

CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS DEL NOROESTE



MANUAL DE PROCEDIMIENTOS Y BUENAS PRÁCTICAS PARA EL MANEJO DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS UTILIZADOS EN INVESTIGACIÓN

Comisión de Bioseguridad

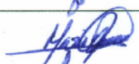
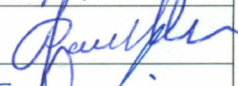
NOMBRE	CARGO	FIRMA
Dra. Gracia Alicia Gómez Anduro	Presidente	
M.C. Mario Arce Montoya	Secretario	
Dr. Ramón Jaime Holguín Peña	Vocal	
Dr. Felipe Ascencio del Valle	Vocal	

Tabla de contenido

ABREVIATURAS	3
INTRODUCCIÓN	4
ANTECEDENTES.....	5
OBJETIVOS	7
MANTENIMIENTO DEL INVENTARIO ACTUALIZADO DE LOS OGM DEL CIBNOR, MEDIANTE UN PROGRAMA INFORMÁTICO DISPONIBLE EN LA RED-INFORMÁTICA INTERNA	8
ANÁLISIS DE RIESGO Y ASIGNACIÓN DEL NIVEL DE BIOSEGURIDAD ADECUADO PARA EL TIPO DE OGMs Y CARACTERÍSTICAS GEOGRÁFICAS DEL CIBNOR.....	9
Características generales de un Laboratorio Nivel 1.....	19
Características generales de un Laboratorio Nivel 2.....	20
Invernaderos.....	24
Características generales de un Invernadero Nivel 1.....	24
Características generales de un Invernadero Nivel 2.....	25
Características generales de un Invernadero Nivel 3.....	25
REGLAS DE BIOSEGURIDAD, BUENAS PRÁCTICAS Y MECANISMOS PARA LA PREVENCIÓN DE LIBERACIONES ACCIDENTALES.....	29
MECANISMOS Y PROCEDIMIENTOS PARA GARANTIZAR LA SEGURIDAD DE LAS INSTALACIONES EN LAS QUE SE REALICEN LAS ACTIVIDADES DE UTILIZACIÓN CONFINADA.....	31
MECANISMOS Y PROCEDIMIENTOS QUE GARANTIZAN LA INTEGRIDAD FÍSICA Y BIOLÓGICA DEL PERSONAL EXPUESTO Y DE LAS PERSONAS QUE REALICEN LA UTILIZACIÓN CONFINADA DE LOS OGM.....	33
Seguridad para el Personal que presta servicios de apoyo	34
Equipo de protección personal	34
MEDIDAS DE PREVENCIÓN AL HABER AVISO DE HURACÁN.....	36
PROTOCOLO EN CASO DE LIBERACIÓN ACCIDENTAL.....	37
MECANISMO DE VIGILANCIA DEL CUMPLIMIENTO DE LAS REGLAS Y DE LAS BUENAS PRÁCTICAS DE TRABAJO CON OGM.....	38
Presidente del Comité de Bioseguridad	39
Secretario del Comité de Bioseguridad.....	39
Vocales del Comité de Bioseguridad.....	40
REFERENCIAS	41

ABREVIATURAS

OGM: Organismo Genéticamente Modificado

CIBNOR: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste

GR: Grupo de riesgo

EPP: Equipo de protección personal

OMS: Organización mundial de la salud

CSB: Cabina de seguridad biológica

INTRODUCCIÓN

El Manual de procedimientos y buenas prácticas para el manejo de Organismos Genéticamente Modificados (OGM) utilizados en investigación, es un compilado de información elaborado por la comisión de Bioseguridad del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR) atendiendo la “Ley de Bioseguridad de OGM” (<http://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/LBOGM.pdf>). El contenido del presente se basa en las necesidades particulares que tiene el CIBNOR de acuerdo al análisis de riesgo derivado del tipo de organismos que se trabajan, genes que se transfieren (listado de OGM disponible en: <http://200.23.162.119/OGM/default.aspx>), fines de uso y características de la ubicación de las instalaciones de trabajo, así como la asignación de un nivel de bioseguridad adecuado para los trabajos del centro, en donde se considera el microorganismo (agente patógeno) utilizado, las instalaciones disponibles, el equipo, las prácticas y los procedimientos necesarios para trabajar con seguridad en el laboratorio.

El presente manual está basado en el Manual de Bioseguridad de la OMS y del Instituto de Ciencias Biomédicas de la UNAM, contempla las reglas de bioseguridad con los mecanismos para la prevención de liberaciones accidentales y la vigilancia del cumplimiento de las reglas y de las buenas prácticas de trabajo con OGM. Así como un listado de buenas prácticas empleadas en la investigación científica durante el manejo de OGM, mecanismos y procedimientos para garantizar la seguridad de las instalaciones en las que se realicen las actividades de utilización confinada. Igualmente se describen los mecanismos y procedimientos que garantizan la integridad física y biológica del personal expuesto y de las personas que realicen la utilización confinada de los OGM.

ANTECEDENTES

El DNA recombinante involucra la combinación de información genética procedente de distintas fuentes para crear organismos genéticamente modificados (OGM) que pueden no haber existido antes en la naturaleza. En un principio, los especialistas en biología molecular expresaron cierta preocupación por la posibilidad de que esos organismos tuvieran propiedades impredecibles y perjudiciales y pudieran representar un riesgo biológico en caso de que salieran de los laboratorios. Esa preocupación generó directrices en materia de tecnología del DNA recombinante. La ingeniería genética, se utilizó por primera vez para clonar fragmentos de DNA en huéspedes bacterianos a fin de expresar productos génicos concretos destinados al estudio. Las moléculas de DNA recombinante también se han utilizado para crear organismos genéticamente modificados, como animales transgénicos o con genes inactivados (knockout), así como plantas transgénicas. La descripción de la manipulación genética por parte de algunos de los que brindaron comentarios como un “poderío casi divino” evidencia el nivel de malestar que se siente ante logros altamente publicitados (tales como el nacimiento de la oveja clonada Dolly por Ian Wilmut, del Roslin Institute, y por Keith Campbell, de la firma de biotecnología PPL Therapeutics de Escocia, en marzo de 1997).

En el plano científico, el debate supera el ámbito de las personalidades. Las preocupaciones expresadas por los algunos genetistas se centran en la creencia de que en este momento es prematuro introducir OGM en el medio ambiente, basándose para ello en preocupaciones de tipo científico, conservacionista y de otro tipo, y no parten de una objeción con respecto a que los seres humanos “actúen como dioses”. A pesar de que estas preocupaciones no son nuevas, se basan cada vez más en dos descubrimientos científicos recientes y en su aparente alcance. El primero de estos descubrimientos tiene que ver con

los resultados del proyecto del Genoma Humano, muy diferentes a los previstos con base en la visión prevaleciente del ADN. Esos resultados parecen indicar que el ADN no es suficientemente variado y no permite un número suficiente de combinaciones para explicar todos los rasgos biológicamente reproducidos, incluso en las formas de vida más simples. Esto sugiere que habría entonces otros factores que también son “bloques de construcción” de la vida.

El desarrollo de marcos institucionales y legales para la gestión de ciertos aspectos de los OGM y la bioseguridad a nivel nacional, regional e internacional es un componente crítico del proceso general para responder a las preocupaciones relativas a la bioseguridad. En México nos rige la Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados, publicado en el Diario Oficial de la Federación el 18 de marzo de 2005 y que entró en vigor el 17 de abril de 2005. Ésta ley establece en sus artículos 78-81, que toda persona, centro o instituto que lleve a cabo actividades de utilización confinada de OGM con fines de enseñanza, investigación o con fines industriales debe presentar un aviso ante SAGARPA y/o SEMARNAT mediante el formato único de avisos. Así mismo estipula que los OGM deben estar en condiciones confinadas.

OBJETIVOS

1. Mantener un inventario actualizado de los OGM del CIBNOR, mediante un programa informático disponible en la red-informática interna en el que cada investigador puede añadir los OGM y sus características en el momento de crearlos.
2. Realizar un análisis de riesgo y asignar el nivel de bioseguridad adecuado para el tipo de organismos con los que se trabaja, tipo de genes que se transfieren, equipo e instalaciones disponibles, así como las características de la ubicación de las instalaciones de trabajo.
3. Presentar las reglas de bioseguridad con los mecanismos para la prevención de liberaciones accidentales, así como un listado de buenas prácticas empleadas en la investigación científica durante el manejo de OGM, mecanismos y procedimientos para garantizar la seguridad de las instalaciones en las que se realicen las actividades de utilización confinada.
4. Describir los mecanismos y procedimientos que garantizan la integridad física y biológica del personal expuesto y de las personas que realicen la utilización confinada de los OGM.
5. Proponer un mecanismo de vigilancia del cumplimiento de las reglas y de las buenas prácticas de trabajo con OGM.

MANTENIMIENTO DEL INVENTARIO ACTUALIZADO DE LOS OGM DEL CIBNOR, MEDIANTE UN PROGRAMA INFORMÁTICO DISPONIBLE EN LA RED-INFORMÁTICA INTERNA

Se diseñó un sistema de captura para el registro continuo de los OGM generados en CIBNOR, el cual se encuentra disponible en la página de intranet, sección: "Comité de Bioseguridad" (acceso disponible en el link: <http://intranet.cibnor.mx/intranet/index.php#>). Para acceder al sistema es necesario introducir los datos de usuario y contraseña de e_SIAR; En la sección de "Captura" se pueden incluir OGMs de nueva creación o recientemente adquisición, así como los detalles de las construcciones, manejo y cuidados del OGM (Figura 1). En la sección de "Inventario" se puede tener acceso al listado completo de los OGM del centro y sus características.

El investigador principal o técnico responsable de cada laboratorio será el responsable de asegurar la actualización de los OGM en el sistema de captura, el presidente y secretario del Comité de Bioseguridad, se encargarán del mantenimiento y confirmación de los datos recibidos por el sistema.

