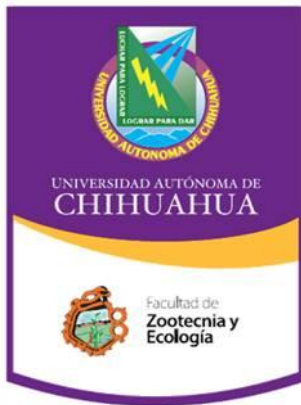


Universidad Autónoma de Chihuahua

Facultad de Zootecnia y Ecología

|                              |                               |
|------------------------------|-------------------------------|
| Código: INF 8.3 FZYE 09      | Página 1 de 12                |
| Fecha de Emisión: 08/06/2011 | Fecha de Revisión: 20/03/2013 |
|                              | Nº de Revisión: 3             |
| Elaboró:                     | COORDINADOR DE ÁREA           |
| Aprobó:                      | SECRETARÍA ADMINISTRATIVA     |



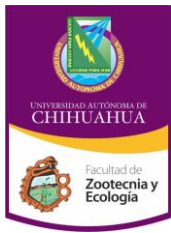
## UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA

### FACULTAD DE ZOOTECNIA Y ECOLOGÍA

# PROTOCOLO DE BIOSEGURIDAD EN EL MANEJO DE LENTIVIRUS

Dr. Everardo González Rodríguez

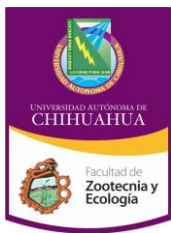
Lab. Biología Molecular y Transgénesis Animal



|                              |                               |
|------------------------------|-------------------------------|
| Código: INF 8.3 FZYE 09      | Página 2 de 12                |
| Fecha de Emisión: 08/06/2011 | Fecha de Revisión: 20/03/2013 |
|                              | Nº de Revisión: 3             |
| Elaboró:                     | COORDINADOR DE ÁREA           |
| Aprobó:                      | SECRETARIA ADMINISTRATIVA     |

### Medidas generales:

- El personal del laboratorio debe cumplir las normas de seguridad.
- El acceso al laboratorio estará limitado al personal autorizado.
- Se debe nombrar una persona encargada de la bioseguridad.
- Todas las áreas estarán debidamente marcadas con la señal de riesgo biológico y su nivel de contención correspondiente. La señal debe incluir el nombre de los agentes en uso, el nombre y teléfono del investigador principal.
- Se colocará en lugar visible una copia del protocolo del laboratorio para tratar los derrames, que deberán leer y comprender todos los usuarios.
- Las puertas y ventanas deben permanecer cerradas para mantener la adecuada contención biológica.
- Todas las superficies de trabajo se limpiarán y desinfectarán diariamente y siempre que se produzca un derrame.
- El laboratorio debe permanecer limpio, ordenado y libre de materiales no relacionados con el trabajo.
- La ropa protectora y equipo de protección debe estar disponible en todo momento.
- La ropa protectora nunca debe ser usada fuera del área de trabajo y si se quita debe de ser desechada automáticamente en una bolsa de material contaminado.
- El personal con el cabello largo debe llevarlo recogido.
- Se debe usar calzado cerrado.
- No deberán usarse lentes de contacto.
- Antes de ingresar al área de trabajo, el personal debe lavar y desinfectar manos y brazos.

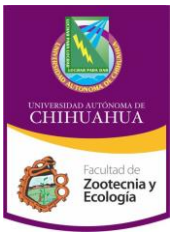


## Universidad Autónoma de Chihuahua

### Facultad de Zootecnia y Ecología

|                                     |                                      |
|-------------------------------------|--------------------------------------|
| <b>Código:</b> INF 8.3 FZYE 09      | Página 3 de 12                       |
| <b>Fecha de Emisión:</b> 08/06/2011 | <b>Fecha de Revisión:</b> 20/03/2013 |
|                                     | <b>Nº de Revisión:</b> 3             |
| <b>Elaboró:</b>                     | COORDINADOR DE ÁREA                  |
| <b>Aprobó:</b>                      | SECRETARIA ADMINISTRATIVA            |

