



Código: IEQ_9.1.1 FZYE 15	Página 1 de 91
Fecha de Emisión: 08/06/2011	Fecha de Revisión: 26/01/2016
	Nº de Revisión: 04
Elaboró:	COORDINADOR DE LABORATORIO
Aprobó:	SECRETARIA ADMINISTRATIVA

Manual De Bioseguridad En El Laboratorio 2013

**Coordinación de Laboratorios
Secretaría de Investigación y Posgrado
Facultad de Zootecnia y Ecología
Universidad Autónoma de Chihuahua**



DIRECTORIO INSTITUCIONAL

M.C. JESÚS ENRIQUE SEÁÑEZ SÁENZ
Rector

DR. JESÚS VILLALOBOS JIÓN
Secretario General

M.C. JAVIER MARTÍNEZ NEVÁREZ
Director Académico

Ph.D. ALMA DELIA ALARCON ROJO
Director de Investigación y Posgrado

MTRO. JESÚS ENRIQUE PALLARES RONQUILLO
Director de Extensión y Difusión Cultural

M.A.R.H. NORMA CECILIA GONZÁLEZ MARTÍNEZ
Director Administrativo

DR. ROSENDO MARIO MALDONADO ESTRADA
Director de Planeación y Desarrollo Institucional

DIRECTORIO DE LA FACULTAD

M.A. LUIS RAÚL ESCARCÉGA PRECIADO
Director

M.C. ANTONIO HUMBERTO CHÁVEZ SILVA
Secretario de Investigación y Posgrado

M.C. RICARDO ABEL SOTO CRUZ
Secretario Académico

D.P.h. EUGENIO CÉSAR QUINTANA MARTÍNEZ
Secretario de Extensión y Difusión

M.C. JOSÉ ROBERTO ESPINOZA PRIETO
Secretario Administrativo

M.A.P. DIANA GONZÁLEZ LÓPEZ
Secretario de Planeación



CONTENIDO

	Página
LISTA DE CUADROS.....	4
LISTA DE FIGURAS.....	5
INTRODUCCIÓN.....	6
OBJETIVO.....	7
CAPITULO I. Clasificación de Laboratorios.....	8
CAPITULO II. Laboratorios Básicos. Niveles de Bioseguridad I y II.....	14
CAPITULO III. Laboratorios de Contención. Niveles de Bioseguridad III..	25
CAPITULO IV. Equipo de Bioseguridad en el Laboratorio.....	28
CAPITULO V. Técnicas de Microbiología Apropriadas (TMA).....	38
CAPITULO VI. Procedimientos de Emergencia.....	49
CAPITULO VII. Desinfección y Esterilización.....	54
CAPITULO VIII. Bioseguridad en la Tecnología del ADN Recombinante..	68
CAPITULO IX. Sustancias Químicas Peligrosas.....	74
CAPITULO X. Otros Peligros en el Laboratorio.....	81
Anexos.....	84
BIBLIOGRAFÍA.....	90



LISTA DE CUADROS

CUADRO		Página
1	Clasificación de los microorganismos infecciosos por grupos de riesgo.....	8
2	Relación de los grupos de riesgo con los niveles de bioseguridad, las prácticas y el equipo.....	9
3	Clasificación de los Laboratorios de la Facultad de Zootecnia y Ecología, UACH.....	10
4	Clasificación de Residuos Biológico-Infeccioso.....	15
5	Equipo de Bioseguridad.....	27
6	Selección de una cámara de seguridad biológica (CSB) según el tipo de protección necesaria.....	30
7	Diluciones recomendadas de compuestos que liberan cloro.....	53
A 1	Material y operaciones que pueden involucrar riesgos.....	79
A 2	Causas comunes de accidentes relacionados con el material.....	82



LISTA DE FIGURAS

CUADRO		Página
1	Señal de advertencia de peligro biológico para las puertas del laboratorio	13

INTRODUCCIÓN

El pilar de la práctica de la bioseguridad es la evaluación del riesgo. Aunque existen muchas herramientas para ayudar a evaluar el riesgo que comporta un procedimiento o un experimento determinado, el componente más importante es el juicio profesional. Las evaluaciones del riesgo deben ser efectuadas por las personas que mejor conozcan las características peculiares de los organismos con los que se va a trabajar, el equipo y los procedimientos que van a emplearse, los modelos animales que pueden utilizarse y el equipo y los medios de contención disponibles. El director o investigador principal del laboratorio es el responsable de asegurar que se realicen de modo oportuno las evaluaciones del riesgo más apropiadas y de colaborar estrechamente con el comité de seguridad y el personal de bioseguridad de la institución con el fin de velar por que se disponga del equipo y los medios apropiados para el trabajo que está previsto llevar a cabo. Una vez terminadas, las evaluaciones del riesgo deben ser consultadas periódicamente y revisadas cada vez que sea preciso, teniendo en cuenta la obtención de nuevos datos que tengan alguna influencia en el grado de riesgo y toda nueva información pertinente que aparezca en las publicaciones científicas. La bioseguridad es una forma de pensar y un mandato personal, aun así las reglas y guías que han sido establecidas por las agencias reguladoras de gobierno no pueden substituir el buen juicio y la actitud de quien está en contacto con materiales peligrosos. El fundamento de un ambiente seguro se encuentra en la forma en que cada individuo hace su trabajo de manera que sea segura para sí mismo y sus compañeros. El uso del sentido común, buen juicio y una actitud madura y responsable son atributos personales, que en cualquier actividad humana, ayudan a resolver muchos problemas de seguridad. Por lo tanto el adecuado manejo de los residuos biológico-infecciosos, y de sustancias químicas peligrosas, constituyen un gran problema en las instituciones de enseñanza e investigación, por lo que es necesario contar con un manual de seguridad e higiene dirigido a la prevención de accidentes. En base a esto, se ha diseñado el presente



manual, el cual es una guía de protocolos a seguir por los usuarios de los laboratorios de la Facultad de Zootecnia y Ecología de la Universidad Autónoma de Chihuahua.

OBJETIVO

Establecer los protocolos de seguridad e higiene, relacionados con el uso, manejo, almacenamiento y tratamiento de sustancias químicas peligrosas y residuos peligrosos biológico-infecciosos, acordes con las leyes y reglamentos vigentes, los cuales deberán ser cumplidos a través del Reglamento General, con el fin de prevenir accidentes y preservar la salud del personal y usuarios que laboran en los Laboratorios de la Facultad de Zootecnia y Ecología de la Universidad Autónoma de Chihuahua.



CAPITULO I. CLASIFICACIÓN DE LABORATORIOS

CLASIFICACIÓN DE LOS LABORTAORIOS

Las designaciones del nivel de bioseguridad se basan en una combinación de las características de diseño, construcción, medios de contención, equipo, prácticas y procedimientos de operación necesarios para trabajar con agentes patógenos de los distintos grupos de riesgo (Cuadro 1). De acuerdo a lo establecido por la OMS, los laboratorios se clasifican como sigue: laboratorio básico – nivel de bioseguridad 1; laboratorio básico – nivel de bioseguridad 2; laboratorio de contención – nivel de bioseguridad 3, y laboratorio de contención máxima – nivel de bioseguridad 4 (Cuadro 2).

LABORATORIOS EN LA FACULTAD DE ZOOTECNIA Y ECOLOGIA, UACH

La Facultad de Zootecnia y Ecología, UACH., cuenta con 10 laboratorios de enseñanza e investigación, en los cuales se realizan prácticas de enseñanza y proyectos de investigación que fortalcen los programas de licenciatura y posgrado. En base a la clasificación antes mencionada, los laboratorios quedan englobados en los niveles I, II y III (Cuadro 3)

Cuadro 1. Clasificación de los microorganismos infecciosos por grupos de riesgo

Grupo de Riesgo 1 Riesgo individual y poblacional escado o nulo	Microorganismos que tienen pocas probabilidades de provocar enfermedades en el ser humano o los animales
Grupo de riesgo 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
Grupo de Riesgo 3 riesgo individual elevado, riesgo poblacional bajo	Agentes patógenos que suelen provocar enfermedades humanas o animales graves, pero que de ordinario no se propagan de un individuo a otro. Existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces
Grupo de Riesgo 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



Cuadro 2. Relación de los grupos de riesgo con los niveles de bioseguridad, las prácticas y el equipo

GRUPO DE RIESGO	NIVEL DE BIOSEGURIDAD	TIPO DE LABORATORIO	TRABAJO DE LABORATORIO	EQUIPO DE SEGURIDAD
1	Básico Nivel 1	Enseñanza básica, investigación	TMA	Ninguno; trabajo en mesa de laboratorio al descubierto
2	Básico Nivel 2	Diagnóstico, investigación	TMA y ropa protectora, señal de riesgo biológico	Trabajo en mesa al descubierto y campanas de extracción y flujo laminar
3	Contención Nivel 3	Diagnóstico especial, investigación	Prácticas de nivel 2 más ropa de protección especial, acceso controlado y flujo direccional del aire	Campana de Seguridad Biológica clase II (CSB-II) y campana de extracción
4	Contención máxima Nivel 4	Unidades de patógenos peligrosos	Prácticas de nivel 3 más cámara de entrada con cierre hermético, salida con ducha y eliminación especial de residuos	CSB-III, campana de extracción y aire filtrado

TMA. Técnicas Microbiológicas apropiadas (ver capítulo)



Cuadro 3. CLASIFICACIÓN DE LOS LABORATORIOS DE LA FACULTAD DE ZOOTECNIA Y ECOLOGÍA, UACH

NIVEL DE BIOSEGURIDAD	LABORATORIO	TRABAJO DEL LABORATORIO	GRUPO DE RIESGO
NIVEL I			
	Anatomía y Fisiología	TMA en prácticas de enseñanza a nivel licenciatura	1 y 2
	Ecología Sistemática	TMA en prácticas de enseñanza a nivel licenciatura	1
	Parámetros Ambientales	TMA en prácticas de enseñanza a nivel licenciatura	1
	Procesado para la Alimentación Ruminal	TMA en Investigación	1
NIVEL II			
	Bioquímica	TMA en: Investigación y Prácticas de enseñanza a nivel posgrado	2
	Fertilización In Vitro	TMA en: Investigación y Practicas de enseñanza a nivel licenciatura y posgrado	2
	Microbiología	TMA en: Investigación y Practicas de enseñanza a nivel licenciatura y posgrado	2 y 3
	Procesamiento de Semen y Transferencia de embriones	TMA en: Investigación y Practicas de enseñanza a nivel licenciatura y posgrado	2
	Nutrición Animal	TMA en: Investigación y Practicas de enseñanza a nivel licenciatura y posgrado	2



NIVEL III

Biología Molecular y TMA en Investigación
Transgénesis Animal

3



CAPITULO II. LABORATORIOS BÁSICOS. NIVELES DE BIOSEGURIDAD I Y II



ACCESO

1. El símbolo y signo internacional de peligro biológico (figura 1) deberá colocarse en las puertas de los locales donde se manipulen microorganismos del grupo de riesgo 2 o superior.
2. Sólo podrá entrar en las zonas de trabajo del laboratorio el personal autorizado.
3. Las puertas del laboratorio se mantendrán cerradas.
4. No se autorizará ni permitirá la entrada de niños en las zonas de trabajo del laboratorio.
5. Las autorizaciones de entrada deberán solicitarse al responsable del laboratorio.
6. No se permitirá el acceso al laboratorio de animales que no sean objeto del trabajo del laboratorio.

PROTECCIÓN PERSONAL

1. Se usarán en todo momento, batas o uniformes especiales para el trabajo en el laboratorio.
2. Se usarán guantes protectores apropiados para todos los procedimientos que puedan entrañar contacto directo o accidental con sangre, líquidos corporales y otros materiales potencialmente infecciosos o animales infectados. Una vez utilizados, los guantes se retirarán de forma aséptica y a continuación se lavarán las manos.
3. El personal deberá lavarse las manos después de manipular materiales y animales infecciosos, así como antes de abandonar las zonas de trabajo del laboratorio.
4. Se usarán gafas de seguridad, viseras u otros dispositivos de protección cuando sea necesario proteger los ojos y el rostro de salpicaduras, impactos y fuentes de radiación ultravioleta artificial.
5. Estará prohibido usar las prendas protectoras fuera del laboratorio, por ejemplo en cantinas, cafeterías, oficinas, bibliotecas, salas para el personal y baños.
6. No se usará calzado sin puntera.
7. En las zonas de trabajo estará prohibido comer, beber, fumar, aplicar cosméticos o manipular lentes de contacto.
8. Estará prohibido almacenar alimentos o bebidas para consumo humano en las zonas de trabajo del laboratorio.

9. La ropa protectora de laboratorio no se guardará en los mismos armarios que la ropa de calle.

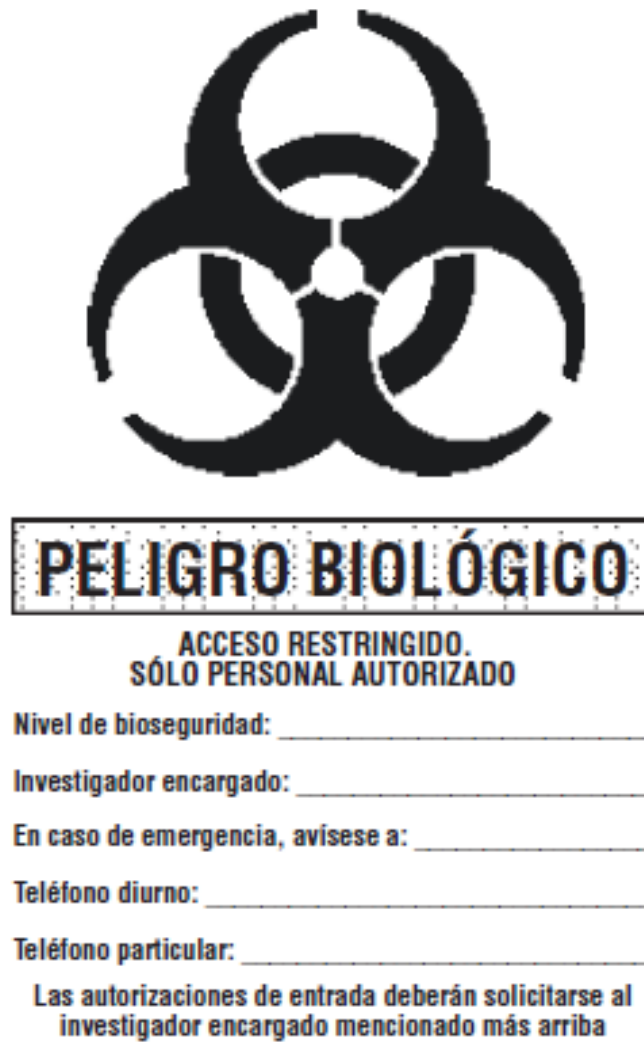


Figura 1. Señal de advertencia de peligro biológico para las puertas del laboratorio

RESIDUO BIOLÓGICO-INFECCIOSO

Un residuo peligroso biológico-infeccioso es aquel que contiene bacterias, virus u otros microorganismos con capacidad de causar infección o que contiene o puede contener toxinas producidas por microorganismos que causan efectos nocivos a seres vivos y al ambiente, que se generan en establecimientos de atención médica o en centros de investigación.

CLASIFICACION:

Se deberán separar y envasar todos los residuos peligrosos biológico-infecciosos generados en establecimientos de atención médica, de acuerdo con sus características físicas y biológico-infecciosas, conforme al cuadro 4. Se consideran residuos peligrosos biológico-infecciosos los siguientes:

1. La sangre.

1.1 Los productos derivados de la sangre incluyendo, plasma, suero y paquete globular.

1.2 Los materiales con sangre o sus derivados, aun cuando se hayan secado, así como los recipientes que los contienen o contuvieron.