The screenshot displays the CIBNOR Intranet interface. On the left, a sidebar menu lists various services: Vinculos frecuentes, Directorios, Solicitudes de Servicio, Información Administrativa, Informática, Posgrado, and Varios. A red arrow points to the 'Organismos Genéticamente Modificados' link in the sidebar. The main content area is titled 'Organismos Genéticamente Modificados' and includes a navigation bar with 'Inicio', 'Captura', 'Inventario', 'Consulta', and 'Modificaciones'. Below the navigation bar, the user is logged in as 'GRACIA ALICIA GOMEZ ANDRUO (Administrador)'. The 'Captura' section shows a form titled 'DATOS SOLICITADOS' with the following fields: INVESTIGADOR RESPONSABLE (dropdown), ESPECIFICAR OGM (dropdown), GEN INSERTADO (text), FUNCIÓN DEL GEN (text), VECTOR UTILIZADO (dropdown), FECHA DE CREACIÓN DEL OGM (text), MECANISMO DE CUIDADO Y MANEJO (dropdown), UNIDAD (dropdown), LABORATORIO (dropdown), INSTALACIÓN DE CONFINAMIENTO (dropdown), USO QUE SE LE DARÁ (dropdown), FECHA DE REGISTRO EN INVENTARIO DE CIBNOR (text, pre-filled with 11/04/2013), and OBSERVACIONES (text area). A 'Cerrar Sesión' link is visible in the top right corner.

Figura 1. Sistema para el registro continuo de OGM del CIBNOR para el mantenimiento actualizado del inventario.

ANÁLISIS DE RIESGO Y ASIGNACIÓN DEL NIVEL DE BIOSEGURIDAD ADECUADO PARA EL TIPO DE OGMS Y CARACTERÍSTICAS GEOGRÁFICAS DEL CIBNOR

La evaluación de riesgo es un proceso dinámico que tiene en cuenta los nuevos acontecimientos y los avances científicos, deben ser efectuadas por las personas que mejor conozcan las características peculiares de los organismos con los que se trabaja, el equipo y los procedimientos que van a emplearse, los modelos animales y los medios de contención disponibles (generalmente los miembros del Comité de Bioseguridad). El investigador principal de cada laboratorio será el responsable de asegurar que se realicen de modo oportuno las adecuaciones apropiadas y de colaborar estrechamente con el comité de

bioseguridad de la institución con el fin de velar por que se disponga del equipo y los medios apropiados para la contención y manejo de los OGM.

Es preciso realizar una evaluación en aquellas situaciones en las que el producto del gen insertado tenga una actividad biológica o farmacológica que pueda resultar dañina, como: Toxinas, citoquinas, hormonas, reguladores de la expresión génica, factores de virulencia o potenciadores de la virulencia, secuencias oncogénicas, resistencia a antibióticos, alérgenos. El examen de esos casos debe incluir una estimación del nivel de expresión necesario para conseguir actividad biológica o farmacológica.

Muchas modificaciones no utilizan genes cuyos productos sean intrínsecamente nocivos, pero pueden alterar la patogenicidad del organismo receptor. Para intentar determinar esos riesgos, pueden tenerse en cuenta las siguientes preguntas: ¿Hay un aumento de la infectividad o la patogenicidad del organismo receptor?, ¿Podría superarse cualquier mutación incapacitante en el receptor como resultado de la inserción del gen extraño?, ¿Codifica el gen extraño un determinante de patogenicidad de otro organismo?, ¿Se dispone de tratamiento?, ¿Se verá afectada la susceptibilidad del OGM a los antibióticos u otra forma de tratamiento a consecuencia de la modificación genética?, ¿Podría conseguirse la erradicación del OGM?. Además de esto el uso de animales o plantas enteras con fines experimentales merece una consideración cuidadosa. Los investigadores deben cumplir las normas, restricciones y requisitos para trabajar con OGM vigentes en los países y las instituciones en los que se desarrolla su labor.

Una de las herramientas más útiles para llevar a cabo una evaluación del riesgo es la asignación de los agentes microbiológicos a uno de los grupos de riesgo (Tabla 1). Sin embargo, la mera consulta del grupo de riesgo a que pertenece cierto agente no basta para realizar una evaluación del riesgo. Otros

factores que hay que tener en cuenta, según proceda, son los siguientes: La patogenicidad del agente y la dosis infectiva, el resultado potencial de la exposición, la vía natural de infección y vías derivadas de manipulaciones en el laboratorio (parenteral, aérea, por ingestión), la estabilidad del agente en el ambiente, la concentración del agente y el volumen del material concentrado que va a manipularse, la presencia de un huésped apropiado (personas o animales), la información disponible procedente de estudios en animales y de notificaciones de infecciones adquiridas en el laboratorio o de informes clínicos, la actividad prevista en el laboratorio (tratamiento con ultrasonidos, producción de aerosoles, centrifugación, entre otras), disponibilidad local de intervenciones profilácticas o terapéuticas eficaces.

Tabla 1. Clasificación y características de los grupos de riesgo. Tomado y adecuado del manual de Bioseguridad de la OMS.

Grupo de riesgo	Características del microorganismo
1: Riesgo individual y poblacional escaso o nulo	Microorganismos que tienen pocas probabilidades de provocar enfermedades en el ser humano o los animales.
2: Riesgo individual moderado, riesgo poblacional bajo	Agentes patógenos que pueden provocar enfermedades humanas o animales pero que tienen pocas probabilidades de entrañar un riesgo grave para el personal de laboratorio, la población, el ganado o el medio ambiente. La exposición en el laboratorio puede provocar una infección grave, pero existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces y el riesgo de propagación es limitado.
3: Riesgo individual elevado, riesgo	Agentes patógenos que suelen provocar enfermedades humanas o animales graves, pero que de ordinario no se

poblacional bajo	propagan de un individuo a otro. Existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces.
4: Riesgo individual y poblacional elevado	Agentes patógenos que suelen provocar enfermedades graves en el ser humano o los animales y que se transmiten fácilmente de un individuo a otro, directa o indirectamente. Normalmente no existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces.

Sobre la base de la información obtenida durante la evaluación de riesgos, se podrá asignar un nivel de bioseguridad (Tabla 2) al trabajo previsto, seleccionar el equipo de protección apropiado para el personal, y elaborar procedimientos normalizados de trabajo que incorporen otras intervenciones de seguridad con el fin de velar por la máxima seguridad en la realización del trabajo.

Tabla 2. Grupos de riesgo y niveles de bioseguridad requerido en los laboratorios

Grupo de Riesgo	Nivel de Bioseguridad	Tipo de Laboratorio	Prácticas de Laboratorio	Equipo de Seguridad
1	Básico Nivel 1	Enseñanza básica, investigación	Técnicas microbiológica apropiadas	Ninguno, trabajo en mesa de laboratorio al descubierto
2	Básico Nivel 2	Servicios de atención primaria, diagnóstico, investigación	Técnicas microbiológica apropiadas, ropa protectora, señal de riesgo biológico	Trabajo en mesa de laboratorio al descubierto y cámara de seguridad biológica para posibles aerosoles
3	Contención	Diagnóstico	Prácticas de	Cámara de

	Nivel 3	especial, investigación	Nivel 2 más seguridad biológica ropa especial, además de otros acceso medios de controlado y contención primaria flujo direccional para todas las de aire actividades
4	Contención máxima Nivel 4	Unidades de patógenos peligrosos	Prácticas de Cámara de Clase III o cámara de seguridad biológica clase II con trajes presurizados, salida con autoclave de doble ducha y puerta, aire filtrado eliminación especial de residuos

La realización de las debidas evaluaciones del riesgo garantizará que los beneficios de la tecnología del ADN recombinante sigan estando al alcance de la humanidad en los años venideros.

Para conocer los grupos de riesgo (GR) existentes en CIBNOR y determinar el nivel de bioseguridad adecuado, se analizaron: inventario de OGM con la información disponible hasta Abril del 2013 (Tabla 3), características geográficas (Figura 1) e instalaciones de trabajo con que cuenta en el Centro (Figura 2).