- Todo el personal debe poner especial cuidado en evitar el contacto de la piel con materiales potencialmente infecciosos. Con este fin deben usarse guantes cuando se manipulen muestras o cultivos que contengan posibles patógenos. Los guantes siempre serán retirados antes de salir del área de trabajo. Jamás se saldrá de la misma con los guantes puestos, ni con ellos se cogerá el teléfono, se tocarán las hojas de papel, manijas de las puertas, etc.
- Después de quitarse los guantes, se debe realizar un lavado de manos.
- Se pondrá extremo cuidado en minimizar el riesgo de autoinoculación y de generación de aerosoles.
- Se usarán gafas protectoras y mascarillas faciales si existe riesgo de salpicaduras y/o aerosoles.
- Los derrames y accidentes deben ser informados inmediatamente al encargado de bioseguridad, al investigador principal y hacerse constar por escrito.
- En la zona de trabajo no debe colocarse material de escritorio, si es necesario documentos escritos que hayan de salir del laboratorio, se protegerán de la contaminación mientras se encuentren en éste.
- Comer, beber, fumar y aplicarse cosméticos esta estrictamente prohibido en el área de trabajo del laboratorio.
- Se recomienda utilizar equipo exclusivo, es decir, no compartido con otros laboratorios.
- Todos los recipientes almacenados en refrigeradores y congeladores deben llevaretiquetas 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 caducos deben llevarse a la autoclave y desecharse.
- Debe mantenerse un inventario del contenido de los refrigeradores y congeladores.

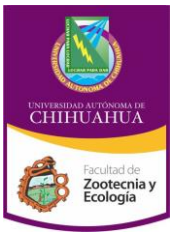


## Universidad Autónoma de Chihuahua

### Facultad de Zootecnia y Ecología

|                                     |                                      |
|-------------------------------------|--------------------------------------|
| <b>Código:</b> INF 8.3 FZYE 09      | Página 4 de 12                       |
| <b>Fecha de Emisión:</b> 08/06/2011 | <b>Fecha de Revisión:</b> 20/03/2013 |
|                                     | <b>Nº de Revisión:</b> 3             |
| <b>Elaboró:</b>                     | COORDINADOR DE ÁREA                  |
| <b>Aprobó:</b>                      | SECRETARÍA ADMINISTRATIVA            |

- EL almacenamiento de comida o bebida se debe realizar fuera del laboratorio en espacios designados solo para ese propósito.
- El personal debe lavarse las manos frecuentemente durante las actividades rutinarias, tras acabar la jornada laboral y siempre antes de abandonar el laboratorio. Se usará un jabón antiséptico y el secado se realizará con papel.
- Las heridas y cortes en las manos, si se han producido en el Laboratorio, serán comunicados al responsable, así como al encargado de Bioseguridad que lo registrará por escrito. Las heridas y cortes deben ser convenientemente vendados y después es imprescindible ponerse guantes.
- Todos los residuos líquidos o sólidos contaminados se descontaminan antes de su eliminación.
- Se debe tener un programa de control de roedores e insectos.



|                              |                               |
|------------------------------|-------------------------------|
| Código: INF 8.3 FZYE 09      | Página 5 de 12                |
| Fecha de Emisión: 08/06/2011 | Fecha de Revisión: 20/03/2013 |
|                              | Nº de Revisión: 3             |
| Elaboró:                     | COORDINADOR DE ÁREA           |
| Aprobó:                      | SECRETARIA ADMINISTRATIVA     |

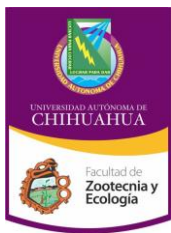
## METODOLOGÍA DE TRABAJO EN EL LABORATORIO PARA GENERACIÓN DE VIRIONES.

### Al iniciar el trabajo:

1. Lavar y desinfectar manos y brazos, prestando especial atención a las uñas.
2. Colocación de guantes especiales para limpieza y desinfección.
3. Todo el material a utilizar (y nada más) se sitúa en la zona de trabajo.
4. Lavar y desinfectar la zona de trabajo y descontaminar el material que se usará.
5. Los movimientos a través de la abertura frontal de la campana de bioseguridad debe reducirse al mínimo colocando todo el material necesario en el interior de esta antes de comenzar las manipulaciones.
6. Encender la lámpara UV de la campana de bioseguridad mínimo 10 minutos.
7. Apagar la UV y encender la luz fluorescente.
8. Limpiar la superficie de trabajo dentro de la campana con alcohol etílico al 70%.
9. Retirar guantes de limpieza y desinfección.
10. Lavar y desinfectar manos y brazos.
11. Colocación de equipo de seguridad adecuado para trabajo (traje, bata, lentes, doble guante, etc.).