2. Los cultivos y cepas almacenadas de agentes infecciosos.

2.1 Los cultivos generados en los procedimientos de diagnóstico e investigación, así como los generados en la producción de agentes biológicos.

2.2 Los instrumentos y aparatos para transferir, inocular y mezclar cultivos.

3. Los patológicos.

3.1 Los tejidos, órganos, partes y fluidos corporales que se remueven durante las necropsias, la cirugía o algún otro tipo de intervención quirúrgica.

3.2 Las muestras biológicas para análisis químico, microbiológico, citológico o histológico.

- 3.3 Los cadáveres de pequeñas especies animales provenientes de clínicas veterinarias, centros antirrábicos o los utilizados en los centros de investigación.
4. Los residuos no anatómicos derivados de la atención a pacientes y de los laboratorios.
- 4.1 El equipo, material y objetos utilizados durante la atención a humanos o animales.
- 4.2 Los equipos y dispositivos desechables utilizados para la exploración y toma de muestras biológicas.
5. Los objetos punzocortantes usados o sin usar.

Cuadro 4. Clasificación de Residuos Biológico-Infecioso

TIPO DE RESIDUOS	ESTADO FISICO	ENVASADO	COLOR
✓ Sangre	Sólidos	Bolsa de plástico	Rojo
✓ Cultivos y cepas de agentes infecciosos	Sólidos	Bolsa de plástico	Rojo
✓ Patológicos	Sólidos	Bolsa de plástico	Amarillo
	Líquidos	Recipientes herméticos	Amarillo
✓ Objetos punzocortantes usados y sin usar	Sólidos	Recipientes rígidos	Rojo

5.1 Los que han estado en contacto con humanos o animales o sus muestras biológicas durante el diagnóstico y tratamiento, incluyendo navajas, lancetas, jeringas, pipetas Pasteur, agujas hipodérmicas, bisturíes, cajas de Petri, cristalería entera o rota, porta y cubre objetos, tubos de ensayo y similares

PROCEDIMIENTOS

1. Estará estrictamente prohibido pipetear con la boca.
2. No se colocará ningún material en la boca ni se pasará la lengua por las etiquetas.
3. Todos los procedimientos técnicos se practicarán de manera que se reduzca al mínimo la formación de aerosoles y gotículas.
4. Se limitará el uso de jeringas y agujas hipodérmicas, que no se utilizarán en lugar de dispositivos de pipeteo ni con ningún fin distinto de las inyecciones por vía parenteral o la aspiración de líquidos de los animales de laboratorio.
5. Todos los derrames, accidentes y exposiciones reales o potenciales a materiales infecciosos se comunicarán al responsable del laboratorio. Se mantendrá un registro escrito de esos accidentes e incidentes.
6. Se elaborará y seguirá un procedimiento escrito para la limpieza de todos los derrames.
7. Los líquidos contaminados deberán descontaminarse (por medios químicos o físicos) antes de eliminarlos por el colector de saneamiento.

ZONAS DE TRABAJO DEL LABORATORIO

1. El laboratorio se mantendrá ordenado, limpio y libre de materiales no relacionados con el trabajo.
2. Las superficies de trabajo se descontaminarán después de todo derrame de material potencialmente peligroso y al final de cada jornada de trabajo.
3. Todos los materiales, muestras y cultivos contaminados deberán ser descontaminados antes de eliminarlos o de limpiarlos para volverlos a utilizar.
4. El embalaje y el transporte de material deberán seguir la reglamentación nacional o internacional aplicable.



5. Las ventanas que puedan abrirse estarán equipadas con rejillas que impidan el paso de artrópodos.

GESTIÓN DE LA BIOSEGURIDAD

1. Incumbirá a la Coordinación de Laboratorios de la Facultad garantizar la elaboración y la adopción de un plan de gestión de la bioseguridad y de un manual de seguridad o de operación.
2. La Coordinación de Laboratorios velará por que se proporcione capacitación periódica en materia de seguridad en el laboratorio.
3. Los Responsables de cada Laboratorio informarán al personal de los riesgos especiales y se le exigirá que lea el manual de seguridad e higiene y siga las prácticas y los procedimientos normalizados. Así mismo, se asegurará de que todo el personal los comprenda debidamente. En el laboratorio estará disponible una copia del manual de seguridad e higiene.
4. Habrá un programa de lucha contra los artrópodos y los roedores.
5. Se ofrecerá a todo el personal en caso de necesidad un servicio apropiado de evaluación, vigilancia y tratamiento médico, y se mantendrán los debidos registros

MATERIAL DE BIOSEGURIDAD INDISPENSABLE

1. Dispositivos de pipeteo para evitar que se pipetee con la boca..
2. CSB, que se utilizarán en los siguientes casos:
 - Siempre que se manipule material infeccioso; ese material puede ser centrifugado en el laboratorio ordinario si se utilizan vasos de centrifugadora con tapas herméticas de seguridad y si éstos se cargan y descargan en una CSB;
 - Cuando haya un alto riesgo de infección transmitida por vía aérea.
 - Cuando se utilicen procedimientos con grandes posibilidades de producir aerosoles, como la centrifugación, trituración, homogeneización, agitación o mezcla vigorosa, desintegración ultrasónica, apertura de envases de materiales infecciosos cuya presión interna pueda diferir de la presión ambiental, inoculación intranasal a animales y recolección de tejidos infecciosos de animales y huevos.
3. Asas de siembra de acero inoxidable, vidrio o plástico desechables.



4. Frascos y tubos con tapón de rosca.
5. Autoclaves u otros medios apropiados para esterilizar el material contaminado.
6. Pipetas de Pasteur de plástico desechables, cuando estén disponibles, en sustitución del vidrio.
7. Los aparatos como las autoclaves y las CSB deben ser validados con métodos apropiados antes de usarlos. A intervalos periódicos deben ser nuevamente certificados, de acuerdo con las instrucciones del fabricante

NORMAS PARA LA VIGILANCIA DE LOS TRABAJADORES QUE MANIPULAN MICROORGANISMOS EN EL NIVEL DE BIOSEGURIDAD I

La experiencia indica que estos microorganismos tienen pocas probabilidades de provocar enfermedades humanas o enfermedades animales de importancia veterinaria. No obstante, lo ideal es someter a todo el personal a un reconocimiento médico previo a la contratación en el que se anoten los antecedentes médicos de cada persona. Conviene que se notifiquen rápidamente las enfermedades o accidentes de laboratorio y que todos los miembros del personal comprendan la importancia de aplicar técnicas microbiológicas apropiadas.

NORMAS PARA LA VIGILANCIA DE LOS TRABAJADORES QUE MANIPULAN MICROORGANISMOS EN EL NIVEL DE BIOSEGURIDAD II

1. El reconocimiento médico previo al empleo o a la asignación de un puesto es indispensable. Debe registrarse el historial médico de la persona y realizar una evaluación de la salud ocupacional para los fines del laboratorio.
2. El Responsable del Laboratorio debe mantener un registro de enfermedades y bajas laborales.
3. Las mujeres en edad fecunda deberán ser informadas de los riesgos que supone para el feto la exposición profesional a ciertos microorganismos, como el virus de la rubéola. Las medidas concretas que se adopten para proteger al feto dependerán de los microorganismos a los que pueda estar expuesta la mujer.

CAPACITACIÓN

Los errores humanos y las técnicas incorrectas pueden poner en peligro incluso las mejores medidas destinadas a proteger al personal de laboratorio. Por esta razón, el elemento clave para prevenir las infecciones adquiridas, los incidentes y los accidentes en el laboratorio es un personal preocupado por la seguridad y bien informado sobre la manera de reconocer y combatir los peligros que entraña su trabajo en ese entorno. En consecuencia, la formación continua en el servicio acerca de las medidas de seguridad es primordial. El proceso empieza por el personal directivo, que debe velar porque los procedimientos y prácticas de seguridad en el laboratorio formen parte de la capacitación básica de los empleados. La formación en medidas de seguridad siempre debe estar integrada en la capacitación inicial de los nuevos empleados. Deben ponerse a disposición del personal el código de prácticas y las directrices locales, incluido el manual de seguridad o de operaciones. Se adoptarán medidas para garantizar que los empleados hayan leído y comprendido las directrices, como pueden ser las páginas de firmas. Los supervisores del laboratorio deben desempeñar el papel principal en la formación de sus subordinados inmediatos acerca de las técnicas correctas de laboratorio. El Responsable del Laboratorio, encargado de la bioseguridad, estará encargado de la capacitación del personal, la cual debe comprender siempre la enseñanza de métodos seguros para utilizar procedimientos peligrosos que habitualmente afectan a todo el personal de laboratorio y que entrañan los siguientes riesgos:

1. 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.
2. Riesgo de ingestión al manipular muestras, frotis y cultivos.
3. Riesgo de inoculación cutánea al emplear jeringuillas y agujas.
4. Riesgo de mordeduras y arañazos en la manipulación de animales.
5. Manipulación de sangre y otros materiales patológicos potencialmente peligrosos.
6. Descontaminación y eliminación de material infeccioso.

MANIPULACIÓN DE DESECHOS

Se considera desecho todo aquello que debe descartarse. En los laboratorios, la descontaminación y la eliminación de desechos son operaciones estrechamente relacionadas. En el trabajo cotidiano, son pocos los materiales contaminados que es preciso retirar del laboratorio o destruir. La mayor parte de la cristalería, los instrumentos y la ropa del laboratorio vuelve a utilizarse o se recicla. El principio básico es que todo el material infeccioso ha de ser descontaminado, esterilizado en autoclave o incinerado en el laboratorio.

a). Descontaminación por autoclave

El tratamiento en autoclave de vapor constituye el método de elección para todos los procesos de descontaminación. El material destinado a la descontaminación y eliminación debe introducirse en recipientes (por ejemplo en bolsas de plástico resistentes al tratamiento en autoclave) que tengan un código de color para indicar si el contenido ha de pasar a la autoclave.

b). Procedimientos de manipulación y eliminación de material y desechos contaminados

Deberá adoptarse un sistema de identificación y separación del material infeccioso y sus recipientes. Se seguirán las normas nacionales e internacionales y se tendrán en cuenta las siguientes categorías:

1. Desechos no contaminados (no infecciosos) que puedan reutilizarse o reciclarse o eliminarse como si fueran «basura» en general.
2. Objetos cortantes y punzantes contaminados (infecciosos): agujas hipodérmicas, bisturís, cuchillas, vidrio roto; se recogerán siempre en recipientes a prueba de perforación dotados de tapaderas y serán tratados como material infeccioso.
3. Material contaminado destinado al tratamiento en autoclave que después pueda lavarse y volverse a utilizar o reciclarse.
4. Material contaminado destinado al tratamiento en autoclave y a la eliminación.
5. Material contaminado destinado a la incineración directa.

c). Objetos cortantes y punzantes

Las agujas hipodérmicas no se deben volver a tapar, cortar ni retirar de las jeringas desechables después de utilizarlas. El conjunto completo debe colocarse en un recipiente

de eliminación específico. Las jeringas desechables, utilizadas con o sin aguja, se introducirán en recipientes de eliminación apropiados y se incinerarán, esterilizándolas previamente en autoclave si fuera necesario.

Los recipientes de eliminación de objetos cortantes y punzantes serán resistentes a la perforación y no se llenarán por completo. Cuando estén llenos en sus tres cuartas partes se colocarán en un recipiente de «desechos infecciosos» y se pondrán a disposición de la agencia de recolección de residuos biológico-infecciosos contratada por la Facultad.

d). Material contaminado (potencialmente infeccioso) para ser tratado en autoclave y reutilizado

No se efectuará limpieza alguna de ningún material contaminado (potencialmente infeccioso) que vaya a ser tratado en autoclave y reutilizado. Cualquier limpieza o reparación que se revele necesaria se realizará siempre después del paso por la autoclave o la desinfección.

e). Material contaminado (potencialmente infeccioso) para ser eliminado

Aparte de los objetos cortantes y punzantes mencionados más arriba, todo el material contaminado (potencialmente infeccioso) debe ser introducido en recipientes impermeables (por ejemplo en bolsas de plástico que resistan el tratamiento en autoclave marcadas con un código de color) y tratado en autoclave antes de proceder a su eliminación, o bien debe debidamente almacenarse para la entrega de la agencia de recolección de residuos biológico-infecciosos contratada por la Facultad. El material procedente de actividades relacionadas con la atención sanitaria no debe desecharse

en vertederos, ni siquiera después de haber sido descontaminado. Los recipientes de transporte reutilizables deben ser impermeables y tener tapas que ajusten debidamente. Se desinfectarán y limpiarán antes de devolverlos al laboratorio para un uso posterior.

En cada puesto de trabajo deben colocarse recipientes, tarros o cubetas para desechos, de preferencia irrompibles (por ejemplo, de plástico). Cuando se utilicen desinfectantes, los materiales de desecho deben permanecer en contacto íntimo con éstos (es decir, sin estar protegidos por burbujas de aire) durante el tiempo apropiado, según el desinfectante que se utilice (APENDICE). Los recipientes para desechos deberán estar debidamente



etiquetados con el símbolo universal de material biológico-infeccioso (Figura 1 y)habrán de ser descontaminados y lavados antes de su reutilización.

CAPITULO III. LABORATORIOS DE CONTENCIÓN. NIVELES DE BIOSEGURIDAD III

El laboratorio de contención – nivel de bioseguridad 3 está concebido e instalado para trabajar con microorganismos del grupo de riesgo 3, así como con grandes volúmenes de concentraciones de microorganismos del grupo de riesgo 2, ya que hay un mayor riesgo de difusión de aerosoles. Este nivel de contención exige fuertes programas de trabajo y de seguridad correspondientes a los laboratorios básicos – niveles de bioseguridad 1 y 2.

CÓDIGO DE PRÁCTICAS

El código de prácticas de los laboratorios básicos – niveles de bioseguridad 1 y 2 también se aplica en este caso, con las siguientes modificaciones:

1. El símbolo y signo internacional de advertencia de peligro biológico (Figura 1) expuesto en las puertas de acceso al laboratorio debe especificar el nivel de bioseguridad y el nombre del Responsable de Laboratorio que controla el acceso a éste, así como indicar cualquier condición especial de entrada en la zona.
2. En el laboratorio se debe llevar ropa protectora apropiada (batas sin abertura delantera o envoltorios, trajes de dos piezas de tipo pijama, overoles, gorros y, si corresponde, protección para el calzado o calzado especial). No son apropiadas las batas de laboratorio abotonadas por delante, ni las mangas que no cubran por completo los antebrazos. La ropa de laboratorio no debe usarse fuera de éste y debe descontaminarse antes de enviarla a la lavandería. Al término de cada sesión, la ropa debe quitarse y colocarse en el recipiente de material biológico-infeccioso.
3. Toda manipulación abierta de material potencialmente infeccioso debe realizarse dentro de una CSB

4. Puede ser necesario utilizar equipo de protección respiratoria para ciertos procedimientos de laboratorio que involucren virus, bacterias que se diseminen por aire o para el trabajo con animales que estén infectados

MATERIAL DE BIOSEGURIDAD INDISPENSABLE

Los principios aplicables a la selección del material, incluidas las CSB son los mismos que se enunciaron para el laboratorio básico – nivel de bioseguridad 2, con la excepción de que todas las actividades de manipulación de todo el material potencialmente infeccioso deben realizarse dentro de una CSB u otro dispositivo de contención física primaria. Debe tenerse en cuenta que si se utilizan aparatos como centrifugadoras, éstas necesitarán accesorios de contención suplementarios

como cubetas de seguridad o rotores de contención. Algunas centrifugadoras y otro material, como los separadores de células, destinados al trabajo con células infectadas pueden necesitar sistemas suplementarios de ventilación y evacuación local con filtros HEPA para una contención eficiente

VIGILANCIA MÉDICA Y SANITARIA

Los objetivos de los programas de vigilancia médica y sanitaria enunciados para los laboratorios básicos – niveles de bioseguridad 1 y 2 se aplican también a los laboratorios de contención – nivel de bioseguridad 3, con las siguientes modificaciones:

1. El reconocimiento médico de todo el personal que trabaja en el laboratorio de contención – nivel de bioseguridad 3 es obligatorio y debe comprender una historia clínica detallada y un reconocimiento físico orientado a la actividad laboral.