Tabla 3. Listado de OGMs de los Laboratorios del CIBNOR

Responsable	Tipo	NombreOGM	GenInsertado	FuncionGen	Vector	OtroVector	Confinamiento	Uso	Manejo	FechaCreación	FechaModificación	Unidad	Edificio	Laboratorio	Observaciones
GOMEZ ANDURIO GRACIA ALICIA	Bacteria	E. coli DH5 alfa	proteína transportadora de lípidos de nopal	proteína transportadora de lípidos	pENTRSDO-TOPO	pENTRSDO-TOPO	Laboratorio (Congelador)	Investigación	Congelador con acceso restringido. Uso exclusivo en Campaña de flujo laminar, mechero, todo el material se clora y esteriliza en autoclave	01/11/2011	20/03/2013	LA PAZ	A	Laboratorio Biología Molecular de Plantas	2 CLONES
GOMEZ ANDURIO GRACIA ALICIA	Bacteria	E. coli DH5 alfa	Proteína transportadora de lípidos de nopal	transportadora de lípidos	pENTR223.1 sfORF	pENTR223.1 sfORF	Laboratorio (Congelador)	Investigación	Congelador con acceso restringido. Uso exclusivo en Campaña de flujo laminar, mechero, todo el material se clora y esteriliza en autoclave	01/11/2011	20/03/2013	LA PAZ	A	Laboratorio Biología Molecular de Plantas	2 CLONAS
GOMEZ ANDURIO GRACIA ALICIA	Bacteria	Agrobacterium tumefaciens	beta glucosidasa de maíz	implicado en estrés biótico	pMDC32		Laboratorio (Congelador)	Investigación	Congelador con acceso restringido. Uso exclusivo en Campaña de flujo laminar, mechero, todo el material se clora y esteriliza en autoclave	01/11/2011	20/03/2013	LA PAZ	A	Laboratorio Biología Molecular de Plantas	4 clones
GOMEZ ANDURIO GRACIA ALICIA	Bacteria	E. coli DH5 alfa	Promotor de proteína transportadora de lípidos de nopal	proteína transportadora de lípidos	TOPO PCR8		Laboratorio (Congelador)	Investigación	Congelador con acceso restringido. Uso exclusivo en Campaña de flujo laminar, mechero, todo el material se clora y esteriliza en autoclave	01/11/2011	20/03/2013	LA PAZ	A	Laboratorio Biología Molecular de Plantas	4 clones
GOMEZ ANDURIO GRACIA ALICIA	Bacteria	E. coli DH5 alfa	Genes de coquilla relacionados con estrés salino	respuesta a estrés	pGem		Laboratorio (Congelador)	Investigación	Congelador con acceso restringido. Uso exclusivo en Campaña de flujo laminar, mechero, todo el material se clora y esteriliza en autoclave	02/08/2011	21/03/2013	LA PAZ	A	Laboratorio Biología Molecular de Plantas	576 clones
IBARRA HUMPHRIES ANA MARIA	Bacteria	E. coli JM109	Gen de miostatina	maduración	pGem		Laboratorio (Congelador)	Investigación	Cepas en glicerol, congelador con acceso restringido. Uso exclusivo en Campaña de flujo laminar, mechero, todo el material se clora y esteriliza en autoclave	11/07/2012	21/03/2013	LA PAZ	Q	Laboratorio de Genética Acuicola	1 clona
IBARRA HUMPHRIES ANA MARIA	Bacteria	E. coli JM109	chHike de camaron L. vannamei	regulación de la fisiología de reproducción	pGem	Teasy	Laboratorio (Congelador)	Investigación	esteriliza en autoclave	01/11/2012	21/03/2013	LA PAZ	Q	Laboratorio de Genética Acuicola	1 clona
IBARRA HUMPHRIES ANA MARIA	Bacteria	E. coli JM109	Sex lethal de camaron Litopenaeus vannamei	Feminización	pGem	Teasy	Laboratorio (Congelador)	Investigación	Cepas en stock de glicerol, congelador con acceso restringido. Uso exclusivo en Campaña de flujo laminar, mechero, todo el material se clora y esteriliza en autoclave	03/09/2012	21/03/2013	LA PAZ	Q	Laboratorio de Genética Acuicola	11 clones
VALADEZ CARLOS ELIUD	Planta	Medicago sativa	Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis	defensa	pMDC32		Cámara de crecimiento	Investigación	Plantas en cultivo in vitro, frascos cerrados, laboratorio bajo llave, vigilancia CIBNOR, todo el material se incinera para desechar.	02/01/2012	21/03/2013	LA PAZ	C	Laboratorio de Biotecnología Vegetal	10 líneas
GOMEZ ANDURIO GRACIA ALICIA	Bacteria	azospirillum brasilensis	Green fluorescent protein	reportero	TN5	TN5	Laboratorio (Congelador)	Investigación	Congelador con acceso restringido. Uso exclusivo en Campaña de flujo laminar, mechero, todo el material se clora y esteriliza en autoclave	15/02/2012	02/10/2017	LA PAZ	A	Laboratorio Biología Molecular de Plantas	2 clones.
MEJIA RUJZ CLAUDIO HUMBERTO	Bacteria	E. coli TOP 10 F	Fragmento de virus de mancha blanca de camaron WSIVS1	envoltura del virus	TOPO PCR2.0		Laboratorio (Congelador)	Investigación	Congelador con acceso restringido. Uso exclusivo en Campaña de flujo laminar, mechero, todo el material se clora y esteriliza en autoclave	14/11/2012	21/03/2013	LA PAZ	A	Laboratorio de Biotecnología de Organismos Marinos	2 clones
MEJIA RUJZ CLAUDIO HUMBERTO	Levadura	BY100	Saccharomyces cerevisiae mancha blanca de camaron	capside del virus	Shuttle pYD1	Shuttle pYD1	Laboratorio (Congelador)	Investigación	Congelador con acceso restringido. Uso exclusivo en Campaña de flujo laminar, mechero, todo el material se clora y esteriliza en autoclave	13/06/2012	21/03/2013	LA PAZ	A	Laboratorio de Biotecnología de Organismos Marinos	1 CLONA
ASCENCIO VALLE FELIPE DE JESUS	Bacteria	E. coli DH5 alfa	Genes de camaron	Genes de defensa	pGem	Teasy	Laboratorio (Congelador)	Investigación	Congelador con acceso restringido. Uso exclusivo en Campaña de flujo laminar, mechero, todo el material se clora y esteriliza en autoclave	07/09/2010	21/03/2013	LA PAZ	A	Laboratorio de Patogénesis Microbiana	288 clones
ASCENCIO VALLE FELIPE DE JESUS	Bacteria	E. coli DH5 alfa	Genes de cabrilla sardineria	Genes de defensa	pGem	Teasy	Laboratorio (Congelador)	Investigación	Congelador con acceso restringido. Uso exclusivo en Campaña de flujo laminar, mechero, todo el material se clora y esteriliza en autoclave	11/08/2010	21/03/2013	LA PAZ	A	Laboratorio de Patogénesis Microbiana	1056 clones
HOLGUIN PEÑA RAMON JAIME	Bacteria	Agrobacterium tumefaciens	Secuencia parcial de los genes AV1 y AC1 mas la secuencia completa de la region intergenica. Secuencia parcial del gen AV1, AC1 y toda la secuencia de la region intergenica de ToChLPV	generar dsRNAs	pH7GWVGW2 (II)	pH7GWVGW2 (II)	Laboratorio (Congelador)	Investigación	Resiembra trimestral	09/06/2010	22/08/2013	LA PAZ	M	Laboratorio de Fitopatología	ninguna
HOLGUIN PEÑA RAMON JAIME	Bacteria	Agrobacterium tumefaciens	gen AV1, AC1 y toda la secuencia de la region intergenica de ToChLPV	generar dsRNAs	pH7GWVGW2 (II)	pH7GWVGW2 (II)	Laboratorio (Congelador)	Investigación	Resiembra trimestral	16/06/2010	22/08/2013	LA PAZ	M	Laboratorio de Fitopatología	Ninguna
IBARRA HUMPHRIES ANA MARIA	Bacteria	JM109	Miostatina	Regulador negativo del crecimiento	pGem	Teasy	Laboratorio (Congelador)	Investigación	Bacterias conservadas en glicerol (14 clones en tubos de 1.6 ml)	30/04/2013	30/08/2013	LA PAZ	Q	Laboratorio de Genética Acuicola	Usuario Patricia Parrilla y Raúl Uiera. Trabajo en Nodipecten
IBARRA HUMPHRIES ANA MARIA	Bacteria	JM109	FMNS2	Gen de meiosis	pGem	Teasy	Laboratorio (Congelador)	Investigación	Conservadas en glicerol	13/08/2013	30/08/2013	LA PAZ	Q	Laboratorio de Genética Acuicola	Usuario Patricia Parrilla y Raúl Uiera. Estudio de Nodipecten
IBARRA HUMPHRIES ANA MARIA	Bacteria	JM109	PCH2	Gen de la meiosis	pGem	Teasy	Laboratorio (Congelador)	Investigación	Conservadas en glicerol en tubos de 1.6 ml	14/08/2013	30/08/2013	LA PAZ	Q	Laboratorio de Genética Acuicola	Usuario Patricia Parrilla y Raúl Uiera. Especie de estudio Nodipecten
IBARRA HUMPHRIES ANA MARIA	Bacteria	JM109	RAD51	Recombinación y reparación de ADN	pGem	Teasy	Laboratorio (Congelador)	Investigación	Conservadas en glicerol, en tubos de 1.6 ml	14/08/2013	30/08/2013	LA PAZ	Q	Laboratorio de Genética Acuicola	Usuario Patricia Parrilla y Raúl Uiera. Especie de estudio Nodipecten
IBARRA HUMPHRIES ANA MARIA	Bacteria	JM109	SCP3	Apareamiento de cromosomas	pGem	Teasy	Laboratorio (Congelador)	Investigación	Conservadas en glicerol en tubos de 1.6 ml	15/08/2013	30/08/2013	LA PAZ	Q	Laboratorio de Genética Acuicola	Usuario Patricia Parrilla y Raúl Uiera. Especie de estudio Nodipecten
IBARRA HUMPHRIES ANA MARIA	Bacteria	JM109	DEX (double-sex)	Factor de transcripción	pGem	Teasy	Laboratorio (Congelador)	Investigación	Conservadas en glicerol en tubos de 1.6 ml (33 clones)	25/04/2013	30/08/2013	LA PAZ	Q	Laboratorio de Genética Acuicola	Usuario Jorge Apodaca. Especie de estudio Nodipecten
CRUZ HERNANDEZ PEDRO	Bacteria	JM109	MSTN (miostatina)	Regulador negativo del crecimiento	pGem	Teasy	Laboratorio (Congelador)	Investigación	Conservadas en glicerol en tubos de 1.6 ml (14 clones)	30/07/2013	30/08/2013	LA PAZ	Q	Laboratorio de Genética Acuicola	Usuario Lujánus Itzias López. Especie de estudio Nodipecten
IBARRA HUMPHRIES ANA MARIA	Bacteria	JM109	SLX (sex lethal)	Feminización	pGem	Teasy	Laboratorio (Refrigerador)	Investigación	Conservadas en LBagar con ampicilina en cajas petri (17 cajas)	31/07/2013	30/08/2013	LA PAZ	Q	Laboratorio de Genética Acuicola	Usuario Litopenaeus vannamei
IBARRA HUMPHRIES ANA MARIA	Bacteria	JM109	Horma Domain	Checkpoint meiosis	pGem	Teasy	Laboratorio (Refrigerador)	Investigación	Conservadas en LBagar con ampicilina en cajas petri (7 cajas)	25/04/2013	30/08/2013	LA PAZ	Q	Laboratorio de Genética Acuicola	Usuario Patricia Parrilla. Especie de estudio Nodipecten
IBARRA HUMPHRIES ANA MARIA	Bacteria	JM109	MSTN (miostatina)	Regulador negativo del crecimiento	pGem	Teasy	Laboratorio (Refrigerador)	Investigación	Conservadas en LBagar con ampicilina en cajas petri (2 cajas)	19/08/2013	30/08/2013	LA PAZ	Q	Laboratorio de Genética Acuicola	Usuario Mayra Fuente. Especie de estudio Nodipecten