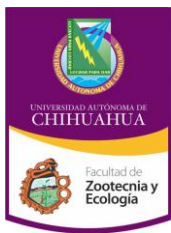
### Durante la manipulación:

1. Se limpia con alcohol etílico el material que se introduce o retira de la campana de bioseguridad.



|                              |                               |
|------------------------------|-------------------------------|
| Código: INF 8.3 FZYE 09      | Página 6 de 12                |
| Fecha de Emisión: 08/06/2011 | Fecha de Revisión: 20/03/2013 |
|                              | Nº de Revisión: 3             |
| Elaboró:                     | COORDINADOR DE ÁREA           |
| Aprobó:                      | SECRETARÍA ADMINISTRATIVA     |

2. Es conveniente esperar aproximadamente un minuto después de meter las manos y los brazos en la campana de bioseguridad antes de comenzar a manipular el material, con el fin de permitir que se ajuste el flujo de aire.
3. Se prestará especial atención a no obstruir las rejillas del aire con materiales o residuos.
4. Se debe tener cuidado de mantener la integridad del flujo de entrada de aire por la abertura frontal al meter y sacar los brazos de la campana de bioseguridad.
5. Los brazos deben moverse con lentitud, perpendicularmente a la abertura frontal.
6. Este material se coloca con un orden lógico, de manera que el material contaminado se sitúa en un extremo de la superficie de trabajo y el no contaminado ocupa el extremo opuesto de la misma.
7. Es conveniente recordar que cuanto más material se introduzca en la campana de bioseguridad, la probabilidad de provocar turbulencias de aire se incrementa.
8. Las bolsas para desechar material biológico hacia la autoclave no deben colocarse fuera de la cámara. Los frecuentes movimientos de entrada y salida necesarios para eliminar el material perturban el flujo de aire y puede poner en peligro la protección tanto del personal como del producto.
9. Mantener al mínimo la actividad del laboratorio, a fin de evitar corrientes de aire que perturben el flujo laminar, el cual se altera por corrientes de aire ambientales provenientes de puertas o ventanas abiertas, movimientos de personas, sistema de ventilación del laboratorio, etc.
10. No se debe introducir papeles a la campana de bioseguridad
11. Está rigurosamente prohibido pipetear con la boca. Se realizará pipeteo automático con material adecuado y cada trabajador será instruido para manejarlo debidamente.
12. Todas las pipetas tendrán tapones de algodón para reducir la contaminación de los dispositivos de pipeteo.
13. No se colocará ningún material en la boca.

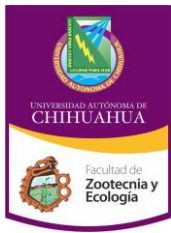


|                              |                               |
|------------------------------|-------------------------------|
| Código: INF 8.3 FZYE 09      | Página 7 de 12                |
| Fecha de Emisión: 08/06/2011 | Fecha de Revisión: 20/03/2013 |
|                              | Nº de Revisión: 3             |
| Elaboró:                     | COORDINADOR DE ÁREA           |
| Aprobó:                      | SECRETARÍA ADMINISTRATIVA     |

14. No se debe tocar el rostro.
15. Los tubos empleados deben estar perfectamente etiquetados.
16. Manejar en tubos cerrados herméticamente el material biológico fuera de la zona de trabajo.
17. Los tubos con material biológico que serán congelados no deben ser llenados en su totalidad. El transporte del material biológico dentro o entre laboratorios se realizará de tal manera que, en caso de caída, no se produzcan salpicaduras. Lo recomendable es hacerlo en cajas herméticas o hieleras rígidas y resistentes a los golpes, contar con materiales absorbentes en su interior y de fácil desinfección. Las cajas de transporte se etiquetarán o identificarán de forma oportuna y no podrán ser utilizadas para otros fines. Bajo ningún concepto se deben transportar las muestras en la mano.
18. Cuando se centrifugue material biológico deben utilizarse tubos cerrados; la centrífuga debe disponer de rotores con tapas herméticas de seguridad que protejan al operador de los posibles aerosoles.
19. Los tubos para centrifugar deben cargarse, equilibrarse, cerrarse y abrirse en una campana de bioseguridad.

