta empresa está autorizada por la Agencia de Residuos de la Generalitat de Catalunya.

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

1) Condiciones en las que podría producirse un accidente:

Posibles accidentes que podrían ocurrir en las áreas de trabajo durante la manipulación de estos organismos biológicos serían roturas y derramamientos, inoculaciones accidentales, cortes y abrasiones; ingestión accidental de sustancias potencialmente peligrosas; formación de aerosoles potencialmente peligrosos; rotura de tubos de centrifugas etc.

Todas estas situaciones y cómo se debe actuar en caso de producirse, están descritas en procedimientos normalizados de trabajo para evitar cualquier posibilidad de contaminación tanto de personal como del medio ambiente.

2) Equipamiento de seguridad (especifíquese):

Para la manipulación de agentes biológicos es obligatorio que el personal lleve ropa de laboratorio, cofia, calzado de seguridad, polainas, doble guante de nitrilo, gafas de seguridad y máscara de protección.

3) Descripción de la información suministrada a los trabajadores:

Se dispone de Procedimientos de seguridad sobre la manipulación de organismos biológicos y de planes y medidas de emergencia que recogen estas situaciones y cómo se debe actuar en caso de producirse un accidente o situación de riesgo. El personal está formado para trabajar en la zona con acceso restringido de biocontención de nivel 3.

4) Planes de emergencia:

Zoetis Manufacturing & Research Spain S.L. dispone de un Plan General de Emergencia para toda la planta. Este plan de emergencia se actualiza periódicamente para mejorar la capacidad de respuesta e introducir pequeños cambios necesarios. A su vez, también se realizan simulacros de emergencia para familiarizar al personal ante potenciales situaciones de emergencia y formar al personal sobre qué actuaciones deben realizarse.

El Departamento de Investigación y Desarrollo se encuentra ubicado en un edificio aislado. A través de la norma de seguridad se establecen las pautas de actuación en caso de producirse un incendio en el edificio de investigación.



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

Nº de Notificación:

I. RESPONSABLES DE LA ACTIVIDAD

- 1) Entidad
Nombre: Zoetis Manufacturing & Research Spain, S.L
Dirección postal: Ctra. de Camprodon s/n, “La Riba”
17813 Vall de Bianya, Girona

- 2) Representante legal de la entidad
Nombre y apellidos: Alicia Urniza Hostench, DVM
NIF: 46125673R
Cargo: Directora de I+D
Tel: +34972 290 001; Fax: 972 291 336
Correo electrónico: alicia.urniza@zoetis.com

- 3) Responsable científico de la actividad
Nombre y apellidos: Elisenda Viaplana Florensa
NIF: 46335149Q
Cargo: Responsable de laboratorio
Tel: +34872060139; Fax: 972 291 336
Correo electrónico: elisenda.viaplana@zoetis.com

- 4) Responsable de bioseguridad de la instalación donde se realizará la actividad
Nombre y apellidos: Marta Cabana Sumsi
NIF: 45469363L
Cargo: Responsable Bioseguridad (I+D)
Tel: +34872060359; Fax: 972 291 336
Correo electrónico: marta.cabana@zoetis.com

Nombre y apellidos: Anna Vila Quintana
NIF: 77907809R
Cargo: Responsable de Bioseguridad (GMS)
Tel: +34872060468; Fax: 972 291 336
Correo electrónico: anna.vila@zoetis.com

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

El responsable de bioseguridad de la instalación actuará como persona de contacto



II. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD.

(En el caso de que se notifiquen varias actividades de tipo 1, deberá rellenarse este apartado y adjuntar un cuadro resumen en que se recojan todas las actividades, según el modelo que figura en el anexo).

1) Objetivo de la actividad:

La finalidad de la actividad es el crecimiento de virus modificados genéticamente del Virus de la Peste Porcina Africana (VPPA o ASFV del inglés *African Swine Fever Virus*).

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).

Se prevé un periodo de ocho años.

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).

(En el caso de actividades de tipo 1 se incluirá en este apartado un listado de los principales organismos y material genético utilizados (organismos receptores, organismos donantes, insertos, vectores y organismos modificados genéticamente resultantes), así como la evaluación del riesgo para la salud humana y el medio ambiente de los mismos).

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.