ANGULO VALADEZ CARLOS ELIUD	Bacteria	Escherichia coli	tóxina codb	Interfiere con la actividad de la ADN girasa, la inducción de este gen resultara en la formación de un complejo Gyra-DNA covalente, promoviendo así la rotura del plásmido y el ADN cromosómico.	pH7m24GW .3	pH7m24GW 3	Laboratorio (Congelador)	Investigación	Crece en medio LB con 75 ug/ml spectinomina en bacteria	02/02/2015	25/02/2015	LA PAZ	A	Laboratorio Biología Molecular de Plantas	25 viales almacenados en ultracongelador
ANGULO VALADEZ CARLOS ELIUD	Bacteria	Escherichia coli codb survival 271 (Invitrogen)	tóxina Codb	Interfiere con la actividad de la ADN girasa, la inducción de este gen resultara en la formación de un complejo Gyra-DNA covalente, promoviendo así la rotura del plásmido y el ADN cromosómico.	pDONR 221	pDONR 221	Laboratorio (Congelador)	Investigación	Almacenada a menos 80 grados Celcius, crece en LB con 50 ug/ml Kanamicina	02/02/2015	25/02/2015	LA PAZ	A	Laboratorio Biología Molecular de Plantas	5 replicas almacenados en el rack 15, estante número 4, en las siguientes posiciones 5C, 6C, 7C, 8C y 9C.
ANGULO VALADEZ CARLOS ELIUD	Bacteria	Escherichia coli codb survival 271 (Invitrogen)	Tóxina Codb	Interfiere con la actividad de la ADN girasa, la inducción de este gen resultara en la formación de un complejo Gyra-DNA covalente, promoviendo así la rotura del plásmido y el ADN cromosómico.	pDONR P2P3	pDONR P2P3	Laboratorio (Congelador)	Investigación	Almacenadas a menos ochenta grados celcius, crece con 50 ug/ml Kanamicina	02/02/2015	25/02/2015	LA PAZ	A	Laboratorio Biología Molecular de Plantas	5 viales almacenados en el estante 4, rack 15, columna c, en los lugares 10C, 1D, 2D, 3D y 4D.
ANGULO VALADEZ CARLOS ELIUD	Bacteria	Escherichia coli codb survival 271 (Invitrogen)	Tóxina Codb	Interfiere con la actividad de la ADN girasa, la inducción de este gen resultara en la formación de un complejo Gyra-DNA covalente, promoviendo así la rotura del plásmido y el ADN cromosómico.	pDONR P4P1R	pDONR P4P1R	Laboratorio (Congelador)	Investigación	Almacenadas a menos ochenta grados celcius. Crece con 50 ug/ml Kanamicina.	02/02/2015	25/02/2015	LA PAZ	A	Laboratorio Biología Molecular de Plantas	Almacenados en el ultracongelador, en el estante IV, el rack 15, la columna C, en los espacios 5D, 6D, 7D, 8D y 9D.
ANGULO VALADEZ CARLOS ELIUD	Bacteria	Escherichia coli codb survival 271 (Invitrogen)	Tóxina Codb	Interfiere con la actividad de la ADN girasa, la inducción de este gen resultara en la formación de un complejo Gyra-DNA covalente, promoviendo así la rotura del plásmido y el ADN cromosómico.	pHGWF57	pHGWF57	Laboratorio (Congelador)	Investigación	Almacenadas a menos ochenta grados centigrados, crece en medio lb con 75 ug/ml spectinomina Esterilización del material utilizado (UV, calor-presión, químicos) y uso de campana microbiológica, acceso restringido mediante llave a congelador, laboratorio, así como vigilancia del CIBNOR.	25/02/2015	25/02/2015	LA PAZ	A	Laboratorio Biología Molecular de Plantas	15 viales almacenados, en el estante 4, rack 15, columna C, en los siguientes lugares: 1E, 2E, 3E, 4E, 5E, 6E, 7E, 8E, 9E, 10E, 1F, 2F, 3F, 4F, 5F.
ROJO ARREOLA LILIANA	Bacteria	E. coli	L8	Sub unidad ribosomal	TOPO PCR4.0		Laboratorio (Congelador)	Investigación	Esterilización del material utilizado (UV, calor-presión, químicos) y uso de campana microbiológica, acceso restringido mediante llave a congelador, laboratorio, así como vigilancia del CIBNOR.	01/06/2016	14/07/2016	LA PAZ	J	Laboratorio de Bioquímica	1 clona
ROJO ARREOLA LILIANA	Bacteria	E. coli	Quimotripsina BI	Digestiva	TOPO PCR4.0		Laboratorio (Congelador)	Investigación	Esterilización del material utilizado (UV, calor-presión, químicos) y uso de campana microbiológica, acceso restringido mediante llave a congelador, laboratorio, Esterilización del material utilizado (UV, calor-presión, químicos) y uso de campana microbiológica, acceso restringido mediante llave a congelador, laboratorio,	16/03/2016	14/07/2016	LA PAZ	J	Laboratorio de Bioquímica	1 clona, fragmento de gen
ROJO ARREOLA LILIANA	Bacteria	E. coli	Quimotripsina BII	Digestiva	TOPO PCR4.0		Laboratorio (Congelador)	Investigación	Esterilización del material utilizado (UV, calor-presión, químicos) y uso de campana microbiológica, acceso restringido mediante llave a congelador, laboratorio, Esterilización del material utilizado (UV, calor-presión, químicos) y uso de campana microbiológica, acceso restringido mediante llave a congelador, laboratorio,	01/06/2015	14/07/2016	LA PAZ	J	Laboratorio de Bioquímica	1 clona, fragmento
ROJO ARREOLA LILIANA	Bacteria	E. coli	Zinc proteasa	Digestiva	TOPO PCR4.0		Laboratorio (Congelador)	Investigación	Esterilización del material utilizado (UV, calor-presión, químicos) y uso de campana microbiológica, acceso restringido mediante llave a congelador, laboratorio, Esterilización del material utilizado (UV, calor-presión, químicos) y uso de campana microbiológica, acceso restringido mediante llave a congelador, laboratorio,	09/03/2015	14/07/2016	LA PAZ	J	Laboratorio de Bioquímica	2 clonas, fragmento de gen
ROJO ARREOLA LILIANA	Bacteria	E. coli	Tripsina	Digestiva	TOPO PCR4.0		Laboratorio (Congelador)	Investigación	Esterilización del material utilizado (UV, calor-presión, químicos) y uso de campana microbiológica, acceso restringido mediante llave a congelador, laboratorio,	09/03/2015	14/07/2016	LA PAZ	J	Laboratorio de Bioquímica	2 clonas, fragmento de gen

Las Instalaciones principales del CIBNOR se encuentran a aproximadamente 17 Km. al norte de la Cd. de La Paz. Consta de un terreno de 214 hectáreas, con un frente de playa de alrededor de 300 metros (Figura 1).



Figura 1. Características geográficas del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste y coordenadas UTM.

La distribución de las instalaciones con que cuenta el CIBNOR se muestran en la figura 2, los trabajos de ingeniería genética, caracterización, evaluación y selección de genes, construcción de vectores de expresión se llevan a cabo en los Laboratorios de biología molecular de plantas, patogénesis microbiana y Biotecnología de organismos marinos (en edificio A), laboratorio de bioquímica (remodelación, edificio J, actualmente en anexo del edificio B), Genética acuícola (edificio Q), microbiología ambiental (edificio J). Para el caso de transformación de plantas y microalgas mediadas por *Agrobacterium* con las construcciones de interés así como el cultivo in vitro de plantas, se realiza en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal (edificio C).



CTT: Centro de Transferencia Tecnológica
Camper 1: Dirección General
Camper 2: Dirección de Gestión Institucional
Camper 3: Dirección de Planeación y Desarrollo Institucional
Camper 4: Órgano Interno de Control
Camper 5: Subdirección Jurídica
Camper 6: Departamento de Extensión y Divulgación Científica

A: Laboratorio Patogénesis Microbiana y Biología Molecular de Plantas
 B: Servicio Mecánico y Taller de maquinados
 C: Biotecnología Vegetal
 D-H: Laboratorios de investigación
 I: Imprenta, compras, almacén
 J,K,N: En remodelación, actualmente campers, Laboratorio de Ecología Microbiana
 L: Administración
 L-Q, Z: Laboratorios de investigación
 R y T: Cubículos de Investigadores
 S: auditorio
 U: Posgrado
 V: sala audiovisual, cafetería

Figura 2. Distribución de las instalaciones del CIBNOR

En base al tipo de OGM con que se trabaja en CIBNOR así como de sus condiciones para la contención y manejo, se clasificó al personal del CIBNOR que trabaja con OGM como GR2 (riesgo individual moderado y riesgo poblacional bajo). Ello en base a que el 97% de los OGM corresponden a la transformación de *E. coli* y los mecanismos de manejo, contención y desecho son los adecuados para procesos microbiológicos. Un 2% de OGM corresponden a transformaciones de plantas modelo (*Arabidopsis thaliana*, *Solanum lycopersicon* var. Micro-Tom y

Medicago sativavar. REAGEN SY27) cuyo crecimiento y manejo requiere condiciones controladas y se mantienen en cultivo in vitro, sumado a ello los hechos de que las plantas nunca llegan a floración además de no existir flora silvestre de las mismas especies con la que pudiera darse la contaminación cruzada. Por último el 1 % corresponde a OGM de levaduras, microalgas y la bacteria *Azospirillum*, éstos son organismos modelos que requieren condiciones especiales y medios enriquecidos para sobrevivir, sin embargo se presta especial cuidado al trabajo con microalgas debido a la cercanía del CIBNOR con las aguas del Golfo de California. Es por ello que el desecho de OGM de microalgas se clora y esteriliza antes de ser desechado, sumado a ello el hecho de que el agua de CIBNOR no se vierte directamente al drenaje sino que pasa por un proceso previo de tratamiento.