CAPITULO IV. EQUIPO DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO



Teniendo en cuenta de que los aerosoles son importantes fuentes de infección, debe tenerse cuidado de reducir su formación y dispersión. Muchas operaciones de laboratorio generan aerosoles peligrosos, como mezclar, triturar, agitar, remover, someter a ultrasonidos o centrifugar material infeccioso. Aunque se utilice equipo seguro, es preferible efectuar esas operaciones en una CSB siempre que sea posible. . El uso de equipo de seguridad no garantiza la protección, a menos que el trabajador esté adiestrado en su uso y aplique las técnicas apropiadas. El equipo debe probarse con regularidad para asegurarse de que sigue siendo seguro. En el cuadro 5 aparece una lista de comprobación del equipo de seguridad diseñado para eliminar o reducir ciertos peligros y se exponen brevemente las características que determinan la seguridad. En las páginas que siguen se ofrecen más detalles sobre gran parte de ese material.

CÁMARAS DE SEGURIDAD BIOLÓGICA (CSB)

Las CSB están diseñadas para proteger al trabajador, la atmósfera del laboratorio y los materiales de trabajo de la exposición a las salpicaduras y los aerosoles infecciosos que pueden generarse al manipular material que contiene agentes infecciosos, como cultivos primarios, soluciones madre y muestras de diagnóstico. Los aerosoles se producen en cualquier actividad que transmita energía a un material líquido o semilíquido, por ejemplo, al agitarlo, verterlo a otro recipiente, removerlo o verterlo sobre una superficie o sobre otro líquido. Las actividades como la siembra de placas de agar, la inoculación de frascos de

cultivo celular con pipeta, el uso de pipetas múltiples para dispensar suspensiones líquidas de agentes infecciosos en placas de microcultivo, la homogeneización y la agitación vertical de material infeccioso, y la centrifugación de líquidos infecciosos o el trabajo con animales pueden generar aerosoles infecciosos. Las partículas de aerosol de menos de 5mm de diámetro y las pequeñas gotas de 5 a 100mm de diámetro no son visibles a simple vista. El trabajador no suele darse cuenta de que se están produciendo esas partículas, que pueden ser inhaladas o provocar la contaminación cruzada de los materiales que se encuentran sobre las superficies de trabajo. Las CSB, cuando se utilizan debidamente, han demostrado ser sumamente eficaces para reducir las infecciones adquiridas en el laboratorio y la contaminación cruzada de cultivos por exposición a aerosoles. Las CSB también protegen la atmósfera del laboratorio. El diseño básico de las CSB ha sufrido varias modificaciones. Un cambio importante fue la adición de un filtro HEPA. Los filtros HEPA retienen el 99,97% de las partículas de 0.3mm de diámetro y el 99,99% de las partículas de tamaño mayor o menor; esto les permite retener

Cuadro 5 Equipo de bioseguridad

EQUIPO	PELIGRO EVITADO	CARACTERÍSTICAS DE SEGURIDAD
Cámaras de seguridad biológica		
– Clase I	Aerosoles y salpicaduras	• Flujo mínimo de aire hacia el interior (velocidad frontal) en la abertura de trabajo. Filtración adecuada del aire expulsado • No protege el producto
– Clase II	Aerosoles y salpicaduras	• Flujo mínimo de aire hacia el interior (velocidad frontal) en la abertura de trabajo. Filtración adecuada del aire expulsado • Protege el producto • Contención máxima • Protege el producto si se incluye flujo de aire laminar
– Clase III	Aerosoles y salpicaduras	• Protege el producto • Contención máxima • Protege el producto si se incluye flujo de aire laminar
Cámaras aislantes de material flexible y presión negativa	Aerosoles y salpicaduras	• Contención máxima
Pantalla contra salpicaduras	Salpicadura de sustancias químicas	• Establece una separación entre el trabajador y el trabajo
Dispositivos de pipeteo	Riesgos propios del pipeteo por succión bucal, como la ingestión de patógenos, la inhalación de aerosoles producidos por la succión bucal, expulsión de líquido o goteo de la pipeta, contaminación del extremo bucal de la pipeta	• Facilidad de empleo • Evita la contaminación del extremo bucal de la pipeta, con lo que protege el dispositivo, el usuario y el circuito de vacío • Posibilidad de esterilización • Se evita el goteo del extremo inferior de la pipeta
Microincineradores de asas, asas desechables	Salpicaduras procedentes de las asas	• Protección mediante un tubo de vidrio o cerámica, abierto por un extremo y calentado por gas o electricidad • Desechables, no necesitan calentamiento
Recipientes herméticos para recoger y transportar material infeccioso destinado a la esterilización dentro del laboratorio	Aerosoles, derrames y fugas	• Diseño hermético, con tapa • Duraderos • Posibilidad de tratarlos en la autoclave

EQUIPO	PELIGRO EVITADO	CARACTERÍSTICAS DE SEGURIDAD
Recipientes para la eliminación de objetos cortantes y punzantes	Heridas punzantes	• Posibilidad de tratamiento en autoclave • Robustos, a prueba de perforaciones
Recipientes de transporte entre laboratorios e instituciones	Liberación de organismos	• Robustos • Recipientes primario y secundario estancos para evitar fugas • Material absorbente para enjugar los escapes
Autoclaves, manuales o automáticas	Material infeccioso (transformado en inocuo para su eliminación o reutilización)	• Diseño aprobado • Esterilización térmica eficaz
Frascos con tapón de rosca	Aerosoles y derrames	• Contención eficaz
Protección del circuito de vacío	Contaminación del sistema de vacío del laboratorio por aerosoles o rebosamiento de líquidos	• Un filtro de tipo cartucho impide el paso de aerosoles (tamaño de las partículas: $0,45\mu\text{m}$) • El matraz de rebosamiento contiene un desinfectante apropiado. Puede usarse una pera de goma para cortar automáticamente el vacío cuando se llena el matraz colector • Todo el sistema puede esterilizarse en la autoclave

eficazmente todos los agentes infecciosos conocidos y garantizar que de la cámara sólo sale aire exento de microorganismos. Una segunda modificación del diseño consistió en dirigir hacia la superficie de trabajo aire que haya pasado por filtros HEPA, con el fin de proteger de la contaminación los materiales de esa superficie. Esta característica a menudo se conoce como protección del producto. Estos conceptos de diseño básicos han llevado a la evolución de tres clases de CSB. En el cuadro 6 se explica el tipo de protección que ofrece cada una de ellas.

DISPOSITIVOS DE PIPETEO

Para los procedimientos de pipeteo debe utilizarse siempre un dispositivo especial. El pipeteo con la boca debe estar estrictamente prohibido.

Debe insistirse bastante en la importancia de utilizar dispositivos de pipeteo. Los riesgos más comunes relacionados con el uso de pipetas son resultado de la succión bucal. La aspiración por la boca y la ingestión de material peligroso han dado lugar a numerosas infecciones en los laboratorios. También pueden transferirse agentes patógenos a la boca si se coloca un dedo contaminado en el extremo de la pipeta por el que se hace la succión. Un riesgo menos conocido del pipeteo con la boca es la inhalación de aerosoles provocados por la succión. Los tapones de algodón no constituyen un filtro microbiano eficiente sea la presión negativa o positiva, pues permiten el paso de las partículas durante la succión. Cuando el tapón está muy apretado, se necesita una succión muy enérgica, con el consiguiente riesgo de aspirar a la vez el algodón, el aerosol e incluso el líquido. El uso de dispositivos de pipeteo permite evitar la ingestión de patógenos. También pueden generarse aerosoles cuando el líquido de una pipeta gotea sobre una superficie de trabajo; cuando se mezclan cultivos alternando succión y soplado, y cuando se sopla por la pipeta para que salga la última gota. La inhalación de los aerosoles que inevitablemente se generan durante las operaciones de pipeteo puede evitarse trabajando en una CSB. Los dispositivos de pipeteo deben seleccionarse con cuidado. Es importante que ni su diseño ni su modo de empleo aumenten el riesgo de infección, y que sean fáciles de esterilizar y limpiar. Deben utilizarse puntas de pipeta obturadas (resistentes a los aerosoles) cuando se manipulen microorganismos y cultivos celulares. Las pipetas

que tengan los extremos de succión agrietados o astillados deben desecharse, ya que dañan las juntas herméticas por las que se insertan en los dispositivos de pipeteo y crean un peligro.

Cuadro 6 Selección de una cámara de seguridad biológica (CSB) según el tipo de protección necesaria

TIPO DE PROTECCIÓN	SELECCIÓN DE LA CSB
Protección personal, microorganismos de los grupos de riesgo 1 a 3	Clase I, clase II, clase III
Protección personal, microorganismos del grupo de riesgo 4, laboratorio para trabajar con cámara de guantes	Clase III
Protección personal, microorganismos del grupo de riesgo 4, laboratorio para trabajar con trajes especiales	Clase I, clase II
Protección del producto	Clase II, clase III sólo si incluye flujo laminar
Protección contra cantidades mínimas de sustancias químicas/ radionúclidos volátiles	Clase IIB1, clase IIA2 ventilada hacia el exterior
Protección contra sustancias químicas/ radionúclidos volátiles	Clase I, clase IIB2, clase III

HOMOGENEIZADORES, AGITADORES, MEZCLADORES Y DESINTEGRADORES ULTRASÓNICOS

Sólo deben utilizarse aparatos diseñados especialmente para el trabajo de laboratorio, que están contruidos de forma que se reduce al mínimo o se impide esa liberación de aerosoles. Los homogeneizadores de tipo *Stomacher*, disponibles ahora para trabajar con volúmenes grandes y pequeños, también pueden producir aerosoles. Los homogeneizadores utilizados para los microorganismos del grupo de riesgo 3 siempre deben cargarse y abrirse en una CSB. Los desintegradores ultrasónicos pueden liberar aerosoles. Deben manipularse en CSB o cubrirse con pantallas protectoras durante su uso. Los dispositivos protectores y la parte exterior de los desintegradores ultrasónicos deben descontaminarse después de su utilización.

ASAS DESECHABLES

Las asas desechables ofrecen la ventaja de que no necesitan ser esterilizadas, por lo que pueden utilizarse en CSB. Estas asas deben colocarse en un desinfectante después del uso y desecharse como material contaminado.

ROPAS Y 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 prendas de vestir y el equipo que se seleccionen dependen de la naturaleza del trabajo que se realice. En el laboratorio los trabajadores llevarán ropa protectora. Antes de abandonar el laboratorio, tendrán que quitarse las prendas protectoras y lavarse las manos. En el cuadro 6 se exponen algunos elementos de protección personal utilizados en laboratorios y la protección que ofrecen.

BATAS Y DELANTALES DE LABORATORIO

De preferencia, las batas de laboratorio irán abotonadas hasta arriba. Sin embargo, las batas de manga larga y abertura trasera protegen mejor que las batas de abertura frontal y son preferibles en los laboratorios de microbiología y cuando se trabaja en una 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. Los servicios de lavandería deben encontrarse en las instalaciones o cerca de ellas. Las batas, monos y delantales no deben usarse fuera de las zonas del laboratorio.

LENTE DE SEGURIDAD Y VISERAS

La elección del material para proteger los ojos y el rostro de salpicaduras e impactos de objetos dependerá de la actividad que se lleve a cabo. Los lentes de patilla no protegen debidamente contra las salpicaduras ni siquiera cuando se utilizan con protecciones laterales. Los lentes de máscara para proteger contra salpicaduras e impactos deben llevarse sobre los lentes graduados normales o los lentes de contacto (que no protegen contra los riesgos biológicos o químicos). Las viseras están hechas de plástico irrompible, se ajustan al rostro y se sujetan a la cabeza mediante cintas o una capucha. Ninguno de estos elementos de protección debe usarse fuera del laboratorio.

MASCARILLAS RESPIRATORIAS

La protección respiratoria puede utilizarse cuando se realizan procedimientos de alto riesgo, como limpiar un derrame de material infeccioso. El tipo de mascarilla respiratoria elegida dependerá del tipo de peligro. Existen respiradores con filtros cambiables para proteger contra gases, vapores, partículas y microorganismos. Es indispensable que el filtro esté colocado en el tipo de mascarilla adecuado. Para que la protección sea máxima, las mascarillas respiratorias deben ajustarse al rostro de cada trabajador y probarse previamente. Los respiradores autónomos con suministro de aire integrado proporcionan protección completa. Para seleccionar el respirador correcto habrá que solicitar el consejo de una persona debidamente cualificada, como un especialista en higiene laboral. Las mascarillas de tipo quirúrgico están diseñadas exclusivamente para proteger a los

pacientes y no ofrecen protección respiratoria a los trabajadores.. Las mascarillas respiratorias no deben usarse fuera del laboratorio.

GUANTES

Las manos pueden contaminarse cuando se trabaja en el laboratorio. También 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. Después de manipular material infeccioso o trabajar en una CSB y antes de abandonar el laboratorio es preciso retirar los guantes y lavarse las manos concienzudamente. 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 no deben usarse fuera de las zonas de laboratorio.



CAPITULO V. TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA APROPIADAS (TMA)

TECNICAS MICROBIOLÓGICAS APROPIADAS (TMA)

Los errores humanos, las técnicas de laboratorio incorrectas y el mal uso del equipo son la causa de la mayoría de los accidentes de laboratorio y las infecciones conexas. En el presente capítulo se compendian los métodos técnicos destinados a evitar o reducir al mínimo los accidentes más comunes provocados por esos factores.

MANIPULACIÓN SEGURA DE MUESTRAS EN EL LABORATORIO

La recogida, transporte y manipulación de muestras en el laboratorio entrañan un riesgo de infección para el personal.

Recipientes para muestras

Los recipientes para muestras pueden ser de vidrio o, preferiblemente, de plástico. Deben ser fuertes y no permitir fugas cuando la tapa o el tapón estén correctamente colocados. En el exterior del recipiente no debe quedar ningún material. Los recipientes han de estar correctamente rotulados para facilitar su identificación.

Transporte de muestras dentro de la instalación

Para evitar fugas o derrames accidentales, deben utilizarse envases/embalajes secundarios (por ejemplo, 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, pero deben poderse tratar en autoclave o ser resistentes a la acción de los desinfectantes químicos; de preferencia, el cierre debe tener una junta que garantice la estanqueidad. Deberán descontaminarse periódicamente.

Recepción de las muestras

Los laboratorios que reciban un elevado número de muestras deben destinar un local o zona especial con este propósito.

Apertura de los envases/embalajes

El personal que recibe y desempaqueta las muestras debe conocer los riesgos para la salud que entraña su actividad y debe estar capacitado para adoptar las precauciones necesarias, particularmente cuando manipule recipientes rotos o con fugas. Los recipientes primarios de las muestras deben abrirse en una CSB. Se dispondrá de desinfectantes

.