El organismo receptor es un ASFV modificado genéticamente clonado y amplificado en cultivos primarios. La modificación genética ofrece al organismo receptor características de reducción de la virulencia. La caracterización génica de la cepa se realizó mediante PCR específica y secuenciación.

El organismo receptor es patógeno para cerdos domésticos, pero en ningún caso se manipulará en las instalaciones de Zoetis Manufacturing & Research Spain S.L.

b) Organismo donante.

El material genético del organismo donante no es patógeno. Proviene de un vector de transferencia que comprende regiones genómicas flanqueantes del gen de interés y un casete que contiene un gen marcador. El vector de transferencia se obtuvo por síntesis *in vitro* de ADN.



El plásmido de transferencia se co-transfectó junto con el DNA viral del ASFV receptor.

c) Inserto.

El casete completo incluye el gen marcador flanqueado por los brazos derecho e izquierdo del gen de interés del genoma del ASFV. Ninguno de los componentes del casete del inserto es patógeno.

d) Vector.

El plásmido de transferencia es un vector comercial sintético que se obtuvo por síntesis de ADN.

El vector no es patógeno y tampoco se manipulará en nuestras instalaciones.

e) Organismo modificado genéticamente resultante.

Durante el proceso de obtención del OMG se realizaron diferentes ensayos con el fin de verificar la construcción y caracterizar el virus recombinante resultante.

Para diferenciar los virus recombinantes del parental se seleccionaron los virus mediante la detección por PCR y por secuenciación.

La modificación ofrece características de atenuación y seguridad

f) Efectos para la salud humana y la sanidad animal y vegetal.

El OMG no infecta a humanos ni a plantas.

Aunque los huéspedes naturales de la cepa salvaje de ASFV son de la especie porcina (doméstica y salvaje), se descartan efectos sobre la salud animal.

g) Efectos para el medio ambiente.

El OMG no será liberado al medio ambiente. Se considera que el efecto para el medio ambiente es mínimo ya que el OMG está atenuado y se manipulará en instalaciones de biocontención de nivel 3.

A su vez, el OMG se ha manipulado previamente en instalaciones de alto nivel de biocontención durante varios años sin ningún incidente que comprometiera la bioseguridad ni el medio ambiente.

2) Clasificación inicial del organismo modificado genéticamente:

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

- Tipo 1
- Tipo 2
- Tipo 3
- Tipo 4



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).

Todas las actividades descritas se realizan en las instalaciones de Zoetis Manufacturing & Research Spain, S.L. (A/ES/10/I-02) con unos protocolos establecidos de trabajo que garantizan la protección tanto del trabajador como del medio ambiente. Las mencionadas instalaciones han sido previamente autorizadas para la actividad de utilización confinada de tipo 3 para trabajar con un ASFV modificado genéticamente (expediente A/ES/15/66). Estas actividades suponen una experiencia previa en la manipulación de microorganismos de tipo 3 como el que se describe en la presente solicitud.

El riesgo de que produzcan efectos nocivos en seres humanos (trabajadores internos o personas en las proximidades de la instalación) se podría considerar nulo teniendo en cuenta las medidas de confinamiento y protección del personal sumado al hecho que el ASFV no supone un riesgo para los seres humanos ya que únicamente infecta a suidos.

Por lo que respecta a posibles efectos nocivos para el medio ambiente (animales en las proximidades de la instalación), hay que tener en cuenta que la vía directa de infección de la enfermedad es por contacto directo de animales infectados con animales sanos. Las vías de transmisión indirectas en cerdos incluyen la ingestión de material infectado y los vectores biológicos.

Para evitar posibles contaminaciones al medio ambiente por parte del personal de laboratorio, todo el trabajo que se efectúe con el OMG se realizará en cabinas de bioseguridad clase 2, utilizando técnicas asépticas a fin de reducir los riesgos de infección. El personal formado para realizar trabajos con OMGs, deberá tener la capacitación requerida que le cualifica para trabajar con el OMG (bajo supervisión apropiada).

Todo uso del OMG se llevará a cabo en instalaciones con nivel 3 de biocontención (BSL-3).

Para asegurar la biocontención el laboratorio BSL-3 consta de medidas de bioseguridad estructurales, de funcionamiento y de procedimientos específicos de flujo de personal y material para toda la instalación.