En referencia a los genes insertados, de un total de 2015 OGM el 98% de los genes insertados corresponden a genes de metabolismo general o de respuesta a estrés y solo el 2% (8 OGM) corresponde a epítopes de genes de virus o bacteria que produce la paratuberculosis bovina (*Mycobacterium avium* subsp. Paratuberculosis). Un solo caso de OGM contiene la región promotora o de encendido de genes, sin embargo éste es un promotor débil de planta, el cual se enciende en condiciones controladas de salinidad por lo que representa bajo riesgo sobre todo si lo comparamos con los promotores comerciales como el 35S 2X del virus del mosaico de la coliflor. En el caso de los epítopes virales o de la bacteria de paratuberculosis no pueden provocar enfermedades humanas o animales dado que no contienen genes completos, estos fragmentos de genes (epítopes) se usan en investigación para el desarrollo de vacunas. En general hay pocas probabilidades de que exista un riesgo grave para el personal de laboratorio, la población, el ganado o el medio ambiente.

Tomando en cuenta el GR, las características geográficas e infraestructura del CIBNOR, se determinó el nivel de seguridad que se requiere para trabajo con

OGM del CIBNOR. Se requieren laboratorios nivel 1 para el caso de OGM bacterianos que involucre la inserción de genes de metabolismo general o estrés y laboratorios nivel 2 para el trabajo con genes completos virales o de la bacteria *Mycobacterium avium*. En el caso de OGM de plantas se pueden mantener en cultivo in vitro en invernaderos Nivel 1 o en invernaderos Nivel 2 para el cultivo en macetas.

Características generales de un Laboratorio Nivel 1

Los agentes biológicos que se utilizan en este tipo de laboratorio son microorganismos de muy bajo potencial patogénico, se manipulan con prácticas y técnicas microbiológicas básicas.

El laboratorio Nivel 1 debe estar acondicionado para trabajar con microorganismos bien caracterizados y que se sabe que no causan enfermedad en las personas sanas y por ende, no representan un riesgo para el personal del laboratorio y del medio ambiente. Este laboratorio no necesita un área aislada, no requiere de equipo ni de instalaciones especiales de contención, el trabajo con estos microorganismos se puede realizar en un laboratorio de investigación convencional, siguiendo las prácticas estándares de microbiología.

El laboratorio debe contar con un lavamanos, debe estar diseñado de tal manera que pueda limpiarse con facilidad, los pisos de mosaico no son apropiados ya que impedirían la descontaminación después de cualquier derrame o salpicadura, las mesas de trabajo deben ser impermeables al agua y resistentes a solventes orgánicos, ácidos, álcalis y al calor moderado, los equipos de laboratorio deben estar espaciados con el fin de facilitar el acceso a las operaciones de limpieza, dicho acceso tampoco deberá estar obstaculizado por materiales o cajas.

Es necesario el uso de batas y guantes con el fin de evitar la contaminación de ropa personal de calle. Está prohibido el uso de prendas de laboratorio en

lugares como: oficinas administrativas, salas de reuniones o biblioteca, debe existir un programa de fumigación periódico.

El acceso al laboratorio debe ser controlado por el responsable del mismo, todos los investigadores deben lavarse las manos después de manipular material biológico o animales, así como antes de salir del laboratorio, no se permite comer, beber, fumar ni maquillarse dentro del área de trabajo, los alimentos deben de ser almacenados en lugares o refrigeradores asignados únicamente para este propósito, el pipeteo debe ser realizado con instrumentos mecánicos (propipeta, pipeta automática) y nunca por medio de la boca, se debe tratar de reducir al máximo la producción y liberación de aerosoles, las áreas de trabajo deben ser descontaminadas una vez al día, así como después de cualquier derrame de material biológico, los desechos sólidos o líquidos con material biológico deben ser descontaminados por medio de un procedimiento apropiado antes de ser eliminados (esterilización en autoclave o inmersión en desinfectantes apropiados). Si el autoclave no se encuentra disponible, los desechos a descontaminar por esta vía, deben ser etiquetados debidamente y colocados en un sitio específico hasta su esterilización. Todo material contaminado que deba salir del laboratorio para su descontaminación (por autoclave o incineración) debe ser colocado dentro de bolsas especiales debidamente cerradas y etiquetadas. Una cinta testigo deberá ser colocada como indicativo de esterilización.

Características generales de un Laboratorio Nivel 2

Se requiere para agentes que presentan un riesgo moderado para el trabajador (la enfermedad resulta de auto inoculaciones, ingestiones o exposiciones de membranas mucosas, o bien debido a inmunodepresión). Su diseminación en el medio ambiente es poco probable y existe tratamiento o medidas preventivas contra la infección generada.

El acceso al laboratorio se restringirá cuando se esté desarrollando algún trabajo, se debe tomar precauciones extremas con objetos punzocortantes contaminados, así como con los procedimientos en los cuales se pueda crear aerosoles infecciosos o salpicaduras, los cuales deberán ser realizados en una cabina de seguridad biológica (CSB) o en algún otro equipo de contención física.

El laboratorio debe contar con un lavamanos, puerta con mirilla, cerraduras y símbolo y signo internacional de PRECAUCIÓN RIEGO BIOLÓGICO (para GR2 o superior). El laboratorio debe estar diseñado de tal manera que pueda limpiarse con facilidad. Los pisos de mosaico no son apropiados ya que impedirían la descontaminación después de cualquier derrame o salpicadura. Las mesas de trabajo deben ser impermeables al agua y resistentes a solventes orgánicos, ácidos, álcalis y al calor moderado. Los equipos de laboratorio deben estar espaciados con el fin de facilitar el acceso a las operaciones de limpieza. Si el laboratorio tiene ventanas abiertas (no recomendado), éstas deben estar cubiertas con mosquiteros. Debe contarse con un método para la descontaminación de desechos cerca del laboratorio (como autoclave o incinerador).

Debe contar con una cabina de seguridad biológica para todo procedimiento con potencial para crear aerosoles. Se producen aerosoles en los procesos de: centrifugación, mezclado, sonicación, agitación vigorosa, apertura de frascos o viales con material infeccioso y cuya presión interna sea diferente a la atmosférica, apertura de frascos con microorganismos liofilizados, inoculación de animales, cosecha de material infeccioso a partir de animales, extracción de huevecillos parasitarios. La centrifugación de grandes volúmenes puede ser realizada fuera de gabinetes de seguridad, siempre que se use rotores con canastillas herméticamente selladas o botellas de centrífuga con tapón de rosca, mismos que serán abiertos únicamente dentro del gabinete de seguridad.

El personal de laboratorio debe contar con el entrenamiento específico en los procedimientos que se llevan a cabo y deberá ser supervisado por científicos especializados en el área. Debe utilizar protección facial (anteojos, caretas, cubrebocas, y máscaras quirúrgicas), para prevenir el contacto con salpicaduras de material peligroso en la cara, cuando los microorganismos sean manipulados fuera del gabinete de seguridad. Batas, cofias, o trajes completos para protección a ropa, deben ser utilizados todo el tiempo dentro del laboratorio, y esterilizados antes de ser enviados a la lavandería, está absolutamente prohibido salir con la bata a lugares como: oficinas administrativas, comedores, biblioteca y salas de reuniones. No se permite la presencia de animales o de plantas no relacionados con el trabajo dentro del laboratorio.

El uso de agujas hipodérmicas y jeringas está restringido sólo para aquellas operaciones en donde no existan otras alternativas (inyección y aspiración de fluidos de animales de laboratorio); todas las jeringas y las agujas deben ser descartadas de inmediato dentro de recipientes de plástico, esterilizadas, y nunca deberá reutilizarse una misma jeringa con otra aguja. Se pueden utilizar asas de siembra de plástico desechables, también incineradores eléctricos de asas dentro de la CSB para reducir la formación de aerosoles; frascos y tubos con tapón de rosca. Son recomendables las Pipetas Pasteur de plástico desechable, en sustitución de las de vidrio. Cuando ocurra la contaminación de algún material o equipo de laboratorio, éste debe ser descontaminado de inmediato.

Se deben utilizar guantes al manipular animales infectados y cuando exista la posibilidad de contacto con material infectado, o con superficies o equipo contaminados. El uso de doble guante en cada mano puede ser útil, al permitir manipular sin interrupción cuando un guante debe ser cambiado después de una contaminación eventual. Los guantes no deben nunca ser usados fuera del laboratorio. Si son desechables, no deben ser lavados y reutilizados.

Todo el personal debe lavarse las manos después de manipular material biológico o animales, así como antes de salir del laboratorio. No se permite comer, beber, fumar ni maquillarse dentro del área de trabajo. Los alimentos deben de ser almacenados en lugares o refrigeradores sólo asignados para este propósito. El pipeteo debe ser realizado con instrumentos mecánicos y nunca por medio de la boca. Se debe tratar de reducir al máximo la producción de aerosoles, evitando: agitaciones, pipeteos bruscos, la introducción de asas de cultivo calientes dentro de medios de cultivo, entre otras prácticas. Las áreas de trabajo deben ser tratadas con desinfectante una vez al día, así como después de cualquier derrame de material biológico. Los desechos sólidos o líquidos con material biológico deben ser descontaminados por medio de un procedimiento apropiado antes de ser eliminados (esterilización en autoclave, incineración, inmersión en desinfectantes). Los desechos a descontaminar fuera del laboratorio deben ser debidamente envueltos, etiquetados, y colocados en un sitio confinado hasta su esterilización. Debe existir un programa de fumigación periódico.

