

24807

60069

26 MAR. 2012

Centro de Documentación

CORPORACION COLOMBIANA DE INVESTIGACION AGROPECUARIA

MANUAL DE NORMAS DE BIOSEGURIDAD PARA CORPOICA

Preparado por: José Barrera
Esperanza Cortés
Alba Marina Cotes
Constanza Gutierrez
Helena Reichel
Ricardo Torres

Reg.4
001

E50

B177

2363

Versión Abril 10 de 1997

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCION	4
1.1 Disposiciones Generales.....	4
1.2 Aplicabilidad General	5
2. USO DE MATERIAL RADIOACTIVO	5
2.1 Prerrequisitos para el Manejo de Radioactividad	6
2.2 Zona de Trabajo	6
2.3 Usuarios.....	8
2.4 Desechos Radioactivos	10
2.5 Rayos X.....	10
2.5.1 Zona de Trabajo	11
2.5.2 Usuarios.....	11
2.6 Análisis por Difracción de Rayos X.....	12
2.6.1 Usuarios.....	12
3. GUIAS PARA INVESTIGACIONES QUE INVOLUCRAN MOLECULAS DE ADN RECOMBINANTE.....	12
3.1 Moléculas de ADN Recombinante.....	13
3.2 Niveles de Contención.....	13
3.2.1 Zona de Trabajo	14
3.2.2 Usuarios.....	14
3.3 Plantas Transgénicas	15
3.4 Riesgos por Plantas Transgénicas con Resistencia a Agentes Virales.....	15
3.5 Riesgos por Plantas Transgénicas con Resistencia a Insectos	15
3.5.1 Zona de Trabajo	16
3.5.2 Usuarios.....	17
3.6 Areas de Cuarentena	18
3.7 Experimentación en el Campo con Material Transgénico.....	18
3.7.1 Zona de Trabajo	18
3.7.2 Usuarios.....	18

3.8 Importación de Organismos, Microorganismos, Patógenos Vegetales, Animales y Organismos Modificados Genéticamente 19

4. GUIAS PARA EL MANEJO DE MICROORGANISMOS PATOGENOS 19

4.1 Principios Generales..... 20

4.2 Rutas de Infección..... 20

4.3 Exposición en el Laboratorio..... 21

4.4 Fuentes de Exposición..... 21

4.5 Contención de Riesgos Biológicos..... 22

4.5.1 Diseño del Laboratorio 22

4.5.2 Sistema de Ventilación..... 22

4.5.3 Cabinas de Seguridad Biológica 23

4.6 Prácticas y Procedimientos..... 23

4.6.1 Zona de Trabajo 24

4.6.2 Usuario 25

4.7 Eliminación de Desechos Contaminados con Agentes Infecciosos 26

4.8 Planes de Emergencia..... 26

4.9 Estado de Salud y Otras Consideraciones..... 27

5. GUIAS PARA EL MANEJO DE COMPUESTOS QUIMICOS..... 28

5.1 Zona de Trabajo 28

5.2 Usuarios..... 29

5.3 Carcinógenos, Químicos y Mutágenos..... 30

6. APENDICE A 32

6.1 CLASIFICACION DE MICROORGANISMOS CON BASE EN EL RIESGO 32

7. APENDICE B 36

7.1 Resumen de Desinfectantes Prácticos para el Uso en el Laboratorio..... 36

8. APENDICE C 38

8.1 Información y Manejo de Algunos Compuestos Tóxicos Específicos..... 38

8.1.1 Acetato de Uranilo 38

8.1.2 Acetona.....	38
8.1.3 Acido Acético	38
8.1.4 Acido Clorhídrico	38
8.1.5 Acido Sulfúrico.....	39
8.1.6 Acrilamida.....	39
8.1.7 Bromuro de Etidio.....	40
8.1.8 Cloroformo	41
8.1.9 Dietilpirocarbonato (depc).....	42
8.1.10 Dodecil Sulfato de Sodio (sds).....	42
8.1.11 Fenol.....	42
8.1.12 Formaldehido.....	43
8.1.13 8-hidroxiquinolina	43
8.1.14 Naftalina.....	44
8.1.15 Nitrógeno Líquido	44
8.1.16 Ruido	44
8.1.17 Calor.....	44