El laboratorio BSL-3 tiene un control de acceso restringido únicamente al personal cualificado. Para la manipulación de agentes biológicos es obligatorio que el personal lleve ropa de laboratorio, cofia, calzado de seguridad, polainas, doble guante de nitrilo, gafas de seguridad y máscara de protección.

Para asegurar la biocontención, el sistema de climatización genera un gradiente de presión negativa que garantiza el confinamiento del GMO en el área de trabajo e impide el flujo de aire entre el área de trabajo y el medio ambiente. Las climatizadoras filtran el aire a la entrada y a la salida de las distintas salas a través de filtros absolutos HEPA.



El laboratorio dispone de un sistema de descontaminación aéreo validado que asegura la descontaminación de las distintas áreas de trabajo con independencia de las otras.

El laboratorio consta de un sistema de descontaminación de efluentes validado que garantiza el tratamiento y la descontaminación de los efluentes generados en el laboratorio BSL-3.

El laboratorio BSL-3 está regulado por un sistema de gestión que monitoriza y controla el estado de las climatizadoras y todos los parámetros implicados en la gestión del edificio.

La manipulación del OMG se realizará siempre dentro de cabinas de seguridad biológica en receptáculos a prueba de fuga. Todos los residuos generados en el laboratorio BSL-3 (líquidos y sólidos) se inactivan en la misma instalación BSL-3 mediante ciclos validados de descontaminación por autoclave para luego ser eliminados como material no contaminado.

b) Concentración y escala utilizadas.

Escala experimental, por el momento se desconoce la concentración máxima que se puede llegar a obtener. La concentración máxima esperada sería de 10^8 virus/mL, llegando a un volumen máximo de 10 L.

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).

El OMG se cultivará en frascos de plástico aptos para el cultivo celular. El sistema es confinado.

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

Las instalaciones cumplen con los requisitos de nivel de contención 3. Es por este motivo que se considera adecuado manipular este organismo en nuestras dependencias.

5) Determinación del riesgo en el caso de que se produzca una liberación accidental:

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

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

El edificio del laboratorio BSL-3 de I+D se encuentra ubicado dentro del recinto de la fábrica de Zoetis Manufacturing & Research S.L. El sistema informatizado de control de accesos de personal, así como el personal de vigilancia existente las 24h del día, garantiza la entrada única y exclusivamente de personal de la planta autorizado.



b) Condiciones en las que podría producirse un accidente.

Para producirse un accidente grave que sobrepasara el control de Zoetis Manufacturing & Research Spain S.L. debería de producirse un incendio importante que eliminara las condiciones de biocontención que tiene el edificio.

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

La empresa dispone de personal de vigilancia entrenado, las 24h del día, para supervisar todas las instalaciones y minimizar así cualquier posible accidente y sus consecuencias.

Así mismo el laboratorio está protegido en su mayoría por detección de humo y rociadores automáticos para minimizar el daño en caso de producirse un incendio. Este sistema de alarmas está conectado al sistema de gestión del edificio y a la central de alarmas.

En caso de incendio, el agua generada por los rociadores automáticos se recolecta, trata e inactiva por el sistema de descontaminación de efluentes del laboratorio BSL-3.

El laboratorio BSL-3 está regulado por un sistema de gestión que monitoriza y controla el estado de las climatizadoras y todos los parámetros implicados en la gestión del BSL-3 (presiones, circuitos de desinfección, descontaminación, etc...).

El laboratorio dispone de cabinas de bioseguridad donde se realizan todas las operaciones con el virus vivo. A su vez, la zona de laboratorio se encuentra en depresión respecto al exterior para evitar cualquier posibilidad de contaminación del medio ambiente.

d) Planes de emergencia.

Zoetis Manufacturing & Research Spain S.L. dispone de un Plan General de Emergencia para toda la planta. Este plan de emergencia se actualiza periódicamente para mejorar la capacidad de respuesta e introducir pequeños cambios necesarios. A su vez, también se realizan simulacros de emergencia para familiarizar al personal ante potenciales situaciones de emergencia y formar al personal sobre qué actuaciones deben realizarse. El edificio del laboratorio BSL-3 dispone de un procedimiento estandarizado en el que se describe el Plan de actuación contra incendios.