El jefe de laboratorio debe designar al personal autorizado para realizar los diferentes procedimientos dentro de un laboratorio con nivel de seguridad 2, así como responsabilizarse de su correcta capacitación. Las personas con susceptibilidad de adquirir la infección o que esta le resulte peligrosa, no deberán recibir autorización para el manejo de agentes infecciosos ni de animales infectados. Cuando se requiera precauciones especiales dentro del laboratorio, a causa del tipo de manipulación que se realiza (inmunización, por ejemplo), debe colocarse en la puerta de entrada un aviso indicativo, con el símbolo internacional de riesgo biológico y que indique el tipo de manipulación, el microorganismo, el nombre del responsable del experimento y los requerimientos para entrar al laboratorio.

Cualquier accidente que resulte en la exposición del organismo debe ser reportado al responsable del laboratorio, quien se encargará de supervisar que la

evaluación médica y el tratamiento necesario sean proporcionados, y debe llevar un expediente con estos datos. Si existen, se realizarán periódicamente las inmunizaciones y/o pruebas necesarias para el diagnóstico de la infección provocada por el microorganismo en experimentación.

El manual de procedimientos en bioseguridad debe ser seguido por el personal. Los miembros del laboratorio deberán conocer los riesgos particulares a los que se exponen y seguir las instrucciones sobre las prácticas de laboratorio.

Invernaderos

Se entenderá por “invernadero” una estructura con paredes, un techo, y un piso, diseñados principalmente para crecer plantas en un ambiente controlado y protegido. Las paredes y techo son generalmente construidas de material translúcido o transparente para permitir el paso de la luz necesaria para el crecimiento vegetal.

El término “invernadero y áreas asociadas” incluyen los cuartos o divisiones en dónde se crecen las plantas, sus corredores; cualquier cabecera o área dentro de la estructura se considera parte del área de confinamiento.

Características generales de un Invernadero Nivel 1

Éste tipo de invernaderos son de bajo nivel de contención, se recomienda para experimentos con OGM de plantas que no son capaces de sobrevivir y contaminar el ambiente que los rodea si se liberara accidentalmente. Es decir OGM que no ponen en riesgo el medio ambiente.

Por ejemplo, los diseños de experimentos de papas transgénicas a las que se les insertan genes de resistencia a algún insecto, siempre y cuando éstos genes hayan sido obtenidos de cultivares silvestres de papas. Aplica también a modificaciones genéticas de ADN con microorganismos que no se desparraman

fácilmente y que no se conocen efectos negativos en el medio ambiente (*Rhizobium* y *Agrobacterium*). Incluso se puede usar un invernadero nivel 1 para usar cepas transgénicas de *Rhizobium* que tiene genes que favorecen la colonización de la raíz.

Características generales de un Invernadero Nivel 2

Éste nivel se asigna cuando se utilizaran OGM de plantas que pudieran llegar a ser viables si se liberan al medio ambiente que rodea el invernadero, pero el impacto en el medio ambiente sería insignificante.

Por ejemplo en plantas que pudieran presentar alguna característica de maleza, derivado de algún gen insertado y que pudiera mezclarse con hierbas silvestres de sus alrededores. Tal es el caso del girasol al que se le insertó un gen de trigo para darle resistencia a un hongo, se considera nivel 2 de invernadero dado que el girasol puede crecer como maleza y cruzarse con hierbas silvestres. Aplica también para OGM que utilicen genomas de agentes infecciosos patógenos.

Se recomienda construcción de policarbonato celular traslúcido y estructura de aluminio, piso de concreto, doble puerta de cerrado automático, sin ventanas y con filtros para el aire de salida.

Características generales de un Invernadero Nivel 3

Los invernaderos nivel 3 previenen la liberación accidental de plantas transgénicas, plantas con genes de patógenos para los cuales no hay tratamiento o plantas que pudieran causar serios problemas ambientales. Se recomienda también para plantas con genes de agentes infecciosos exóticos o con genes de toxinas, genes de microorganismos patógenos de insectos o pequeños animales asociados a plantas.

El invernadero debe ser una estructura cerrada independiente con una cubierta continua que está separada de áreas abiertas al tráfico irrestricto. El requerimiento mínimo de entrada al invernadero, debe ser a través de una doble puerta de cerrado automático. El piso del invernadero debe ser de concreto u otro material impermeable, y se deben tener facilidades para colectar y tratar adecuadamente los efluentes con el propósito de inactivar polen y microorganismos. Las ventanas deben permanecer cerradas y selladas, y los paneles de vidrio deben ser resistentes a impactos (p. ej. Paneles de doble vidrio irrompible) y se debe considerar la posibilidad de mantener presión negativa (Figura 3).

Las paredes internas, techos y piso deberán ser impermeables a líquidos y sustancias químicas para facilitar la limpieza y desinfección del área. Todas las penetraciones en estas estructuras (p. ej. cableado o plomería) deberán ser sellados de manera apropiada.

Las superficies de las mesas y otras áreas de trabajo deberán ser lisas, impermeables, resistentes a ácidos, álcalis, solventes orgánicos y calor moderado.

El invernadero debe incluir un lavamanos operado con el pie o el codo, cercano a la puerta de salida, para el lavado de las manos.

El invernadero deberá contar con autoclave para la esterilización de los materiales. Se recomienda el uso de autoclave de doble puerta que pase a través del invernadero.

El invernadero debe contar con su propio sistema de ventilación. El sistema debe mantener una presión diferencial y dirección de flujo tal que asegure el flujo de aire del exterior del invernadero.

El aire de salida del invernadero deberá filtrarse para evitar la salida de polen o microorganismos, o de cualquier otra manera eficiente y adecuada, asegurarse que el polen y/o microorganismos se inactiven eficientemente.

Las condiciones de contención asociadas a un invernadero BL3-P pueden satisfacerse si se utiliza una cámara de crecimiento o cuarto de crecimiento dentro de una construcción, siempre y cuando el acceso, flujos de aire y medidas para la descontaminación estén acordes con los elementos previamente descritos.

En caso de utilizarse líneas de vacío, estas deberán estar equipadas con filtros apropiados y/o trampas líquidas desinfectantes, además el invernadero deberá estar rodeado de una cerca de seguridad o protegida mediante medidas de seguridad equivalentes.

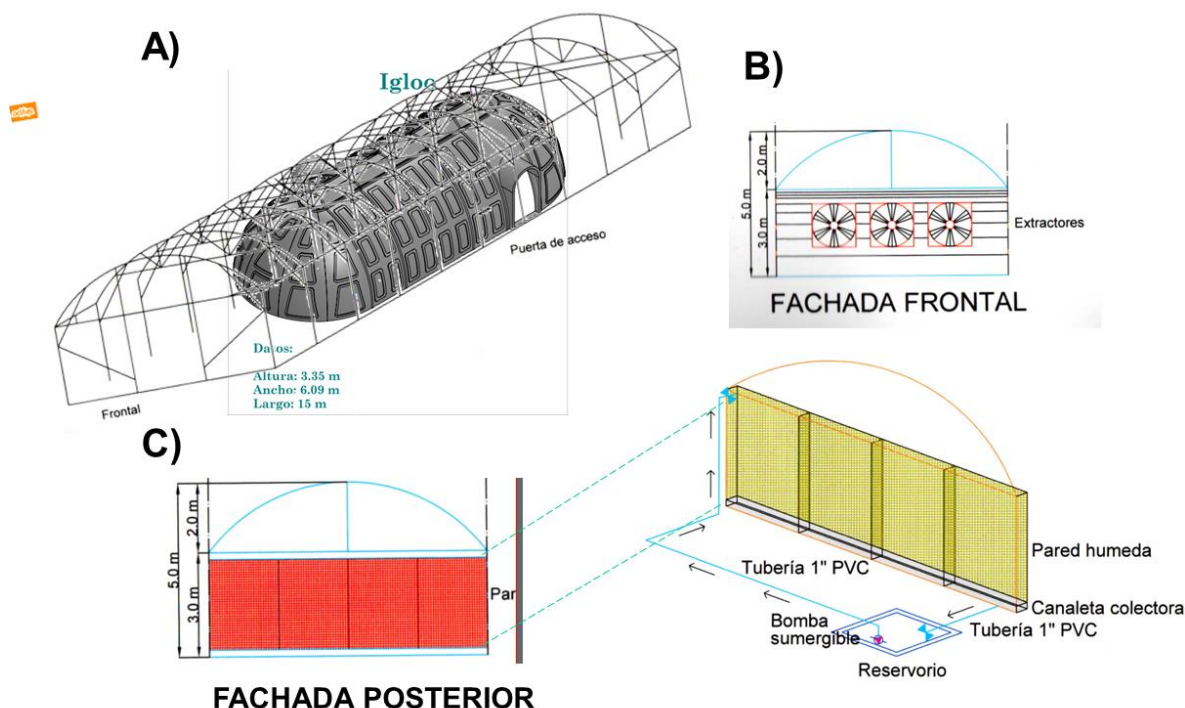


Figura 3. Invernadero tipo igloo nivel 3-anti huracanes en CIBNOR. A) Estructura metálica con cubierta de policarbonato, doble puerta para entrada, resguarda el igloo anti huracanes (resiste vientos de 450 km/h), translúcido. B) Sistema de extractores para disminuir las temperaturas del invernadero. C) Sistema de panel que provee de una pared húmeda con colector de agua que se incorpora al sistema general del igloo de purificación de agua por ozono.