Uso de pipetas y dispositivos de pipeteo

1. Debe utilizarse siempre un dispositivo de pipeteo. El pipeteo con la boca estará prohibido.
2. Todas las pipetas tendrán tapones de algodón para reducir la contaminación de los dispositivos de pipeteo.
3. Nunca se insuflará aire en un líquido que contenga agentes infecciosos.
4. No debe mezclarse el material infeccioso aspirando y soplando alternativamente a través de una pipeta.
5. No se expulsarán a la fuerza los líquidos de una pipeta.
6. Son preferibles las pipetas aforadas con una muesca superior y otra inferior, ya que no exigen la expulsión de la última gota.
7. Las pipetas contaminadas deben sumergirse completamente en un desinfectante adecuado contenido en un recipiente irrompible y permanecer en él durante un tiempo suficiente antes de tirarlas.
8. Debe colocarse un recipiente para las pipetas usadas dentro (no fuera) de la CSB.
9. No deben utilizarse para pipetear jeringuillas provistas de aguja hipodérmica.
10. En vez de agujas, existen dispositivos para abrir los frascos tapados con un diafragma que permiten usar pipetas y evitar el uso de agujas y jeringuillas hipodérmicas.
11. Para evitar la dispersión del material infeccioso que caiga accidentalmente de una pipeta, se recubrirá la superficie de trabajo con material absorbente, que se desechará como residuo infeccioso una vez utilizado.

Técnicas para evitar la dispersión de material infeccioso

1. A fin de evitar que su carga caiga prematuramente, las asas microbiológicas deben tener un diámetro de 2–3 mm y terminar en un anillo completamente cerrado. Los mangos no deben tener más de 6 cm de longitud para reducir la vibración al mínimo.



2. Para evitar el riesgo de que se produzcan salpicaduras de material infeccioso al flamear las asas en el mechero de Bunsen, las asas de acero inoxidable y vidrio se esterilizarán en autoclave. Es preferible utilizar asas desechables que no necesitan volver a ser esterilizadas.
3. Al secar muestras de esputo debe procederse con cuidado para evitar la creación de aerosoles.
4. Las muestras y los cultivos desechados destinados a la autoclave o a la eliminación se colocarán en recipientes impermeables, como las bolsas de desechos de laboratorio. La parte superior se cerrará (por ejemplo con cinta de autoclave) antes de tirarlas a los recipientes para desechos.
5. Las zonas de trabajo se descontaminarán con un desinfectante apropiado después de cada periodo de trabajo.

Uso de las cámaras de seguridad biológica (CSB)

1. Habrá que explicar a todos los posibles usuarios el modo de empleo y las limitaciones de estas cámaras. El personal recibirá protocolos escritos o manuales de seguridad o de operación. En particular, ha de quedar claro que la cámara no protege al trabajador de derrames, roturas o técnicas incorrectas.
2. La cámara no debe utilizarse si no funciona correctamente.
3. La ventana de vidrio transparente no debe abrirse mientras se está utilizando la cámara.
4. Los aparatos y materiales introducidos en la cámara deben reducirse al mínimo y no deben bloquear la circulación del aire en la cámara de distribución trasera.
5. No deben utilizarse mecheros de Bunsen en el interior de la cámara, ya que el calor producido perturbará el flujo de aire y puede dañar los filtros.
6. Todo el trabajo debe hacerse en la zona media o posterior de la superficie de trabajo y ser visible a través de la ventana.
7. El paso de personas por detrás del trabajador debe reducirse al mínimo.
8. El trabajador no debe alterar el flujo de aire al sacar y volver a introducir repetidas veces los brazos.
9. Las rejillas de aire no deben estar bloqueadas con papeles, pipetas u otros materiales, pues con ello se perturba el flujo de aire y puede provocarse la contaminación del material y la exposición del trabajador.

10. La superficie de la CSB deberá limpiarse con un paño empapado con un desinfectante apropiado una vez terminado el trabajo y al final del día.
11. El ventilador de la cámara se encenderá al menos 5 minutos antes de empezar el trabajo y debe seguir funcionando al menos durante 5 minutos después de concluido el trabajo.
12. Nunca se introducirán papeles en las CSB.

Técnicas para evitar la ingestión de material infeccioso y su contacto con la piel y los ojos

1. Las partículas y gotículas de mayor tamaño (>5 mm) que se desprenden durante las manipulaciones microbiológicas se depositan rápidamente en la superficie de las mesas y en las manos del trabajador. éste llevará guantes desechables. Los trabajadores del laboratorio evitarán tocarse la boca, los ojos y el rostro.
2. En el laboratorio no se deben conservar ni consumir alimentos o bebidas.
3. En el laboratorio no se colocarán objetos en la boca (lápices, goma de mascar).
4. En el laboratorio no se aplicarán cosméticos.
5. La cara, los ojos y la boca deben estar protegidos con una pantalla o de algún otro modo durante cualquier operación que pueda provocar salpicaduras de material potencialmente infeccioso.

Técnicas para evitar la inyección de material infeccioso

1. La inoculación accidental debida a heridas por objetos de vidrio rotos o astillados puede evitarse mediante prácticas y procedimientos cuidadosos. El material de vidrio debe ser reemplazado por material de plástico siempre que sea posible.
2. La inoculación accidental puede producirse como consecuencia de heridas con agujas hipodérmicas, pipetas de Pasteur de vidrio o vidrios rotos.
3. El número de accidentes causados por agujas hipodérmicas puede reducirse restringiendo al mínimo el uso de jeringas y agujas (por ejemplo, existen dispositivos sencillos para abrir los frascos con tapón de diafragma de modo que puedan usarse pipetas en lugar de jeringas y agujas), o utilizando dispositivos especiales de seguridad para objetos cortantes y punzantes cuando se hace imprescindible utilizar jeringas y agujas.

4. Nunca deben volver a cubrirse las agujas. Los artículos desechables deberán colocarse en recipientes resistentes a la perforación que tengan tapa.
5. Las pipetas de Pasteur de vidrio deben sustituirse por otras de plástico.

Separación de suero

1. Sólo realizará este trabajo personal de laboratorio debidamente capacitado.
2. El personal llevará guantes y equipo protector de ojos y mucosas.
3. Sólo una buena técnica permite evitar o reducir al mínimo las salpicaduras y los aerosoles. La sangre y el suero se deben pipetear con cuidado en lugar de verterlos. El pipeteo con la boca estará prohibido.
4. Una vez usadas, las pipetas se sumergirán por completo en un desinfectante apropiado y permanecerán en él durante un tiempo suficiente, hasta que se eliminen o se laven y esterilicen para volverlas a utilizar.
5. Los tubos de ensayo que se desea eliminar y que contienen coágulos de sangre u otros materiales se colocarán, nuevamente con sus tapas, en recipientes impermeables apropiados que se tratarán y esterilizarán en la autoclave o se incinerarán.
6. Habrá que disponer de desinfectantes apropiados para limpiar las salpicaduras y los derrames de material (ver capítulo VI).

Uso de las centrifugadoras

1. El funcionamiento mecánico satisfactorio es un requisito de la seguridad microbiológica del empleo de centrifugadoras en el laboratorio. Las centrifugadoras se utilizarán según las instrucciones del fabricante.
3. Las centrifugadoras deben colocarse a una altura tal que los trabajadores puedan ver la cubeta para colocar correctamente los soportes y los cestillos.
4. Los tubos de la centrifugadora y los recipientes de muestras destinados al uso en la centrifugadora deben estar fabricados de vidrio grueso o, preferiblemente, de plástico, y deben inspeccionarse para detectar defectos antes de usarlos.
5. Los tubos y los recipientes para muestras deben estar siempre bien cerrados (con tapón de rosca si es posible) para la centrifugación.
6. Los cestillos deben cargarse, equilibrarse, cerrarse y abrirse en una CSB.

7. Los cestillos y los soportes se deben emparejar por el peso y equilibrar correctamente con los tubos en su sitio.
8. El espacio que debe dejarse entre el nivel del líquido y el borde de cada tubo decentrifugación debe ser especificado en las instrucciones del fabricante.
9. Para equilibrar los cestillos vacíos se empleará agua destilada o alcohol (propanolal 70%). No se empleará suero salino ni solución de hipoclorito porque ambos productos corroen los metales.
10. Para los microorganismos de los grupos de riesgo 3 y 4 se utilizarán cestillos decentrifugadora de cierre hermético (cestillos de seguridad).
11. Cuando se utilicen rotores de cabeza angular, debe velarse por que el tubo no esté excesivamente cargado, ya que puede haber fugas del líquido.
12. El interior de la cubeta de la centrifugadora se inspeccionará a diario para observar si existen manchas o suciedad en el rotor. Si éstas son manifiestas, se deben examinar de nuevo los protocolos de centrifugación.
13. Los rotores y los cestillos de la centrifugadora deben observarse diariamente para detectar signos de corrosión y grietas.
14. Los cestillos, los rotores y la cubeta de la centrifugadora deben descontaminarse después de cada uso.
15. Después del uso, los cestillos se depositarán en posición invertida a fin de vaciarel líquido utilizado para equilibrar.
16. Al utilizar centrifugadoras pueden expulsarse partículas infecciosas transportadas por el aire. Esas partículas salen despedidas a una velocidad demasiado alta para que las retenga el flujo de aire de la cámara si la centrifugadora está funcionando en una CSB tradicional con abertura frontal de las clases I y II. Si se colocan las centrifugadoras en CSB de clase III se evita que los aerosoles emitidos se dispersen ampliamente. No obstante, el empleo de una buena técnica de centrifugación y de tubos tapados correctamente ofrece protección suficiente contra los aerosoles infecciosos y la dispersión de partículas.

Uso de homogeneizadores, agitadores, mezcladores y desintegradores ultrasónicos

1. No deben utilizarse homogeneizadores domésticos (de cocina) en los laboratorios, pues pueden tener fugas o desprender aerosoles. Los mezcladores y homogeneizadores

de laboratorio de tipo Stomacher son más seguros. Los tapones y los recipientes o frascos deben estar en buenas condiciones, sin deformaciones ni fisuras. Los tapones deben ajustar bien y las juntas deben estaren buen estado.

2. Durante el funcionamiento de los homogeneizadores, agitadores y desintegradores ultrasónicos se produce un aumento de la presión dentro del recipiente, con lo que pueden desprenderse entre la tapa y el recipiente aerosoles con materiales infecciosos. Se recomiendan los recipientes de plástico, en particular de politetra-fluoroetileno (PTFE), porque el vidrio puede romperse y liberar material infeccioso, e incluso herir al trabajador.

3. Durante su utilización, hay que recubrir los aparatos con una funda fuerte de plástico transparente, que se desinfectará una vez usada. Siempre que sea posible, estos aparatos, con su funda de plástico, se utilizarán dentro de una CSB.

4. Una vez terminada la operación, el recipiente se abrirá en una CSB.

5. Las personas que utilicen desintegradores ultrasónicos deben llevar protección auditiva.

Uso de trituradores de tejidos

1. Los trituradores de vidrio deben sostenerse envueltos en una pieza de materialabsorbente y con la mano enguantada. Son más seguros los trituradores de plástico (PTFE).

2. Los trituradores de tejidos deben utilizarse y abrirse en una CSB.

Mantenimiento y uso de refrigeradores y congeladores

1. Los refrigeradores, congeladores y recipientes de nieve carbónica deben descongelarse y limpiarse periódicamente; se eliminarán todos los tubos y otros objetos que se hayan roto durante el almacenamiento. Durante la limpieza se debe utilizar protección facial y guantes de goma gruesa. Después de la limpieza se desinfectarán las superficies interiores de la cámara.

2. Todos los recipientes almacenados en refrigeradores y congeladores deben llevar etiquetas bien claras con el nombre científico del contenido, la fecha de almacenamiento y el nombre de la persona que los ha almacenado. Los materiales sin etiquetas y anticuados deben tratarse en la autoclave y desecharse.

3. Debe mantenerse un inventario del contenido de los refrigeradores y congeladores.

4. No deben guardarse nunca soluciones inflamables en refrigeradores, excepto si estos son a prueba de explosión. En las puertas de los refrigeradores se colocarán advertencias al respecto.

Técnicas para abrir tubos o ampollas de vidrio que contengan material infeccioso liofilizado

Conviene abrir con precaución los tubos de material liofilizado pues, al estar cerrados a presión reducida, la entrada brusca de aire puede dispersar el contenido en la atmósfera. Los tubos deben abrirse siempre dentro de una CSB. Para abrir los tubos se recomienda el siguiente procedimiento:

1. En primer lugar, descontaminar la superficie exterior de la ampolla.
2. Si el tubo es de tipo ampolla de vidrio, hacer con la lima una marca en el tubo, cerca de la mitad del tapón de algodón celulosa, si lo hay.
3. Sujetar el tubo en un algodón empapado en alcohol para proteger las manos antes de romperla por la marca.
4. Retirar con cuidado la parte superior y tratarla como si fuera material contaminado.
5. Si el tapón sigue estando por encima del contenido de la ampolla, retirarlo con una pinza estéril.
6. Reconstituir la suspensión añadiendo el líquido lentamente para evitar la formación de espuma.

Almacenamiento de tubos o ampollas que contengan material infeccioso

Las ampollas que contienen material infeccioso no se deben sumergir nunca en nitrógeno líquido, ya que las que estén fisuradas o mal cerradas podrían romperse o explotar al sacarlas. Si se necesitan temperaturas muy bajas, las ampollas sólo se deben almacenar en la fase gaseosa que queda por encima del nitrógeno líquido. También pueden almacenarse los materiales infecciosos en congeladores mecánicos o nieve carbónica. Al retirar las ampollas del almacenamiento en frío, el personal deberá llevar protegidos los ojos y las manos. Las ampollas conservadas por estos procedimientos se descontaminarán por fuera siempre que se saquen del lugar de almacenamiento.

Precauciones establecidas en relación con la sangre y otros líquidos corporales, tejidos y excreciones

Las precauciones están concebidas para reducir el riesgo de transmisión de microorganismos de fuentes de infección tanto reconocidas como no reconocidas.

Recogida, etiquetado y transporte de muestras

1. Se seguirán siempre las precauciones establecidas, se usarán guantes en todos los procedimientos.
2. La toma de sangre de personas y animales estará a cargo de personal capacitado.
3. Los tubos se colocarán en recipientes apropiados para el transporte al laboratorio y dentro del laboratorio.

Apertura de tubos de muestras y muestreo del contenido

1. Los tubos de muestras deben abrirse en una CSB.
2. Deben usarse guantes. También se recomienda proteger los ojos y las mucosas (lentes de seguridad de tipo máscara o viseras).
3. Las prendas de protección se complementarán con un delantal de plástico.
4. Para sacar el tapón, éste se agarrará con un trozo de papel o de gasa con el fin de evitar salpicaduras.

Vidrio y objetos punzantes y cortantes

1. Siempre que sea posible, se sustituirá el material de vidrio por material de plástico. Sólo se utilizará vidrio duro especial para laboratorio (borosilicato); se desechará todo artículo que esté astillado o agrietado.
2. No se utilizarán agujas hipodérmicas para pipetear.

Extensiones y frotis para el examen microscópico

La fijación y tinción de muestras de sangre, esputo y heces para el microscopio no destruye necesariamente todos los organismos o los virus de las extensiones. Éstas deben manipularse con pinzas, almacenarse cuidadosamente y descontaminarse o tratarse en autoclave antes de eliminarlas.

Equipo automático (desintegradores ultrasónicos, mezcladores verticales)

1. El equipo debe ser cerrado para evitar la dispersión de gotitas y aerosoles.
2. Los efluentes se recogerán en recipientes cerrados y se tratarán en la autoclave o se eliminarán.
3. El equipo se desinfectará al final de cada sesión de trabajo, siguiendo las instrucciones del fabricante.