#### **Al finalizar el trabajo:**

1. Limpiar el exterior o desechar el material que se haya contaminado.
2. Vaciar la campana de bioseguridad por completo de cualquier material.
3. Limpiar y descontaminar la superficie de trabajo. La descontaminación final de las superficies debe incluir la limpieza de la superficie de trabajo, los laterales, la cara posterior y el interior de la ventana de cristal de la campana de bioseguridad.
4. Dejar encendida la lámpara UV por lo menos 5 minutos.
5. Retirar el equipo de seguridad empleado.



|                              |                               |
|------------------------------|-------------------------------|
| Código: INF 8.3 FZYE 09      | Página 8 de 12                |
| Fecha de Emisión: 08/06/2011 | Fecha de Revisión: 20/03/2013 |
|                              | Nº de Revisión: 3             |
| Elaboró:                     | COORDINADOR DE ÁREA           |
| Aprobó:                      | SECRETARIA ADMINISTRATIVA     |

6. Los residuos y muestras peligrosas que van a ser incinerados fuera del laboratorio deben ser transportados en contenedores cerrados, resistentes e impermeables.
7. Lavar y desinfectar las manos y brazos antes de salir del área de trabajo
8. Los instrumentos se sumergirán en hipoclorito de sodio (20 g de cloro libre por litro:2%) durante 1h y a continuación se enjuagarán cuidadosamente en agua a fin de eliminar los residuos de hipoclorito de sodio.

## PLAN DE EMERGENCIAS DEL LABORATORIO EN LA PRODUCCIÓN DE LENTIVECTORES

### 1. DERRAMES Y SALPICADURAS

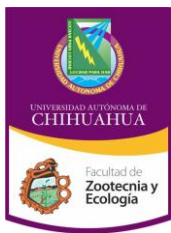
**Lavado.** Primero se eliminan los restos cristal, plástico, medio, etc., después se lava con un detergente acuoso y a continuación se inicia la desinfección. Hay que tener en cuenta que cualquier sustancia orgánica (medio) es extraordinariamente bloqueante de la capacidad oxidativa del hipoclorito sódico y de la capacidad de actuación de los iodóforos; por ello, la norma es **primero limpiar y después desinfectar**.

Los fragmentos de vidrio deberán ser manipulados con pinzas.

Se debe usar guantes en todas las operaciones.

**Desinfección.** Se empleará un desinfectante preferentemente líquido.

### DERRAMES Y SALPICADURAS EN LA CAMPANA DE SEGURIDAD:



|                              |                               |
|------------------------------|-------------------------------|
| Código: INF 8.3 FZYE 09      | Página 9 de 12                |
| Fecha de Emisión: 08/06/2011 | Fecha de Revisión: 20/03/2013 |
|                              | Nº de Revisión: 3             |
| Elaboró:                     | COORDINADOR DE ÁREA           |
| Aprobó:                      | SECRETARIA ADMINISTRATIVA     |

En caso de accidente dentro de la campana de seguridad que involucre una contaminación importante, es necesario tomar medidas urgentes y drásticas para hacerle frente a la contingencia.

### 1) Limpieza de la CSB

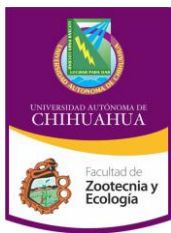
- No detener la campana de bioseguridad, debe continuar trabajando durante todo el proceso.
- Eliminar los restos sólidos correctamente.
- Retirar los restos líquidos con toallas de papel

### 2) Desinfección de la CSB.

- Con guantes y bata protectora, extender un desinfectante en cantidad suficiente para empapar toda la superficie de trabajo e inundar la cubeta inferior.
- En estas circunstancias no se recomienda el uso de alcohol ya que, debido al gran volumen que se necesita, puede existir peligro de incendio.
- Dejar que actúe el desinfectante antes de recogerlo todo y empezar la limpieza de la campana.
- Depositar todo lo recogido en una bolsa de autoclave, incluidos los guantes utilizados. Dejar funcionando la Campana de seguridad durante 10 minutos más y a continuación:

### 3) Limpieza de la CSB.

- Con alcohol etílico al 70% retirando todos los restos de desinfectante.
- A criterio del responsable, si es necesario, se practicará una descontaminación general de la Campana de Seguridad, incluidos los filtros. Esta acción se realiza en función de la peligrosidad del agente y del volumen del derrame.