REGLAS DE BIOSEGURIDAD, BUENAS PRÁCTICAS Y MECANISMOS PARA LA PREVENCIÓN DE LIBERACIONES ACCIDENTALES

- El laboratorio o invernadero deberá tener un letrero de que se trabaja con OGM, que indique además el nivel de seguridad de dicho laboratorio así como los cuidados básicos para el ingreso.
- Prohibido fumar y traer comida al laboratorio.
- No almacenar bebidas ni comestibles en el refrigerador.
- Usar bata de laboratorio mientras se trabaje y dejarla en laboratorio o invernadero al salir.
- Usar zapatos cerrados.
- Rotular los envases, recipientes o contenedores de OGM incluyendo fecha, iniciales del usuario y evento transgénico
- Almacenar los OGM en contenedores o equipos establecidos para éstos OGM y mantener bajo llave
- Seguir los cuidados establecidos para cada nivel de seguridad que requiera el laboratorio o invernadero en el que se trabaje
- Usar guantes, tapaboca y gorro en caso de trabajar en invernaderos en donde exista OGM de plantas en estado de floración y no sacar el equipo de protección de estas instalaciones.
- El transporte de OGM se realizará mediante envases/embalajes secundarios (cajas) resistente a golpes y caídas, de preferencia de cerrado de rosca. Éstos envases secundarios deben poderse esterilizar en autoclave.
- Si hay duda sobre el manejo o cuidado de un OGM, consulte con el comité de bioseguridad.
- Observar buenas normas de higiene y limpieza en el laboratorio.
- Mantener las puertas de congeladores, refrigeradores y laboratorio bajo llave si no están en uso.

- Todo equipo usado con OGM debe ser esterilizado y eliminado de manera adecuada
- Para evitar accidentes, cerrar las llaves de gas, aire comprimido y agua al salir, apagar luces y demás equipo eléctrico
- Todo trabajo “en proceso” debe rotularse como tal. Indicando claramente la fecha y nombre del usuario.
- Familiarizarse con los equipos de seguridad y primeros auxilios y asegurarse de que sabe usarlos.

La manipulación, almacenamiento, traslado de muestras de OGM en el laboratorio involucran riesgo de liberación o contaminación medioambiental o para el personal. Se recomienda mantener los OGM bacterianos en stock de glicerol guardados a -80°C o si serán de uso continuo en cajas Petri a 4°C cerradas con parafilm y bien etiquetadas, en el caso de OGM de microalgas se recomiendan tubos plásticos bien cerrados y en plantas de cultivo in vitro recipientes completamente sellados. Todos los OGM deben estar rotulados para facilitar su identificación y mantenerse bajo acceso restringido con seguimiento de uso mediante bitácoras (Figura 4).

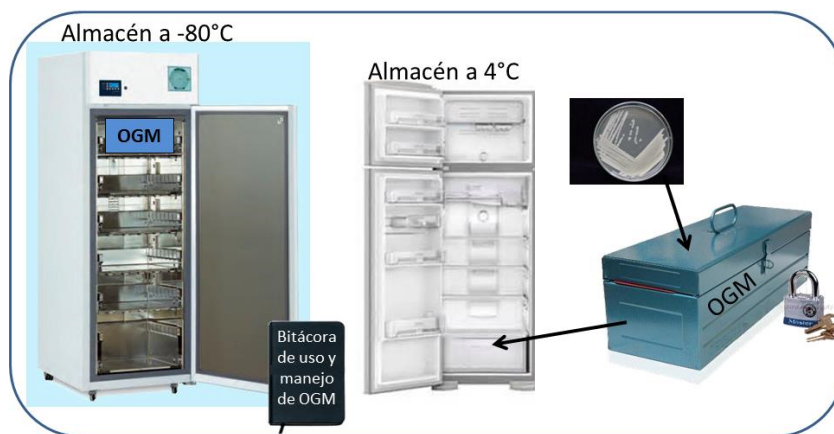


Figura 4. Almacenamiento de OGM a -80°C y 4°C

El traslado de muestras dentro de la instalación debe realizarse utilizando envases/embalajes secundarios (cajas) equipados con gradillas, de modo que los recipientes que contienen las muestras se mantengan en posición vertical. Los envases/embalajes secundarios pueden ser de metal o de plástico, con el fin de tratarlos en autoclave o ser resistentes a la acción de los desinfectantes químicos periódicamente.

MECANISMOS Y PROCEDIMIENTOS PARA GARANTIZAR LA SEGURIDAD DE LAS INSTALACIONES EN LAS QUE SE REALICEN LAS ACTIVIDADES DE UTILIZACIÓN CONFINADA.

En primera instancia se deben reconocer los distintos aspectos de la seguridad del laboratorio, se debe incluir a los especialistas de seguridad en la evaluación y aplicación de las recomendaciones de una instalación o una adecuación dentro del laboratorio que trabaja con OGM.

Se deben revisar las políticas de seguridad y procedimientos en forma regular, esto para asegurar que son apropiadas para las condiciones actuales del laboratorio que manipula o procesa OGM y que son coherentes con las políticas y procedimientos nacionales de bioseguridad de OGM.

La labor del supervisor de los laboratorios que manejan OGM es esencial, se debe asegurar que todos los empleados y visitantes comprendan los requisitos de seguridad y que estén capacitados y equipados para cumplir con los procedimientos establecidos.

Controlar el acceso en áreas donde se utilicen y almacenen los OGM, si se requiere a acceso a laboratorio deben existir bitácoras de control para el personal que ingresa, de preferencia las áreas de OGM deben estar separadas de los lugares de acceso público de las instalaciones. Así mismo deben registrarse

todas las entradas (visitas, empleados de mantenimiento, técnicos y otras personas que entren en forma ocasional), ya sea por medio de una tarjeta de ingreso (preferentemente) o firmando en el libro de registro.

Todos los OGM generados o importados deben ser de conocimiento del comité de seguridad para mantener el inventario y conocer si existen necesidades específicas para el manejo del nuevo OGM. Así mismo, debe hacerse del conocimiento del comité de bioseguridad el mecanismo de desecho y eliminación de los OGM.

Los congeladores y refrigeradores que contienen OGMs deben permanecer cerrados cuando no están bajo directa supervisión (es decir, cuando están ubicados en áreas de almacenamiento no controladas).

Estudiantes, científicos y otros empleados temporales deben portar una identificación visible. Esta identificación debe incluir, por lo menos, una fotografía, el nombre y una fecha de vencimiento. Puede resultar útil utilizar marcadores decolores o símbolos de diseño fácilmente identificables para indicar la autorización para áreas restringidas.

En caso de visitas debe entregarse una identificación y deben ser acompañados y supervisados, siguiendo los mismos procedimientos que se utilizan con los trabajadores regulares.

MECANISMOS Y PROCEDIMIENTOS QUE GARANTIZAN LA INTEGRIDAD FÍSICA Y BIOLÓGICA DEL PERSONAL EXPUESTO Y DE LAS PERSONAS QUE REALICEN LA UTILIZACIÓN CONFINADA DE LOS OGM.

La capacitación del personal es básica en la reducción del riesgo, la desinformación en la realización de técnicas microbiológicas y procedimientos incorrectos pueden poner en peligro las medidas destinadas a proteger al personal de laboratorio. Por ello, el elemento clave para prevenir las infecciones adquiridas, los incidentes y los accidentes en el laboratorio es la actitud responsable del Personal preocupado por la bioseguridad y bien informado sobre las medidas y prácticas prudentes evitan o reducen al mínimo los accidentes para desempeñar el trabajo en un ambiente laboral seguro. En consecuencia, la formación continua en el servicio acerca de las medidas de seguridad es primordial.

El proceso empieza con la capacitación básica en las buenas prácticas de laboratorio, técnicas correctas y el entrenamiento en el uso de equipo de protección personal (EPP), la utilización apropiada del equipo especial de confinamiento, desinfección, descontaminación y pasos a seguir en caso de incidentes o accidentes entre otros aspectos.

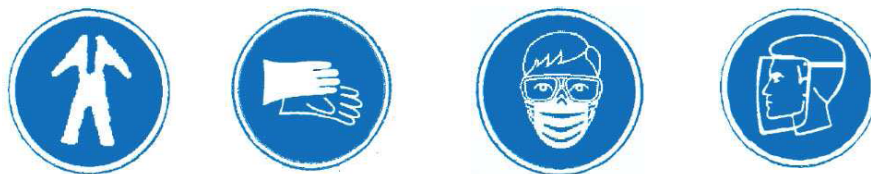
La capacitación del personal debe comprender siempre la enseñanza de métodos seguros para utilizar procedimientos peligrosos que habitualmente afectan a todo el personal de laboratorio y que conllevan a los siguientes riesgos:

- Riesgo de inhalación (es decir, formación de aerosoles): uso de asas, siembra de placas de agar, pipeteo, preparación de frotis, apertura de recipientes de cultivo, toma de muestras de sangre/suero, centrifugación, entre otros.
- Riesgo de ingestión al manipular muestras, frotis y cultivos.
- Riesgo de inoculación cutánea al emplear jeringuillas y agujas.
- Riesgo de mordeduras y arañazos en la manipulación de animales.

Seguridad para el Personal que presta servicios de apoyo

El Personal auxiliar, mecánicos y personal de mantenimiento del edificio debe estar enterado y capacitado en relación a las normas y los procedimientos en materia de seguridad de las instalaciones del local; este personal, dedicado al mantenimiento y reparación de la estructura, las instalaciones y el equipo, debe tener conocimiento sobre el tipo de trabajo que se realiza en el laboratorio. Las pruebas a las que hay que someter algunos equipos o instalaciones después de la reparación, las verificaciones del funcionamiento deben ser realizadas bajo la supervisión del Personal Encargado de la bioseguridad del área.