Tejidos

1. Se utilizarán fijadores a base de formol.
2. Se evitarán los cortes de material congelado. Cuando sea necesario, el criostato estará protegido y el trabajador llevará visera de seguridad. Para la descontaminación, la temperatura del instrumento se elevará a 20°C, como mínimo.

Descontaminación

Para la descontaminación se recomiendan hipocloritos y desinfectantes de alto nivel. Las soluciones de hipoclorito recién preparadas contendrán cloro disponible a razón de 1 g/l para uso general, y de 5 g/l para limpiar derrames de sangre. Para la desinfección de superficies puede utilizarse glutaraldehído (ver cap



CAPITULO VI. PROCEDIMIENTOS DE EMERGENCIA

PROCEDIMIENTOS DE EMERGENCIA



Todo laboratorio que trabaje con microorganismos infecciosos deberá establecer precauciones de seguridad acordes con el riesgo que entrañen los microorganismos y los animales utilizados

.

HERIDAS PUNZANTES, CORTES Y ABRASIONES

La persona afectada deberá quitarse la ropa protectora, lavarse las manos y la parte lesionada, aplicarse un desinfectante cutáneo apropiado y buscar la atención médica que sea precisa. Se notificará la causa de la herida y los microorganismos implicados; se mantendrán registros médicos apropiados y completos.

INGESTIÓN DE MATERIAL POTENCIALMENTE INFECCIOSO

Se quitará la ropa protectora y se buscará atención médica. Se notificará la identidad del material ingerido y las circunstancias del incidente, y se mantendrán registros médicos apropiados y completos.

EMISIÓN DE AEROSOL POTENCIALMENTE INFECCIOSO (FUERA DE UNA CÁMARA DE SEGURIDAD BIOLÓGICA)

Todas las personas deberán evacuar inmediatamente la zona afectada; las personas expuestas serán enviadas de inmediato para recibir atención médica. Se informará inmediatamente al Responsable del Laboratorio. Nadie podrá entrar en el local durante un tiempo prudencial (por ejemplo, una hora), de modo que los aerosoles puedan salir y se depositen las partículas más pesadas. Si el laboratorio no cuenta con un sistema central de evacuación de aire, la entrada se retrasará (por ejemplo durante 24 horas). Se colocarán señales indicando que queda prohibida la entrada. Al cabo del tiempo apropiado, se procederá a la descontaminación bajo la supervisión del funcionario de bioseguridad. Para ello habrá que utilizar ropa protectora y protección respiratoria apropiadas.

ROTURA DE RECIPIENTES Y DERRAMES DE SUSTANCIAS INFECCIOSAS

Los recipientes rotos contaminados con sustancias infecciosas y las sustancias infecciosas derramadas se cubrirán con paños o papel absorbente. A continuación se verterá sobre éstos un desinfectante que se dejará actuar durante tiempo suficiente, y



después podrá retirarse el paño o el papel absorbente junto con el material roto; los fragmentos de vidrio deberán ser manipulados con pinzas. Después se fregará la zona contaminada con un desinfectante. Si se utilizan recogedores de polvo para retirar el material roto, después habrá que tratarlos en la autoclave o sumergirlos en undesinfectante eficaz. Los paños, el papel absorbente, y la gasas utilizados para la limpieza se colocarán en un recipiente para residuos contaminados. Habrá que utilizar guantes en todas estas operaciones. Si se contaminan los formularios del laboratorio u otros papeles manuscritos o impresos, se copiará la información en otro formulario y se tirará el original en un recipiente para residuos contaminados.

ROTURA DE TUBOS CON MATERIAL POTENCIALMENTE INFECCIOSO EN CENTRIFUGADORAS CARENTES DE CESTILLOS DE SEGURIDAD

Si se sabe o se sospecha que se ha roto un tubo mientras está funcionando el aparato, habrá que parar el motor y dejar el aparato cerrado (por ejemplo durante 30 minutos) para que se pose el material. Si la rotura se descubre cuando la máquina se ha parado, se volverá a tapar inmediatamente y se dejará cerrada (por ejemplo durante 30 minutos). En ambos casos, habrá que informar al Responsable del Laboratorio.

En todas las operaciones posteriores habrá que utilizar guantes fuertes (por ejemplo, de goma gruesa), cubiertos en caso necesario con guantes desechables apropiados. Para recoger los trozos de vidrio se utilizarán pinzas o algodón manipulado con pinzas. Todos los tubos rotos, fragmentos de vidrio, cestillos, soportes y el rotor se sumergirán en un desinfectante no corrosivo de eficacia conocida contra los microorganismos de que se trate (ver capítulo VI). Los tubos intactos, con sus correspondientes tapones, pueden introducirse en desinfectante en un recipiente aparte para recuperarlos. La cubeta de la centrifugadora se limpiará con una gasa empapada en el mismo desinfectante a la dilución apropiada; se repetirá la operación y después se lavará con agua y se secará. Todo el material de limpieza utilizado se tratará como si fuera material de desecho infectado.

ROTURA DE TUBOS DENTRO DE LOS CESTOS DE CIERRE HERMÉTICO (CESTOS DE SEGURIDAD)

Todos los cestos de centrifugadora de cierre hermético se cargarán y descargarán en una CSB. Si se sospecha que se ha producido una rotura dentro del cesto de seguridad, la

tapa de seguridad se soltará cuidadosamente y se tratará el cesto en la autoclave. También se podrá desinfectar con agentes químicos.

INCENDIOS Y CATÁSTROFES NATURALES

Los servicios de incendios y de otro tipo deben participar en la elaboración de los planes de preparación para emergencias y estarán informados de antemano acerca de las salas que contienen material potencialmente infeccioso. Es conveniente que estos servicios visiten las instalaciones del laboratorio para familiarizarse con su distribución y su contenido.

Después de una catástrofe natural, se informará a los servicios de emergencia locales o nacionales de los riesgos existentes dentro del edificio del laboratorio y en sus proximidades. El personal de esos servicios sólo deberá entrar acompañado por un trabajador capacitado del laboratorio. El material infeccioso será recogido en cajas impermeables o bolsas desechables fuertes. El personal de seguridad, basándose en la reglamentación local, determinará el material que podrá recuperarse o eliminarse definitivamente.

En las instalaciones se expondrán en lugar bien visible las direcciones y los números de teléfono siguientes:

1. Del Responsable del Laboratorio
3. De la Coordinación de Laboratorios
5. Del servicio de bomberos
6. Del hospital/servicio de ambulancias/personal médico (nombre de los distintos servicios, departamentos o personal médico, si es posible)
7. De la policía

EQUIPO DE EMERGENCIA

Se dispondrá del siguiente equipo de emergencia:

1. Botiquín de primeros auxilios, que contendrá antídotos universales y especiales
2. Extintores de incendios, mantas para apagar fuegos.

A continuación se indican otros materiales que pueden ser necesarios en ciertas circunstancias locales:



1. Vestimenta protectora completa (monos de una pieza, guantes y capuchas, para incidentes con microorganismos de los grupos de riesgo 3 y 4)
2. Mascarillas respiratorias que cubran toda la cara, provistas de filtros para partículas y sustancias químicas
3. Material para la desinfección de locales, como rociadores y vaporizadores de formaldehído
4. Camillas
5. Herramientas, como martillos, hachas, llaves de tuercas, destornilladores, escaleras de mano, cuerdas
6. Material para demarcar y señalar zonas peligrosas.



CAPITULO VII. DESINFECCIÓN Y ESTERILIZACIÓN

DESINFECCIÓN Y ESTERILIZACIÓN



Para la bioseguridad en el laboratorio es fundamental disponer de conocimientos básicos sobre la desinfección y la esterilización. Teniendo en cuenta de que los objetos muy sucios no pueden desinfectarse o esterilizarse rápidamente, es igualmente importante comprender los conceptos básicos de la limpieza previa. A este respecto, los siguientes principios generales se aplican a todas las clases conocidas de microbios patógenos.

Los requisitos particulares de la descontaminación dependerán del tipo de trabajo experimental y de la naturaleza de los agentes infecciosos que se estén manipulando.

La información genérica que aquí se ofrece puede utilizarse para elaborar procedimientos tanto establecidos como más específicos para hacer frente a los peligros biológicos que existan en un laboratorio concreto.

Los tiempos de contacto con los desinfectantes son distintos para cada material y cada fabricante. Así pues, todas las recomendaciones para el uso de desinfectantes deben seguir las especificaciones del fabricante.

DEFINICIONES

En la esfera de la desinfección y la esterilización se utilizan muchos términos diferentes. Los siguientes se encuentran entre los más comunes en el campo de la bioseguridad:

Antimicrobiano– Agente que mata los microorganismos o suprime su crecimiento y proliferación.

Antiséptico – Sustancia que inhibe el crecimiento y el desarrollo de microorganismos pero no necesariamente los mata. Los antisépticos suelen aplicarse a las superficies corporales.

Biocida– Término general para cualquier agente que mate organismos.



Descontaminación – Cualquier proceso utilizado para eliminar o matar microorganismos. También se utiliza para referirse a la eliminación o neutralización de sustancias químicas peligrosas y materiales radioactivos.

Desinfección– Medio físico o químico de matar microorganismos, pero no necesariamente esporas.

Desinfectante– Sustancia o mezcla de sustancias químicas utilizada para matar microorganismos, pero no necesariamente esporas. Los desinfectantes suelen aplicarse a superficies u objetos inanimados

Esporicida– Sustancia o mezcla de sustancias químicas utilizadas para matar microorganismos y esporas.

Esterilización– Proceso que mata o elimina todas las clases de microorganismos y esporas.

Germicida químico– Sustancia o mezcla de sustancias químicas utilizada para matar microorganismos.

Microbicida– Sustancia o mezcla de sustancias químicas que mata microorganismos. Este término se utiliza a menudo en lugar de «biocida», «germicida químico» o «antimicrobiano».

LIMPIEZA DEL MATERIAL DE LABORATORIO

La limpieza consiste en la eliminación de suciedad, materia orgánica y manchas. Incluye el cepillado, la aspiración, el desempolvado en seco, el lavado o el fregado con un paño y agua con jabón o detergente. La suciedad, la tierra y la materia orgánica pueden albergar microorganismos e interferir con la acción de los descontaminantes (antisépticos, germicidas químicos y desinfectantes). La limpieza previa es fundamental para conseguir una correcta desinfección o esterilización. Muchos productos germicidas sólo son activos sobre material previamente limpio. La limpieza previa debe llevarse a cabo con cuidado para evitar la exposición a agentes infecciosos. Deben utilizarse materiales que sean

químicamente compatibles con los germicidas que vayan a utilizarse después. Es muy frecuente utilizar el mismo germicida químico para la limpieza previa y la desinfección.

GERMICIDAS QUÍMICOS

Pueden utilizarse como desinfectantes o antisépticos muchos tipos de sustancias químicas. Dado que el número y la variedad de productos comerciales es cada vez mayor, deben elegirse cuidadosamente las formulaciones que sean más indicadas para las necesidades concretas. La actividad germicida de muchas sustancias químicas es más rápida y eficaz a temperaturas más altas, pero las temperaturas elevadas también pueden acelerar su evaporación y degradarlas. Es preciso tener particular cuidado en el uso y el almacenamiento de esas sustancias en las regiones tropicales, donde su tiempo de conservación puede verse reducido a causa de las altas temperaturas del ambiente. Muchos germicidas pueden ser perjudiciales para el ser humano o el medio ambiente. Se deben seleccionar, almacenar, manipular, utilizar y eliminar con precaución, siguiendo las instrucciones del fabricante. En relación con la seguridad personal, se recomienda utilizar guantes, delantales y protección ocular cuando se preparen diluciones de germicidas químicos. Normalmente no se necesita recurrir a germicidas químicos para la limpieza ordinaria de suelos, paredes, equipo y mobiliario, pero su uso puede ser apropiado en ciertos casos para controlar brotes. El uso correcto de los germicidas químicos contribuirá a la seguridad en el lugar de trabajo y al mismo tiempo reducirá el riesgo que suponen los agentes infecciosos. En la medida de lo posible, el número de sustancias químicas germicidas que se utilicen deberá ser limitado por razones económicas y de control del inventario, así como para reducir la contaminación ambiental. A continuación se describen las clases más utilizadas de germicidas químicos, con información genérica sobre sus aplicaciones y sus características de seguridad. A menos que se indique otra cosa, sus concentraciones se expresan en peso/volumen. En el cuadro 7 se resumen las diluciones recomendadas de los compuestos que liberan cloro.

Cloro (hipoclorito sódico)

El cloro, oxidante de acción rápida, es un germicida químico de uso muy extendido y de amplio espectro. Normalmente se vende en forma de lejía, una solución acuosa de hipoclorito sódico (NaOCl) que puede diluirse en agua para conseguir

distintas concentraciones de cloro libre. El cloro, especialmente en forma de lejía, es sumamente alcalino y puede ser corrosivo para los metales. Su actividad se ve considerablemente reducida por la materia orgánica (proteínas). Las soluciones madre o de trabajo de lejía almacenadas en recipientes abiertos, particularmente a temperaturas elevadas, liberan cloro gaseoso con lo que se debilita su potencial germicida. La frecuencia con la que deben prepararse nuevas soluciones de trabajo de lejía depende de su potencia inicial,

Cuadro 7. Diluciones recomendadas de compuestos que liberan cloro

	SITUACIONES «LIMPIAS» ^a	SITUACIONES «SUCIAS» ^b
Cloro libre requerido	0,1% (1 g/l)	0,5% (5 g/l)
Solución de hipoclorito sódico (5% de cloro libre)	20 ml/l	100 ml/l
Hipoclorito cálcico (70% de cloro libre)	1,4 g/l	7,0 g/l
Dicloroisocianurato sódico en polvo (60% de cloro libre)	1,7 g/l	8,5 g/l
Dicloroisocianurato sódico en comprimidos (1,5 g de cloro libre por comprimido)	Un comprimido por litro	Cuatro comprimidos por litro
Cloramina (25% de cloro libre) ^c	20 g/l	20 g/l

^a Después de retirar el material grueso.

^b Para enjuagar, por ejemplo sobre la sangre o antes de retirar el material grueso.

^c Véase el texto.

del tamaño y el tipo de los recipientes (por ejemplo, con o sin tapa), de la frecuencia y el tipo de uso, y de las condiciones ambientales. A título de orientación general, las soluciones que reciban materiales con gran cantidad de materia orgánica varias veces al día deben cambiarse al menos diariamente, mientras que aquellas que se usan con menos frecuencia pueden durar hasta una semana. Como solución desinfectante general para toda clase de trabajos de laboratorio se utilizará una concentración de 1 g/l de cloro libre. En caso de derrame que conlleve un peligro biológico y en presencia de grandes cantidades de materia orgánica, se recomienda utilizar una solución más concentrada, que contenga 5 g/l de cloro libre. Las soluciones de hipoclorito sódico, como la lejía de uso doméstico, contienen 50 g/l de cloro libre y por tanto deben diluirse a razón de 1 : 50 o 1 : 10 para obtener concentraciones finales de 1 g/l y 5 g/l, respectivamente. Las soluciones industriales de lejía tienen una concentración de hipoclorito sódico cercana a los 120 g/l y deben diluirse en consecuencia para obtener los niveles indicados más arriba. Los gránulos o comprimidos de hipoclorito cálcico ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$) suelen contener alrededor de un 70% de cloro libre. Las soluciones preparadas con gránulos o comprimidos, que contienen 1,4 g/l y 7,0 g/l, contendrán entonces 1,0 g/l y 5 g/l de cloro

libre, respectivamente. La lejía no se recomienda como antiséptico, pero puede utilizarse como desinfectante de uso general y para sumergir materiales no metálicos contaminados. En caso de emergencia, también puede utilizarse la lejía para desinfectar agua para beber con una concentración final de 1–2 mg/l de cloro libre. El cloro gaseoso es sumamente tóxico. Por esa razón, la lejía debe almacenarse y utilizarse solamente en zonas bien ventiladas. Además, la lejía no debe mezclarse con ácidos para evitar la liberación rápida de cloro gaseoso. Muchos subproductos del cloro pueden ser nocivos para el ser humano y el medio ambiente, de modo que debe evitarse el uso indiscriminado de desinfectantes a base de cloro, y en particular de la lejía.