|                              |                               |
|------------------------------|-------------------------------|
| Código: INF 8.3 FZYE 09      | Página 10 de 12               |
| Fecha de Emisión: 08/06/2011 | Fecha de Revisión: 20/03/2013 |
|                              | Nº de Revisión: 3             |
| Elaboró:                     | COORDINADOR DE ÁREA           |
| Aprobó:                      | SECRETARIA ADMINISTRATIVA     |

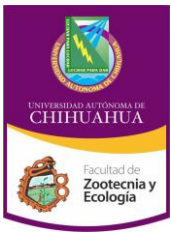
## 2. TUBOS ROTOS DENTRO DE LA CENTRÍFUGA

Se exigirá siempre la presencia del encargado de bioseguridad. En ocasiones se puede detectar el accidente antes de abrir la centrífuga, si se ha estado presente durante el proceso de centrifugación, por el cambio de ruido en el funcionamiento de la máquina. Como esto no siempre sucede, deberá existir un entrenamiento para cuando se observe el accidente al abrir la centrífuga: cerrar la centrífuga y hacer salir inmediatamente a todo el personal prescindible del área. Vestirse como en el caso de las salpicaduras (el aerosol puede ser importante), cerrar la habitación y:

1. Desinfectar la centrífuga por fuera.
2. Esperar 30 minutos.
3. Abrir la centrífuga con precaución.
4. Se debe utilizar guantes fuertes (por ejemplo de goma gruesa) cubiertos con guantes desechables.
5. Colocar todas las muestras no rotas en una gradilla o recipiente hermético (bolsa de autoclave) y llevarlas a la campana de bioseguridad para manipularlas allí.
6. Sacar los trozos de vidrio con pinzas o algodón manipulado con pinzas.
7. Llevar las cubetas o cestillos con desinfectante y el rotor, si es posible, a la autoclave.
8. Desinfectar la centrífuga por dentro y dejar actuar 20 minutos.
9. Todo el material empleado para la limpieza se debe tratar como material contaminado

## 3. 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.



|                              |                               |
|------------------------------|-------------------------------|
| Código: INF 8.3 FZYE 09      | Página 11 de 12               |
| Fecha de Emisión: 08/06/2011 | Fecha de Revisión: 20/03/2013 |
|                              | Nº de Revisión: 3             |
| Elaboró:                     | COORDINADOR DE ÁREA           |
| Aprobó:                      | SECRETARÍA ADMINISTRATIVA     |

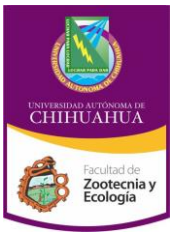
- Buscar la atención médica que sea precisa. Se notificará la causa de la herida y los microorganismos implicados; se mantendrán registros médicos apropiados y completos.
- Se notificará al investigador principal y al encargado de bioseguridad quien lo registrará por escrito.

#### **4. 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.
- Se notificará al investigador principal y al encargado de bioseguridad quien lo registrará por escrito.

#### **5. EMISIÓN DE AEROSOL POTENCIALMENTE INFECCIOSO (FUERA DE UNA CAMPANA DE BIOSEGURIDAD)**

- Todas las personas prescindibles deberán evacuar inmediatamente la zona afectada.
- Las personas expuestas serán enviadas a recibir atención médica en caso de que sea necesario.
- Se informará inmediatamente al investigador principal y al encargado de bioseguridad.
- Nadie podrá entrar en el área durante 24 horas ya que el laboratorio no cuenta con un sistema central de evacuación de aire para permitir que los aerosoles puedan salir y descendan las partículas más pesadas.
- Se colocarán señales indicando que está prohibida la entrada.



## Universidad Autónoma de Chihuahua

### Facultad de Zootecnia y Ecología

|                              |                               |
|------------------------------|-------------------------------|
| Código: INF 8.3 FZYE 09      | Página 12 de 12               |
| Fecha de Emisión: 08/06/2011 | Fecha de Revisión: 20/03/2013 |
|                              | Nº de Revisión: 3             |
| Elaboró:                     | COORDINADOR DE ÁREA           |
| Aprobó:                      | SECRETARÍA ADMINISTRATIVA     |

- Al cabo del tiempo apropiado, se procederá a la descontaminación bajo la supervisión del encargado de bioseguridad. Para ello habrá que utilizar ropa protectora y protección respiratoria apropiada.

## 6. INCENDIOS Y CATÁSTROFES NATURALES

Se debe evacuar el laboratorio de manera tranquila y ordenada.

Dar aviso a los servicios de emergencia locales correspondientes.