Equipo de protección personal



La vestimenta y el equipo de protección personal pueden actuar como barrera para reducir al mínimo el riesgo de exposición a aerosoles, salpicaduras e inoculación accidental. Las batas de laboratorio son aceptables para trabajar en los niveles de bioseguridad 1y 2. Los guantes deben estirarse bien por encima de las mangas de la bata, en lugar de meterlos por debajo. Pueden usarse mangas con elástico para proteger las muñecas del investigador. De preferencia, las batas de laboratorio irán abotonadas hasta arriba. Sin embargo, las batas de manga larga y abertura trasera y los monos protegen mejor que las batas de abertura frontal y son preferibles en los laboratorios de microbiología y cuando se trabaja en una cabina de seguridad biológica (CSB). Los delantales pueden llevarse por encima de las batas cuando se necesite mayor protección contra el derrame de

sustancias químicas o material biológico como sangre o líquidos de cultivo. Para algunos procedimientos pueden hacer falta mascarillas y gafas de seguridad.

Los guantes evitan que las manos puedan contaminarse cuando se trabaja en el laboratorio. Las manos son vulnerables a las heridas producidas por objetos punzantes o cortantes. Los guantes desechables de látex, vinilo o nitrilo de tipo quirúrgico aprobados para uso microbiológico son los más extendidos para el trabajo general de laboratorio y para manipular agentes infecciosos, así como sangre y otros líquidos corporales. También pueden usarse guantes reutilizables, pero hay que lavarlos, retirarlos, limpiarlos y desinfectarlos correctamente. Los guantes desechables usados deben eliminarse junto con los residuos de laboratorio infectados.

Se han notificado casos de reacciones alérgicas como dermatitis e hipersensibilidad inmediata después de usar guantes de látex, particularmente los que llevan polvo. Deberá disponerse en el laboratorio de alternativas a ese tipo de guantes. Los guantes de malla de acero inoxidable se llevarán cuando haya posibilidad de exposición a instrumentos cortantes o punzantes (por ejemplo, durante una autopsia). No obstante, esos guantes protegen contra los cortes pero no contra las punciones.

Los guantes al igual que la bata y otras prendas protectoras tendrán que quitarse antes de abandonar el laboratorio (Las batas, monos y delantales no deben usarse fuera de las zonas del laboratorio) y lavarse las manos con rigurosa sensatez.

Incorporar al plan de emergencia institucional, el plan de emergencia para OGM, se debe conducir una evaluación de cada laboratorio mediante el personal de la planta con ayuda de otros especialistas, si es necesario, para identificar los problemas de seguridad antes de confeccionar el plan de emergencia. La policía, bomberos y otros servicios de emergencia deben estar informados acerca de los

tipos de OGM y consecuencias del contacto con dichos organismos y deben ser asistidos para planificar las respuestas de emergencia en áreas de laboratorio.

En caso de liberación accidental, se deberá dar el aviso correspondiente ante SAGARPA y SEMARNAT, para ello se llenaran los formatos de aviso de liberación accidental de OGM disponibles en las páginas de SAGARPA y SEMARNAT.

MEDIDAS DE PREVENCIÓN AL HABER AVISO DE HURACÁN

El protocolo y medidas de bioseguridad pre-huracán para la contención de material genéticamente modificado es el siguiente:

Caso de bacterias y levaduras: Almacenar cepas bacterianas y levaduras en stock de glicerol, mantener a -80°C, colocar números de teléfono visibles de los responsables de las cepas y esterilizar todo caldo de cultivo o placa que contiene OGMs.

Caso de microalgas: Colocar las cepas de microalgas transformadas en placa-agar y colocarlas dentro de contenedores de plástico esterilizables con tapa de rosca en cuarto de cultivo o cámara de crecimiento que se encuentre conectada a planta de emergencia. Colocar los números de teléfono visibles de los responsables de las cepas y esterilizar todo el material innecesario que contiene OGMs.

Caso de plantas: Se recomienda no dejar plantas en invernaderos vulnerables a huracanes, en los casos que sea posible, recuperar semillas y almacenar adecuadamente. El material del que no se pueda recuperar semilla, pasar a cultivo *in vitro* e incinerar el material restante. Colocar números de teléfono visibles de los responsables de los cultivos.

PROTOCOLO EN CASO DE LIBERACIÓN ACCIDENTAL

En caso de bacterias o microalgas

- Delimitar inmediatamente el área contaminada y restringir el contacto con el área
- Avisar a alguno de los miembros del comité de Bioseguridad (celulares 612 176 98 68, 612 140 22 13) o responsable de su laboratorio.
- Proporcionar información clara del microorganismo liberado accidentalmente
- Si es posible recolectar todo el material contaminado y meter a esterilización en autoclave
- Si la liberación tuvo contacto con el suelo, clorar el área afectada, recoger residuos y esterilizar

Levantar un acta en conjunto con la Comisión de Bioseguridad

En caso de plantas

- Delimitar inmediatamente la zona contaminada y colocar barreras físicas en el área, por ejemplo cubrir con una bolsa de plástico o algún material que pueda esterilizarse posteriormente.
- Avisar a alguno de los miembros del comité de Bioseguridad (celulares 612 176 98 68, 612 140 22 13) o responsable de su laboratorio.
- Proporcionar información clara del tipo de construcción que contiene la planta liberada accidentalmente
- Si es posible recolectar todo el material contaminado y meter a esterilización en autoclave
- Si la liberación tuvo contacto con el suelo, clorar el área afectada, recoger residuos y esterilizar

- Si en la liberación hubo contacto con otras plantas clorar y esterilizar, analizar la posibilidad de liberación de polen contaminante que pudiera afectar especies nativas circulantes y determinar la posibilidad de cruce mediante estudio bibliográfico-filogenético de las especies afectadas.
- Levantar un acta en conjunto con la Comisión de Bioseguridad

MECANISMO DE VIGILANCIA DEL CUMPLIMIENTO DE LAS REGLAS Y DE LAS BUENAS PRÁCTICAS DE TRABAJO CON OGM.

La vigilancia y el cumplimiento de las reglas y buenas prácticas en el trabajo con OGM, se realizará con el apoyo de investigadores titulares y técnicos responsables de los Laboratorios donde se generan o almacenan OGMs en coordinación con el comité de Bioseguridad del CIBNOR. Dicho comité tiene entre sus funciones:

- Realizar auditorías internas periódicas en materia de bioseguridad, en particular de los métodos de contención, procedimientos y protocolos técnicos, el material y el equipo.
- Examinar las infracciones de los protocolos o los procedimientos de bioseguridad con las personas apropiadas.
- Verificar que todo el personal ha recibido la capacitación apropiada en materia de bioseguridad.
- Impartir formación continua en materia de bioseguridad.
- Informar sobre la forma segura de realizar una descontaminación tras un derrame u otros incidentes con materiales infecciosos.
- Garantizar la correcta manipulación y eliminación de los desechos.

El comité de Bioseguridad del CIBNOR, está formado por un presidente, un secretario y dos vocales cuyas funciones son:

Presidente del Comité de Bioseguridad

- Comprometerse a las labores de presidente por un periodo de 2 años.
- Establecer en conjunto con el pleno, el listado final de OGM existentes en CIBNOR y que se presentarán ante SAGARPA y SEMARNAT mediante el formato único de aviso.
- Establecer medidas de Bio-seguridad para la contención, construcción y trabajo con OGM
- Organizar reuniones de trabajo mensuales para tratar puntos específicos.
- Recabar y/o elaborar los documentos relativos a los casos que deban ser sometidos a la decisión de la Comisión, así como los que puedan requerirse.
- Vigilar y hacer cumplir, en la esfera de su competencia, los acuerdos de la Comisión.
- Llevar a cabo todas aquellas funciones que sean afines con las ya señaladas para permitir el adecuado desarrollo de las sesiones y los temas que en ella se discutan

Secretario del Comité de Bioseguridad

- Comprometerse a tomar el lugar del presidente al término del periodo de éste.
- Presidir las reuniones en ausencia del presidente.
- Asistir a las sesiones ordinarias y extraordinarias de la Comisión.
- Coordinar la elaboración de minutas y la documentación que las sustente con la información resumida que se dictamine en cada sesión, mismas que deberá firmar.
- Registrar la lista de asistencia de los miembros de la Comisión en cada sesión.

- Recabar las firmas de la minuta de la sesión previa.
- Levantar la minuta correspondiente a cada sesión de la Comisión.
- Resguardar el archivo de la documentación y vigilar que se mantenga completo y actualizado, conservándolo por el tiempo establecido.
- Emitir su opinión y, en su caso, el voto para cada uno de los asuntos que deban decidirse.
- Notificar los acuerdos que se tomen en el pleno y los compromisos que hubiese contraído cuya ejecución sea de su competencia.
- En general, desempeñar las demás funciones que le sean afines a las ya señaladas además de las que expresamente le sean encomendadas por el Presidente o las que le asigne la Comisión en pleno.

Vocales del Comité de Bioseguridad

- Analizar la agenda de trabajo y los demás documentos que se remitan en relación con los distintos asuntos que se tratarán en las sesiones de la Comisión.
- Asistir a las sesiones ordinarias y extraordinarias.
- Emitir su opinión y, en su caso, el voto para cada uno de los asuntos que deban decidirse.
- Firmar las minutas y la documentación de los asuntos dictaminados en las reuniones a las que hubiese asistido.
- Coadyuvar con el Secretario del Comité de Bioseguridad en la esfera de su competencia para el cumplimiento de los acuerdos.

REFERENCIAS

1. Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, publicado en el Diario Oficial de la Federación, México D. F., 3 de febrero de 1983 (<http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/compi/rlgsmis.html>)
2. Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados, (<http://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/LBOGM.pdf>)
3. Manual de Bioseguridad de la Universidad Nacional Autónoma de México, http://www.biomedicas.unam.mx/administracion/unidades_apoyo_inst/manual_bioseguridad.pdf
4. Procedimientos de Bioseguridad de instituciones internacionales, Organización Mundial de la Salud (<http://www.who.int/es/>), Instituto Nacional de Salud de E. U. (NIH) (<http://www.nih.gov/>)
5. A practical guide to containment, disponible en: <http://www.isb.vt.edu/>
6. Manual de seguridad microbiológica: <http://www0.unsl.edu.ar/~fqbf/cicua/Archivos/Manual-Bioseguridad-Lab-Microbiologia.pdf>