Dicloroisocianurato sódico

El dicloroisocianurato sódico (NaDCC) en polvo contiene un 60% de cloro libre. Las soluciones preparadas con NaDCC en polvo a razón de 1,7 g/l y 8,5 g/l contendrán 1 g/l y 5 g/l de cloro libre, respectivamente. Los comprimidos de NaDCC suelen contener el

equivalente a 1,5 g de cloro libre por comprimido. Uno o cuatro comprimidos disueltos en un litro de agua darán aproximadamente las concentraciones requeridas de 1 g/l o 5 g/l, respectivamente. El NaDCC se puede almacenar de forma fácil y segura tanto en polvo como en comprimidos. El NaDCC sólido puede aplicarse sobre las salpicaduras de sangre u otros líquidos que entrañen un riesgo biológico, dejándolo actuar durante 10 minutos antes de retirarlo. Después puede procederse a la limpieza minuciosa de la zona afectada.

Cloraminas

Las cloraminas existen en forma de polvo que contiene aproximadamente un 25% de cloro libre. Al liberar el cloro a menor velocidad que los hipocloritos, se requieren concentraciones iniciales más altas para obtener una eficacia equivalente a la de aquéllos. Por otro lado, las soluciones de cloramina no son inactivadas por la materia orgánica con la misma intensidad que los hipocloritos y se recomienda una concentración de 20 g/l para situaciones tanto «limpias» como «sucias». Las soluciones de cloramina son prácticamente inodoras. No obstante, los objetos sumergidos en ellas deben enjuagarse concienzudamente para eliminar todo residuo de los agentes inertes que se añaden a los polvos de cloramina T (tosilcloramidasódica).

Dióxido de cloro

El dióxido de cloro (ClO_2) es un germicida, desinfectante y oxidante potente y de acción rápida que a menudo tiene actividad a concentraciones inferiores a las necesarias en el caso del cloro procedente de la lejía. La forma gaseosa es inestable y se descompone en cloro gaseoso (Cl_2) y oxígeno gaseoso (O_2), produciendo calor. Sin embargo, el dióxido de cloro es soluble en agua y estable en solución acuosa. Puede obtenerse de dos formas: 1) por generación in situ, mezclando dos componentes distintos, el ácido clorhídrico (HCl) y el clorito sódico (NaClO_2), o 2) encargando la forma estabilizada, que después se activa en el laboratorio cuando se necesita. El dióxido de cloro es el más selectivo de los biocidas oxidantes. El ozono y el cloro son mucho más reactivos que el dióxido de cloro y son consumidos por la mayoría de los compuestos orgánicos. En cambio, el dióxido de cloro sólo reacciona con los compuestos de azufre reducido, las aminas secundarias y terciarias, y otros compuestos orgánicos muy reducidos y reactivos. Por consiguiente, con el dióxido de cloro puede conseguirse un residuo más estable a dosis mucho menores que

cuando se utilizan cloro u ozono. Si se genera debidamente, el dióxido de cloro, gracias a su selectividad, puede usarse con más eficacia que el ozono o el cloro en los casos de mayor carga de materia orgánica.

Formaldehído

El formaldehído (HCHO) es un gas que mata todos los microorganismos y espasa temperaturas superiores a los 20°C . Su acción es relativamente lenta y requiere una humedad relativa de alrededor del 70%. Se comercializa en forma de polímero sólido (paraformaldehído), en copos o comprimidos, o como formol, solución del gas en agua con aproximadamente 370 g/l (37%) y con metanol (100 ml/l) como estabilizante. Ambas formulaciones se calientan para liberar el gas, que se utiliza en la descontaminación y la desinfección de espacios cerrados como CSB. El formaldehído (un 5% de formol en agua) puede utilizarse como desinfectante líquido. El formaldehído es un agente presuntamente cancerígeno. Se trata de un gas peligroso de olor acre que puede irritar los ojos y las mucosas. Así pues, debe almacenarse y utilizarse con una campana extractora de vapores o en zonas bien ventiladas. Deben observarse las normas nacionales de seguridad de las sustancias químicas.

Glutaraldehído

Al igual que el formaldehído, el glutaraldehído ($\text{OHC}(\text{CH}_2)_3\text{CHO}$) tiene actividad contra formas vegetativas de bacterias, esporas, hongos y virus con y sin envoltura lipídica. No es corrosivo y su acción es más rápida que la del formaldehído. No obstante, tarda varias horas en matar las esporas bacterianas. El glutaraldehído suele suministrarse en forma de solución con una concentración de unos 20 g/l (2%); algunos productos antes de ser utilizados necesitan ser «activados» (alcalinizados) mediante la adición de un compuesto de bicarbonato que se suministra con el producto. La solución activada puede volver a utilizarse durante 1 a 4 semanas, según la formulación y el tipo y la frecuencia de uso. Las tiras reactivas indicadoras que se suministran con algunos productos sólo dan una indicación aproximada de los niveles de glutaraldehído activo disponible en las soluciones en uso. Las soluciones de glutaraldehído deben desecharse si están turbias. El glutaraldehído es tóxico e irritante para la piel y las mucosas; debe evitarse el contacto con él. Debe utilizarse con una campana extractora de vapores o en locales bien ventilados.

No se recomienda en forma de pulverización ni de solución para descontaminar superficies. Deben observarse las normas nacionales de seguridad de las sustancias químicas.

Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos, un grupo amplio de productos, figuran entre los germicidas más antiguos. Sin embargo, los resultados de estudios de inocuidad más recientes recomiendan restringir su uso. Tienen actividad contra las formas vegetativas de las bacterias y contra los virus con envoltura lipídica y, cuando están debidamente formulados, también son activos contra las micobacterias. No tienen actividad contra las esporas y su actividad contra los virus sin envoltura lipídica es variable. Muchos compuestos fenólicos se utilizan para descontaminar superficies ambientales, y algunos (por ejemplo, el triclosán y el cloroxilenol) se encuentran entre los antisépticos más usados. El triclosán es común en los productos para el lavado de manos. Tiene actividad principalmente contra las formas vegetativas de las bacterias y es inocuo para la piel y las mucosas. Sin embargo, en estudios de laboratorio se ha observado que las bacterias con resistencia inducida a bajas concentraciones de triclosán también muestran resistencia a ciertos tipos de antibióticos. Se desconoce el alcance de esta observación sobre el terreno. Algunos compuestos fenólicos son sensibles a la dureza del agua y pueden quedar inactivados con aguas duras; por esa razón, deben diluirse con agua destilada o desionizada. No se recomiendan los compuestos fenólicos para las superficies que entren en contacto con alimentos ni en zonas en las que haya niños pequeños. Pueden ser absorbidos por el caucho y también pueden penetrar en la piel. Deben observarse las normas nacionales en materia de seguridad de las sustancias químicas.

Compuestos de amonio cuaternario

Muchos tipos de compuestos de amonio cuaternario se utilizan como mezclas y a menudo en combinación con otros germicidas, como los alcoholes. Tienen buena actividad contra algunas bacterias en fase vegetativa y virus con envoltura lipídica. Algunos tipos (por ejemplo, el cloruro de benzalconio) se utilizan como antisépticos. La actividad germicida de ciertos tipos de compuestos de amonio cuaternario se reduce considerablemente con la

materia orgánica, las aguas duras y los detergentes aniónicos. Así pues, es necesario tener cuidado en la selección de los agentes empleados en la limpieza previa cuando se vayan a utilizar compuestos de amonio cuaternario para la desinfección. En las soluciones de estos compuestos pueden proliferar bacterias potencialmente nocivas. Debido a su baja biodegradabilidad, estos compuestos también pueden acumularse en el medio ambiente.

Alcoholes

El etanol (alcohol etílico, C_2H_5OH) y el 2-propanol (alcohol isopropílico, $(CH_3)_2CHOH$) tienen propiedades desinfectantes similares. Son activos contra las formas vegetativas de las bacterias, los hongos y los virus con envoltura lipídica, pero no contra las esporas. Su acción sobre los virus sin envoltura lipídica es variable. Para conseguir la máxima eficacia deben utilizarse en concentraciones acuosas de aproximadamente un 70% (v/v): las concentraciones más altas o más bajas pueden no tener tanto poder germicida. Una de las grandes ventajas de las soluciones acuosas de alcoholes es que no dejan residuo alguno en los objetos tratados. Las mezclas con otros agentes son más eficaces que el alcohol por sí solo; por ejemplo, el alcohol al 70% (v/v) con 100 g/l de formaldehído, o el alcohol con 2 g/l de cloro libre. Las soluciones acuosas de etanol al 70% (v/v) pueden utilizarse en la piel, las superficies de trabajo de las mesas de laboratorio y las CSB, así como para sumergir pequeñas piezas de instrumental quirúrgico. Dado que el etanol puede secar la piel, a menudo se mezcla con emolientes. Las fregas de alcohol se recomiendan para descontaminar manos ligeramente sucias en situaciones en las que no es posible o práctico lavarlas. Sin embargo, hay que recordar que el etanol no tiene actividad contra las esporas y quizá no mate todos los tipos de virus sin envoltura lipídica. Los alcoholes son volátiles e inflamables y no deben utilizarse en las proximidades de llamas desnudas. Las soluciones de trabajo deben almacenarse en recipientes apropiados para evitar la evaporación. Los alcoholes pueden endurecer el caucho y disolver ciertos tipos de cola. El inventario y el almacenamiento apropiados del etanol en el laboratorio son sumamente importantes con el fin de evitar que se use para aplicaciones distintas de la desinfección. Los frascos que contengan soluciones con alcohol deben rotularse con claridad para evitar que sean tratados en la autoclave.

Yodo y yodóforos

La acción de estos desinfectantes es análoga a la del cloro, aunque pueden ser ligeramente menos susceptibles a la inhibición por la materia orgánica. El yodo puede manchar los tejidos y las superficies del entorno, y en general no es adecuado como desinfectante. Por otro lado, los yodóforos y las tinturas de yodo son buenos antisépticos.

La povidona yodada es un agente de lavado quirúrgico fiable e inocuo, y sirve como antiséptico cutáneo preoperatorio. El yodo no debe usarse en objetos de aluminio o cobre. El yodo puede ser tóxico. Los productos orgánicos a base de yodo deben almacenarse a 4–10 °C para evitar la proliferación de bacterias potencialmente peligrosas en ellos.

Peróxido de hidrógeno y perácidos

Como el cloro, el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y los perácidos son oxidantes energéticos y pueden servir como potentes germicidas de amplio espectro. Son también más inocuos que el cloro para el ser humano y para el medio ambiente. El peróxido de hidrógeno se suministra en forma de solución al 3% lista para uso como solución acuosa al 30% que debe ser diluida hasta 5–10 veces su volumen en agua esterilizada. Sin embargo, esas soluciones al 3–6% por sí solas son relativamente lentas y limitadas como germicidas. Los productos disponibles hoy en día tienen otros ingredientes para estabilizar el contenido de peróxido de hidrógeno, acelerar su acción germicida y hacerlo menos corrosivo. El peróxido de hidrógeno puede utilizarse para descontaminar las superficies de trabajo del laboratorio y de las CSB. El peróxido de hidrógeno y los perácidos pueden ser corrosivos para metales como el aluminio, el cobre, el latón y el zinc, y también pueden decolorar tejidos, cabellos, piel y mucosas. Los objetos tratados con ellos deben enjuagarse concienzudamente antes del contacto con ojos y mucosas. Siempre se almacenarán alejados del calor y protegidos de la luz.

DESCONTAMINACIÓN DE ESPACIOS Y SUPERFICIES

La descontaminación del espacio, el mobiliario y el equipo de laboratorio requiere una combinación de desinfectantes líquidos y gaseosos. Las superficies pueden descontaminarse con una solución de hipoclorito sódico (NaOCl); una solución

que contenga 1 g/l de cloro libre puede ser apropiada para la limpieza general, pero se recomiendan soluciones más potentes (5 g/l) cuando se trate de situaciones de alto riesgo. Para la descontaminación de espacios y superficies, las soluciones de lejía pueden sustituirse por fórmulas que contengan un 3% de peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Las salas y el equipo pueden descontaminarse por fumigación con formaldehído gaseoso, que se obtiene calentando paraformaldehído o hirviendo formol. Este procedimiento es sumamente peligroso y debe ser realizado por personal especialmente adiestrado. Todas las aberturas del local (ventanas, puertas, entre otros) deben cerrarse con cinta adhesiva o un material análogo antes de que se desprenda el gas. La fumigación debe efectuarse a una temperatura ambiente de al menos 21 °C y una humedad relativa del 70%. Tras la fumigación, la zona debe ventilarse completamente antes de permitir la entrada de personal. Toda persona que entre en la sala antes de la ventilación deberá llevar mascarillas respiratorias apropiadas. Para neutralizar el formaldehído puede utilizarse bicarbonato amónico gaseoso. La fumigación de espacios reducidos con vapores de peróxido de hidrógeno también es eficaz, pero requiere equipo especializado para generar el vapor.

DESCONTAMINACIÓN DE CÁMARAS DE SEGURIDAD BIOLÓGICA

Para descontaminar las CSB de las clases I y II se dispone de aparatos autónomos que generan, ponen en circulación y neutralizan formaldehído gaseoso de forma independiente. Si no se dispone de ese equipo, debe colocarse la cantidad apropiada de paraformaldehído (concentración final de 0,8% de paraformaldehído en el aire) en una sartén sobre una placa eléctrica caliente. En una segunda placa caliente, también dentro de la cámara, se coloca otra sartén con bicarbonato amónico en una cantidad un 10% mayor que el paraformaldehído de la primera sartén. Ambas placas deben estar enchufadas fuera de la cámara para que se pueda controlar su funcionamiento desde el exterior. Si la humedad relativa es inferior al 70%, también debe colocarse una sartén con agua caliente en el interior de la cámara antes de sellar los bordes de la ventana frontal con cinta adhesiva fuerte (cinta aislante, por ejemplo). Sobre la abertura frontal y el orificio de evacuación se fija con cinta adhesiva una lámina de plástico grueso, con el fin de asegurar que el gas no pueda filtrarse a la sala. Los orificios de penetración de los cables eléctricos que pasan por la abertura frontal también deben cerrarse con cinta aislante. Se

enciende la placa con la sartén de paraformaldehído y se apaga cuando se haya evaporado totalmente. La cámara se deja en reposo durante al menos 6 horas. Entonces se enciende la segunda placa y se permite que el bicarbonato amónico se evapore. En ese momento se apaga la placa y se enciende el ventilador de la CSB durante dos intervalos de unos dos segundos para permitir que el gas de bicarbonato amónico circule por el interior. La cámara se dejará en reposo durante 30 min antes de retirar el plástico de la abertura frontal y del orificio de salida de aire. Antes de volver a utilizar la cámara se limpiarán sus superficies con un paño para eliminar los residuos.

LAVADO Y DESCONTAMINACIÓN DE LAS MANOS

Siempre que sea posible, se llevarán guantes apropiados cuando se manipulen materiales biológicos peligrosos. A pesar de ello, los guantes no obvian la necesidad de que el personal se lave las manos de forma regular y correcta. Las manos se lavarán después de manipular materiales biológicos peligrosos y animales, y antes de abandonar el laboratorio. En la mayoría de las situaciones, un lavado concienzudo de las manos con jabón normal y agua basta para descontaminarlas, pero en las situaciones de alto riesgo se recomienda utilizar jabones germicidas. Se formará espuma abundante con el jabón y se frotarán bien las manos, durante un mínimo de 10 segundos; a continuación se aclararán en agua limpia y se secarán con una toalla de papel o un paño limpio (también se pueden utilizar secadores de manos de aire caliente). Se recomiendan los grifos accionados con el pie o el codo. Cuando no existan, debe utilizarse una toalla de papel o paño para cerrar los mandos de los grifos con el fin de evitar volver a contaminarse las manos ya lavadas. Como ya se ha dicho, pueden realizarse friegas con alcohol en las manos para descontaminarlas cuando estén ligeramente sucias y no se pueda lavarlas con agua y jabón.

DESINFECCIÓN Y ESTERILIZACIÓN POR CALOR

El calor es el agente físico más utilizado para la descontaminación de patógenos. El calor «seco», que no es en absoluto corrosivo, se utiliza para tratar muchos objetos del laboratorio que pueden soportar temperaturas de 160 °C o más durante dos a cuatro horas. El calor «húmedo» es especialmente eficaz cuando se utiliza en

autoclave. La cocción no necesariamente mata todos los microorganismos o patógenos, pero puede utilizarse como tratamiento mínimo de desinfección cuando no puedan aplicarse o no estén disponibles otros métodos, como la desinfección o descontaminación química, o el tratamiento en autoclave. Los artículos esterilizados deben manipularse y guardarse de forma que se mantengan descontaminados hasta que se vuelvan a utilizar.

Tratamiento en autoclave

La aplicación de vapor de agua saturado a presión (tratamiento en autoclave) es el medio más eficaz y fiable de esterilizar material del laboratorio. Para la mayoría de los propósitos, los ciclos siguientes garantizarán la esterilización del contenido de la autoclave siempre que se haya cargado correctamente:

1. 3 minutos a 134 °C
2. 10 minutos a 126 °C
3. 15 minutos a 121 °C
4. 25 minutos a 115 °C.



CAPITULO VIII.BIOSEGURIDAD EN LA TECNOLOGÍA DEL ADN RECOMBINANTE

BIOSEGURIDAD EN LA TECNOLOGÍA DEL ADNA RECOMBINANTE

La tecnología del ADN 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. Sin embargo, la ingeniería genética puede desarrollarse en condiciones de seguridad cuando se realizan las debidas evaluaciones de riesgos y se adoptan las medidas de seguridad apropiadas. La tecnología del ADN recombinante, también conocida como ingeniería genética, se utilizó por primera vez para clonar fragmentos de ADN en huéspedes bacterianos a fin de sobreexpresar productos génicos concretos destinados al estudio. Las moléculas de ADN recombinante también se han utilizado para crear organismos genéticamente modificados, como animales transgénicos o con genes inactivados (*knock-out*), así como plantas transgénicas. Esta tecnología ya ha tenido un enorme impacto en la biología y la medicina, y probablemente tenga una influencia aún mayor en el futuro, ahora que se ha determinado la secuencia completa de nucleótidos del genoma humano, bacterias como *E. coli*, y mamíferos rumiantes como el bovino. Gracias a la ingeniería genética podrán estudiarse decenas de miles de genes cuya función aún se desconoce. La terapia génica puede llegar a convertirse en el tratamiento habitual de ciertas enfermedades, y probablemente se obtengan nuevos vectores para la transferencia de genes mediante técnicas de ingeniería genética. Además, las plantas transgénicas producidas mediante esta tecnología pueden desempeñar un papel cada vez más importante en la agricultura moderna. Los experimentos que supongan la creación o el uso de OGM deben realizarse después de efectuar una evaluación del riesgo biológico. Las propiedades patógenas y cualquier peligro potencial asociado a esos organismos pueden ser nuevos y no estar bien caracterizados. Hay que evaluar las propiedades del organismo donante, la naturaleza de las secuencias de ADN que van a transferirse, las

propiedades del organismo receptor y las propiedades del entorno. Esos factores ayudarán a determinar el nivel de bioseguridad que se necesita para manipular sin riesgo el OGM resultante y a identificar los sistemas de contención biológica y física que habrá que emplear.

CONSIDERACIONES DE BIOSEGURIDAD EN RELACIÓN CON LOS SISTEMAS DE EXPRESIÓN BIOLÓGICA

Los sistemas de expresión biológica constan de vectores y células huésped. Para que sean eficaces y puedan utilizarse sin riesgo, es preciso satisfacer varios criterios. Un ejemplo de sistema de expresión biológica es el plásmido pUC18, que se utiliza a menudo como vector de clonación en combinación con células de *Escherichia coli* K12 y ha sido completamente secuenciado. De su plásmido precursor pBR322 se han eliminado todos los genes necesarios para la expresión en otras bacterias. *E. coli* K12 es una cepa no patógena que no puede colonizar permanentemente el intestino del ser humano ni de los animales sanos. Pueden llevarse a cabo sin riesgo experimentos ordinarios de ingeniería genética en *E. coli* K12/pUC18 en el nivel de bioseguridad 1, siempre que los productos de la expresión de ADN extraño insertado no exijan mayores niveles de bioseguridad.

Puede ser necesario trabajar en niveles de bioseguridad más altos en los siguientes casos:

1. Cuando la expresión de secuencias de ADN derivadas de organismos patógenos pueda aumentar la virulencia del OGM
2. Cuando las secuencias de ADN insertadas no estén bien caracterizadas, por ejemplo durante la preparación de genotecas de ADN genómico de microorganismos patogénicos
3. Cuando los productos génicos puedan tener actividad farmacológica
4. Cuando los productos génicos sean toxinas.

VECTORES VÍRICOS PARA LA TRANSFERENCIA DE GENES

Los vectores víricos, por ejemplo los de adenovirus y lentivirus, se utilizan para transferir genes a otras células. Esos vectores carecen de ciertos genes necesarios para la replicación vírica y son propagados en líneas celulares de mamíferos modificadas, ej. 293FT (células de riñón embrionarios). El problema más grave que puede darse con el

manejo de estos virus modificados, es que dichas poblaciones víricas, pueden contaminarse con virus silvestres, propios del personal encargado del laboratorio. De ahí, que es necesario que el personal encargado no presente enfermedades virales relacionadas con estos virus, como VIH. Este tipo de virus deben de manejarse de acuerdo a los protocolos establecidos para los laboratorios de contención nivel III.

ANIMALES TRANSGÉNICOS Y CON GENES INACTIVADOS (KNOCK-OUT)

Los animales que llevan información genética extraña (animales transgénicos) deben manipularse en niveles de contención apropiados para las características de los productos de los genes extraños. Los animales en los que se han suprimido de forma selectiva ciertos genes (*knock-out*) no suelen entrañar riesgos biológicos particulares. Cabe citar como ejemplos de animales transgénicos los animales que expresan receptores de virus normalmente incapaces de infectar a esa especie. Si esos animales salieran del laboratorio y transmitieran el transgén a la población animal salvaje, en teoría podría generarse un reservorio animal de esos virus en particular. Esta posibilidad se ha examinado en el caso de los poliovirus y es particularmente pertinente en el contexto de la erradicación de la poliomielitis. Los ratones transgénicos, generados en distintos laboratorios, que expresaban el receptor de poliovirus humanos eran susceptibles a la infección por poliovirus por varias vías de inoculación, y la enfermedad resultante era análoga a la poliomielitis humana desde los puntos de vista histopatológico y clínico. Sin embargo, el modelo murino difiere del ser humano en que la replicación de los poliovirus administrados por vía oral en el tubo digestivo es poco eficiente o no se produce. Por consiguiente, es muy poco probable que, de escaparse esos ratones transgénicos de un laboratorio, se generase un nuevo reservorio animal de poliovirus. A pesar de todo, este ejemplo indica que en cada nueva línea de animales transgénicos es preciso efectuar estudios detallados para determinar las vías por las que pueden infectarse los animales, el tamaño del inóculo necesario para que se produzca una infección y el grado de excreción de virus por parte de los animales infectados. Además, deben adoptarse todas las medidas posibles para garantizar una contención estricta de los ratones transgénicos receptores.

PLANTAS TRANSGÉNICAS

Las plantas transgénicas que expresan genes que confieren tolerancia a los herbicidas o resistencia a los insectos son actualmente objeto de una controversia considerable en muchos lugares del mundo. El debate gira en torno a la seguridad de esas plantas cuando se utilizan como alimentos, así como a las consecuencias ecológicas a largo plazo de su cultivo. Las plantas transgénicas que expresan genes de origen animal o humano se utilizan para elaborar productos medicinales y nutricionales. Una evaluación del riesgo determinará el nivel de bioseguridad más apropiado para la producción de esas plantas.

EVALUACIÓN DE RIESGOS EN RELACIÓN CON LOS ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

Las evaluaciones de riesgos para trabajar con organismos genéticamente modificados (OGM) deben tener en cuenta las características de los organismos donantes y los organismos receptores/huéspedes. Entre los ejemplos de características que hay que tener presentes cabe citar:

Riesgos derivados directamente del gen insertado (organismo donante)

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:

1. Toxinas
2. Citoquinas
3. Hormonas
4. Reguladores de la expresión génica
5. Factores de virulencia o potenciadores de la virulencia
6. Secuencias oncogénicas
7. Resistencia a antibióticos
8. Alérgenos.

El examen de esos casos debe incluir una estimación del nivel de expresión necesario para conseguir actividad biológica o farmacológica.

Riesgos asociados al receptor/huésped

1. Susceptibilidad del huésped

2. Patogenicidad de la cepa huésped, incluida la virulencia, la infectividad y la producción de toxinas
3. Modificación de la gama de huéspedes
4. Estado inmunitario del receptor
5. Consecuencias de la exposición.

Riesgos derivados de la alteración de rasgos patogénicos existentes

Muchas modificaciones no utilizan genes cuyos productos sean intrínsecamente nocivos, pero pueden producirse efectos adversos de resultados de la alteración de características patogénicas o no patogénicas existentes. La modificación de genes normales puede alterar la patogenicidad. Para intentar determinar esos riesgos, pueden tenerse en cuenta los siguientes aspectos (la lista no es exhaustiva):

1. ¿Hay un aumento de la infectividad o la patogenicidad?
2. ¿Podría superarse cualquier mutación incapacitante en el receptor de resultados de la inserción del gen extraño?
3. ¿Codifica el gen extraño un determinante de patogenicidad de otro organismo?
4. Si el ADN extraño incluye un determinante de patogenicidad, ¿cabe prever que ese gen pudiera contribuir a la patogenicidad del OGM?
5. ¿Se dispone de tratamiento?
6. ¿Se verá afectada la susceptibilidad del OGM a los antibióticos u otra forma de tratamiento a consecuencia de la modificación genética?
7. ¿Podría conseguirse la erradicación del OGM?



CAPITULO IX. SUSTANCIAS QUÍMICAS PELIGROSAS

SUSTANCIAS QUÍMICAS PELIGROSAS

CLASIFICACIÓN.

Una sustancia química peligrosa es aquella que por sus propiedades físicas y químicas al ser manejadas, transportadas, almacenadas o procesadas, presentan la posibilidad de inflamabilidad, explosividad, toxicidad, reactividad, radiactividad, corrosividad o acción biológica dañina, y pueden afectar la salud de las personas expuestas o causar daños a instalaciones y equipos.

La peligrosidad de las sustancias químicas constituye una propiedad inherente o intrínseca que las puede hacer corrosivas, reactivas, explosivas, tóxicas o infamables. El riesgo de las sustancias peligrosas es función de la exposición a ellas, es decir, depende de la forma en que se manejen, por lo tanto puede ser prevenido o reducido.

a). Sustancias corrosivas

Son aquellas que disuelven metales u oxidan materiales. Pueden pertenecer al menos a una de las siguientes clases:

1. Ácidos fuertes
2. Bases Fuertes
3. Oxidantes
4. Sustancias deshidratantes

Ejemplos:

Ácido sulfúrico. Destruye tejidos provocando quemaduras graves

Ácido clorhídrico. Corroe metal e irrita tracto respiratorio

Hidróxido de sodio y potasio. Corroen el zinc, plomo y aluminio

b). Sustancias irritantes.

Este grupo de sustancias provocan eritema, comezón y prurito en las membranas mucosas y en la piel, pueden ser tóxicas o corrosivas, por lo que la mayoría de las antes mencionadas pueden estar en esta categoría

c). Sustancias tóxicas

Son aquellas sustancias que provocan cambios fisiológicos indeseables para la salud de los individuos expuestos. Entre los órganos afectados se encuentran: Corazón, riñones, piel, sistema nervioso central, etc.

Su efecto depende de varios factores

1. Ruta de entrada. Inhalación, absorción, ingestión o entrada directa al torrente sanguíneo
2. Dosis. Cantidad de sustancia que entra al organismo y puede ser medida en: ppm, ppb, mg/kg de peso corporal, etc
3. Susceptibilidad del individuo
4. Otros. Combinación de dos o más sustancias.

Elementos tóxicos

Fósforo. Inhalado , oral o por contacto, causa anemia, disfunción gastrointestinal, fragilidad de huesos y daños gástricos.

Cloro. Irritación del tracto respiratorio, ojos y edema pulmonar

Bromo. Inhalado o ingerido irrita tejidos del tracto digestivo y ocasiona edema pulmonar

Iodo. Irritación de pulmones.

Metales pesados

Berilio. Ocasiona úlceras

Cadmio. Osteomalacia y daños al riñón

Plomo. Daños al sistema nervioso periférico y al riñón.

Arsénico. Daños a pulmones e intestinos, además provoca coagulación de proteínas

Compuestos inorgánicos

Ácido cianhídrico. 60-90 mg ocasiona la muerte

Monóxido de carbono. 10 ppm pérdida de juicio y percepción visual



100 ppm dolor de cabeza

250 ppm pérdida de conciencia

1000 ppm ocasiona la muerte

Ácido clorhídrico La inhalación causa espasmos de laringe y edema pulmonar

Asbestos. Provoca asbestosis, mesotelioma y carcinoma.

Compuestos orgánicos

Alcanos (metano, etano, isobutano). Provocan asfixia

Alquenos y alquinos. Provocan asfixia

Tolueno. En dosis bajas, causa dolor de cabeza, lasitud, falta de coordinación. En dosis altas puede tener efectos narcóticos y causar un estado de coma.

Naftaleno. Provoca anemia. Irritación de la piel, dolor de cabeza, confusión, vómitos y daño al riñón.

Hidrocarburos policíclicos aromáticos . Provoca diversos tipos de cáncer.

Metanol. Inhibición del sistema nervioso central y en dosis altas ocasiona la muerte y provoca ceguera.

Etanol. Deprime el sistema nervioso

Etilenglicol. Estimula y deprime el sistema nervioso central.

Butanol. Irritante de membranas mucosas

Fenoles. Daños a sistema nervioso central y una exposición de más de media hora provoca disturbios gastrointestinales, malfunción del riñón.

Formaldehído. Irrita membranas mucosas y provoca cáncer pulmonar.

MANEJO

Las medidas de seguridad que deben aplicarse en el manejo de sustancias químicas peligrosas son las siguientes:

1. Debe contarse con la cantidad suficiente de regaderas, lavajos, neutralizadores e inhibidores en las zonas de riesgo, para la atención de casos de emergencia.
2. Por la actividad laboral el depósito de sustancias químicas peligrosas en la piel o en la ropa del trabajador pueda ser un riesgo para la salud, por lo que se debe contar con la cantidad suficiente de regaderas, vestidores y casilleros para los trabajadores y proporcionar, en su caso, el servicio de limpieza de la ropa.



3. Debe contarse con un manual de primeros auxilios en el cual se deben definir los medicamentos y materiales de curación que requiere el centro de trabajo y los procedimientos para la atención de emergencias médicas.
4. Proporcionar los medicamentos y materiales de curación necesarios para prestar los primeros auxilios.
5. Asignar, capacitar y adiestrar al personal para prestar los primeros auxilios.
6. Proporcionar el equipo de protección personal.
7. Disponer de instalaciones, equipo o materiales para contener las sustancias químicas peligrosas, para que en el caso de derrame de líquidos o fuga de gases, se impida su escurrimiento o dispersión.
8. Los riesgos que presentan las sustancias químicas en su manejo se clasificarán de acuerdo con los posibles daños a la salud de los trabajadores, susceptibilidad de la sustancia a arder, a liberar energía o cualquier otro tipo de problema en: riesgo de salud, riesgo de inflamabilidad, riesgo de reactividad y riesgo especial.
9. El código para identificar sustancias químicas así como los recipientes que los contengan consistirá en:
 - Nombre o código de la sustancia química
 - Tipo y grado de riesgo
 - Colores (apéndice B)
 - Forma geométrica
 - Información complementaria (riesgo especial, equipo de protección personal, etc.)
10. Se establece DL50 y CL50
 - DL50:** Dosis letal media, significa aquella dosis que es letal al 50% de un grupo homogéneo de animales.
 - CL50:** Concentración letal media por inhalación al 50% de un grupo homogéneo de animales.
11. La señalización debe:
 - 11.1 Ser colocada en los recipientes o en el área a identificar, en los lugares visibles, de manera que no queden ocultas por alguna parte o accesorio o por cualquier otra señalización, para los siguientes casos:

11.1.1 En el caso de una sola sustancia en todo el almacén se puede señalar por área o por recipiente.

11.1.2 Para diferentes sustancias compatibles anaqueles separados, en donde el anaquel contiene una misma sustancia se puede señalar el anaquel o recipiente por recipiente.

11.1.3 Para diferentes sustancias compatibles en un mismo anaquel las opciones serán señalar recipiente por recipiente o la parte del anaquel .

11.1.4 En caso de no poder señalizar el recipiente (laboratorio, control de calidad), se señalizará la canastilla o el portaobjetos donde se transporta la sustancia química.

11.1.5 Cuando un producto sea transportado del almacén al proceso será señalizado recipiente por recipiente.

11.2 Ser colocada en el recipiente en todo el tiempo que se maneje en el área de proceso.

11.3 Mantenerse cuando se transfieran sustancias químicas de recipientes señalizados a otros recipientes.

11.4 Estar marcada, impresa, pintada o adherida al recipiente o colocada en el área a identificar.

11.5 Ser de material resistente, indeleble de acuerdo a las condiciones a las que deba estar expuesta la señalización para evitar que se altere la información y los colores de la misma.

11.6 Identificar la sustancia riesgosa mediante; nombre común, nombre químico o código (si se pretende proteger secretos de marca), mismo que deberá aparecer en las hojas de datos de seguridad.

11.7 Tener la letra, números y los símbolos impresos con un marcador indeleble, tinta negra, usando letra de molde y ocupando un mínimo de proporción de 60 a 70% del área asignada.

12. Equipo de protección personal

12.1 Las rutas de acceso al cuerpo humano son por la inhalación, contacto con piel y mucosas, absorción a través de la piel e ingestión (ojos, piel, nariz y boca).

12.2 Con el fin de procurar la protección para todas las rutas de acceso al cuerpo humano, de una sustancia química, se deben considerar las características



específicas de las sustancias riesgosas tomando en cuenta los números anteriores.

13. Todos los centros de trabajo deben tener la hojas de datos de seguridad de las sustancias químicas que manejen o produzcan. Los fabricantes, importadores o distribuidores tienen la obligación de proporcionar una hoja de datos de seguridad por cada una de las sustancias químicas o mezcla riesgosa que produzca o importe. A fin de que estén disponibles a los trabajadores y encargados de seguridad, y puedan contar con información inmediata para instrumentar medidas preventivas y/o correctivas en el centro de trabajo.

13.1 Cada hoja de datos de seguridad debe estar llena en español.

13.2 La información debe ser confiable a fin de que su uso normal reditue en una atención adecuada para el cuidado de la vida y la salud humana o para controlar la emergencia.

13.3 No se deben dejar espacios en blanco. Si la información requerida no está disponible (ND) o no es aplicable (NA), tendrá que ser indicado.

13.4 Se debe utilizar letra de molde usando tinta o máquina de escribir.

13.5 La Hoja de Datos debe ser revisada y/o actualizada en un periodo no mayor de un año.

14. Debe estar prohibida la ingesta de alimentos en las áreas de trabajo.

15. Se debe prohibir fumar y utilizar flama abierta en las áreas donde esto represente un riesgo.

16. Se debe contar con un botiquín de primeros auxilios



CAPITULO X. OTROS PELIGROS EN EL LABORATORIO

OTROS PERLIGROS EN EL LABORATORIO

El personal que trabaja en el laboratorio puede enfrentarse a peligros debidos a forma de energía como el fuego y la electricidad. En este capítulo se ofrece información acerca de cada una de ellas.

PELIGRO DE INCENDIO

Es indispensable que haya una estrecha cooperación entre los funcionarios de seguridad y los servicios locales de prevención de incendios. Aparte de los riesgos debidos a las sustancias químicas, deben examinarse los efectos del incendio en la posible diseminación de material infeccioso. Esto puede ser determinante a la hora de decidir si es preferible extinguir o contener el incendio. Conviene contar con la ayuda de los servicios locales de prevención de incendios para la capacitación del personal del laboratorio en lo que se refiere a la prevención de incendios, las medidas inmediatas en caso de incendio y el uso del equipo de lucha contra incendios. En cada sala y en los pasillos y vestíbulos deben figurar de forma destacada advertencias sobre incendios, instrucciones e indicaciones de las vías de salida. Las causas más comunes de incendios en los laboratorios son las siguientes:

1. Sobrecarga de los circuitos eléctricos
2. Mal mantenimiento de la instalación eléctrica, como cables mal aislados o con el aislante en mal estado
3. Tuberías de gas y cables eléctricos demasiado largos
4. Equipo que se deja conectado sin necesidad
5. Equipo que no está diseñado para el laboratorio
6. Llamas desnudas
7. Tuberías de gas en mal estado
8. Manipulación y almacenamiento indebidos de material inflamable o explosivo
9. Separación indebida de sustancias químicas incompatibles
10. Aparatos que producen chispas en las proximidades de sustancias y vapores inflamables

11. Ventilación indebida o insuficiente.

El equipo de lucha contra incendios debe colocarse cerca de las puertas de las salas y en puntos estratégicos de los pasillos y vestíbulos. Ese equipo debe comprender mangueras, cubos (de agua o arena) y un extintor. Los extintores deben ser inspeccionados y mantenidos periódicamente y debe respetarse su vida útil.

PELIGROS ELÉCTRICOS

Es indispensable que todas las instalaciones y el equipo eléctricos sean inspeccionados y probados con regularidad, incluida la toma de tierra. Los circuitos eléctricos del laboratorio que lo requieran deben disponer de interruptores de circuito e interruptores por fallo de la toma de tierra. Los interruptores de circuito no protegen a las personas: están concebidos para proteger los cables de las sobrecargas eléctricas y con ello evitar los incendios. Los interruptores por fallo de la toma de tierra tienen por objeto proteger a las personas contra los choques eléctricos. Todo el equipo eléctrico del laboratorio debe tener toma de tierra, preferiblemente mediante enchufes de tres espigas.



ANEXOS

ANEXO 1.

SEGURIDAD DEL MATERIAL

Ciertos elementos del material de laboratorio pueden entrañar riesgos microbiológicos durante su utilización. Otros elementos están específicamente diseñados para evitar o reducir los riesgos biológicos (véase el capítulo 11 del manual).

Material que puede ser peligroso

En el cuadro A 1 se enumeran el material y las operaciones que pueden crear riesgos y se sugieren formas de eliminar o reducir esos riesgos. Además de los riesgos microbiológicos, también es necesario prever y prevenir los riesgos de seguridad asociados al equipo propiamente dicho. En el cuadro A 2 se enumeran algunas causas de accidentes.

Cuadro A 1. Material y operaciones que pueden involucrar riesgos

ELEMENTO DEL EQUIPO	RIESGO	CÓMO ELIMINAR O REDUCIR EL RIESGO
Agujas hipodérmicas	Inoculación accidental, aerosol o derrame	• No tapar de nuevo ni sujetar las agujas. • Utilizar agujas con ajuste de bayoneta para evitar que la aguja se separe de la jeringuilla o utilizar un tipo de jeringuilla desechable en la que la aguja forme parte integrante de la unidad de la jeringuilla. • Utilizar técnicas correctas de laboratorio; por ejemplo: — llenar con cuidado la jeringuilla para reducir al mínimo la formación de burbujas y espuma en el material que se vaya a inyectar — evitar el uso de jeringuillas para mezclar líquidos infecciosos; si se utilizan, asegurarse de que sólo entra la punta de la aguja en el líquido y de no emplear excesiva fuerza — en los recipientes con tapón de caucho, envolver aguja y tapón con un algodón empapado en un desinfectante apropiado antes de retirar la aguja — expulsar el exceso de líquido y las burbujas de aire de la jeringuilla sujetándola en vertical en una torunda de algodón empapada en desinfectante o en un frasquito lleno de algodón.

ELEMENTO DEL EQUIPO	RIESGO	CÓMO ELIMINAR O REDUCIR EL RIESGO
		• Utilizar una CSB para todas las operaciones con material infeccioso. • Sujetar a los animales mientras se los inocula. Utilizar agujas romas o cánulas para inoculaciones intranasales u orales. Utilizar una CSB. • Esterilizar el material en la autoclave después de usarlo y eliminarlo correctamente. Si se usan jeringuillas desechables con aguja incorporada, no separar las agujas antes del tratamiento en autoclave.
Centrifugadoras	Aerosoles, salpicaduras y rotura de tubos	• Utilizar castillos de cierre hermético (de seguridad) o rotores herméticos. Abrir los castillos o rotores una vez que se hayan depositado los aerosoles (30 minutos) o en una CSB.
Ultracentrifugadoras	Aerosoles, salpicaduras y rotura de tubos	• Instalar un filtro HEPA entre la centrifugadora y la bomba de vacío. • Llevar un registro de las horas de funcionamiento de cada rotor y aplicar un programa de mantenimiento preventivo para reducir el riesgo de fallo mecánico. • Cargar y descargar los castillos o rotores en una CSB.
Frascos anaeróbicos	Explosión, de material dispersión infeccioso	• Asegurar la integridad de la cápsula de alambre en torno al catalizador.
Desecadores	Implosión, dispersión de fragmentos de vidrio y material infeccioso	• Colocar en una jaula de alambre fuerte.
Homogeneizadores, trituradores de tejidos	Aerosoles, fugas y rotura de recipientes	• Utilizar y abrir el material en una cámara de seguridad biológica. • Utilizar modelos especiales que evitan las fugas de los cojinetes del rotor y las juntas tóricas, o utilizar el tipo Stomacher. • Antes de abrir la cazoleta del mezclador, esperar 30 minutos a que se deposite la nube de aerosol. Refrigerar para condensar los aerosoles. • Si se utilizan trituradores manuales, sujetar el tubo con un trozo de material absorbente.

ELEMENTO DEL EQUIPO	RIESGO	CÓMO ELIMINAR O REDUCIR EL RIESGO
Desintegradores ultrasónicos, limpiadores ultrasónicos	Aerosoles, lesiones auditivas, dermatitis	• Trabajar y abrir el material en una CSB o unidad cerrada. • Asegurar el aislamiento para proteger contra los sonidos subarmónicos. • Usar guantes para proteger la piel de los efectos químicos de los detergentes.
Dispositivos para remover y agitar cultivos	Aerosoles, salpicaduras y derrames	• Trabajar en una CSB o en un recipiente de contención primaria diseñado especialmente. • Utilizar frascos de cultivo resistentes con tapón de rosca, orificios de salida protegidos con filtros, en caso necesario, y bien sujetos.
Liofilizadores	Aerosoles y contaminación por contacto directo	• Utilizar juntas tóricas para sellar perfectamente el aparato. • Utilizar filtros de aire para proteger el circuito de vacío. • Utilizar un método satisfactorio de descontaminación; por ejemplo, con sustancias químicas. • Disponer un colector de humedad totalmente metálico y un condensador de vapor. • Inspeccionar cuidadosamente todos los recipientes de vacío de vidrio para ver si están rayados. Utilizar sólo cristalería concebida especialmente para trabajar en condiciones de vacío.
Baños de agua	Proliferación de microorganismos. La azida sódica forma compuestos explosivos con algunos metales.	• Garantizar una limpieza y una desinfección periódicas. • No utilizar azida sódica para prevenir la proliferación de organismos.

HEPA: filtración de partículas aéreas de gran eficiencia (del inglés High-Efficiency Particulate Air). CSB: cámara de seguridad biológica.

Cuadro A 2. Causas comunes de accidentes relacionados con el material

ACCIDENTE	CAUSA DEL ACCIDENTE	FORMAS DE REDUCIR O ELIMINAR EL RIESGO
Fallos de diseño o de construcción		
Incendios eléctricos en incubadoras	Ausencia de termostato para el sobrecalentamiento	• Cumplir las normas nacionales.
Choque eléctrico	Ausencia de toma de tierra apropiada	
Uso indebido		
Accidente de centrifugadora	Fallos en el equilibrado de los cestillos en los rotores	• Capacitar y supervisar al personal.
Explosión de la incubadora anaeróbica	Uso de un gas inapropiado	• Capacitar y supervisar al personal.
Adaptación incorrecta		
Explosión en frasco de vacío doméstico	Transporte de nitrógeno líquido en condiciones incorrectas	• Usar equipo especialmente diseñado.
Explosión en refrigerador de tipo doméstico	Sustancia peligrosa no almacenada en recipiente a prueba de chispas o explosiones; por ejemplo, dietiléter con tapón de rosca no hermético	• Almacenar disolventes y extractos con punto de inflamación bajo sólo en refrigeradores o armarios a prueba de chispas/explosiones.
Falta de mantenimiento apropiado		
Fuego en fotómetro de llama	Ensamblaje incorrecto de piezas durante el mantenimiento	• Capacitar y supervisar al personal.



BIBLIOGRAFÍA



Manual de Bioseguridad en el Laboratorio. 3er. Edición. Organización Mundial de la Salud

NOM-114-STPS-1994, Sistema para la identificación y comunicación de riesgos por sustancias químicas en los centros de trabajo.

NOM-087-ECOL-1995, Que establece los requisitos para la separación, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológicos-infecciosos que se generan en establecimientos que presten atención médica.

NOM-005-STPS-1998, Condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo para el manejo, transporte y almacenamiento de sustancias químicas peligrosas.

NOM-026-STPS-1998, Colores y señales de seguridad e higiene, e identificación de riesgos por fluidos conducidos en tuberías.

NOM-012-STPS-1999, Condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo donde se produzcan, usen, manejen, almacenen o transporten fuentes de radiación ionizantes.

NOM-002-STPS-2000, Condiciones de seguridad-prevención, protección y combate de incendios en los centros de trabajo.