9. APENDICE D 45

9.1 Acuerdo de Seguridad del Trabajador de Laboratorio..... 45

10. APENDICE E 47

10.1 Recomendaciones Generales y Precauciones para el Personal de Apoyo (aseadores, plomeros, electricistas). 47

11. APENDICE F 48

11.1 Formato de Información sobre Irregularidades sobre Bioseguridad 48

12. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS 49

MANUAL DE NORMAS DE BIOSEGURIDAD PARA CORPOICA

1. INTRODUCCION

En la actualidad los diferentes Programas de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA) están llevando a cabo procesos de investigación que podrían implicar algún grado de riesgo para el personal de investigación y el medio ambiente.

Teniendo en cuenta que se deben seguir normas de bioseguridad precisas en los laboratorios de CORPOICA y de conformidad con lo establecido por el Decreto 614 de 1984, Resolución 2013 de 1986 y Resolución 1016 de 1989 sobre la constitución y funcionamiento de los Programas de Salud Ocupacional a nivel de la empresa (Comité de Medicina, Higiene y Seguridad Industrial) con los cuales se deben mantener acciones armónicas, se elaboró el siguiente manual de normas con base en:

1. Material radioactivo y Rayos X.
2. Material transgénico, productos de la ingeniería genética.
3. Microorganismos.
4. Compuestos químicos.

En este manual se establecen algunas disposiciones generales, se da información sobre normas generales de conducta para el usuario y requisitos de las facilidades de los laboratorios.

1.1 Disposiciones Generales

1. Se estableció en CORPOICA un Comité de Bioseguridad, el cual está integrado por los siguientes miembros: Dr. Ricardo Torres (Subdirector de Investigación Estratégica, CORPOICA), Dr. José del Carmen Barrera (Programa de Biotecnología Animal, CEISA), Dra. Alba Marina Cotes (Programa MIP, CORPOICA), Dra. Esperanza Cortés (Programa Salud Animal, CEISA), Dra. Constanza Gutierrez (Bienestar Social, Sede Central) y Dra. Helena Reichel (Programa de Biotecnología Agrícola, CORPOICA). Se nombró como Presidente del Comité al Dr. Ricardo Torres, como coordinador al Dr. José del C. Barrera y como secretaria a la Dra. Helena Reichel.

2. Todo funcionario que sospeche que en alguna unidad de CORPOICA se esté manejando material que de una u otra manera implique riesgo para el personal, debe informar al Subdirección de Investigación Estratégica de CORPOICA.

3. Para la utilización de materiales que podrían implicar riesgo para la salud y el medio ambiente, se deberá solicitar por escrito la aprobación al Comité de Bioseguridad.

1.2 Aplicabilidad General

Estas normas serán aplicables a las investigaciones con material radioactivo, Rayos X, ADN recombinante, microorganismos y compuestos químicos que realice CORPOICA tanto en sus instalaciones como fuera de ellas en caso de trabajos cooperativos. Igualmente, personas de otras instituciones nacionales o internacionales que desarrollen alguna actividad en CORPOICA, deberán seguir las normas establecidas en este manual.

2. USO DE MATERIAL RADIOACTIVO

El material radioactivo esta constituido por radioisótopos los cuales emiten radiaciones que pueden causar mutaciones de punto en la piel, o causar graves daños como cáncer (daño somático), si el personal se expone sin las debidas precauciones a este material o si las partículas entran al organismo (i.e., por ruta oral o heridas en la piel). Toda manipulación de radioisótopos implica un riesgo, por consiguiente toda exposición se deberá reducir al mínimo valor razonable. Se establece como límite para la contaminación superficial permisible 10^{-5} $\mu\text{Ci}/\text{cm}^2$ para emisores alfa y 10^{-4} $\mu\text{Ci}/\text{cm}^2$ para emisores beta o gamma.

El daño al organismo también puede ser debido a la exposición acumulativa de los radioisótopos. El efecto de la radiación en ovarios o testículos puede ocasionar esterilidad y daños en el material genético de óvulos o espermatozoides que puede pasar de generación en generación. En el caso del Azufre 35 (^{35}S) se emiten radiaciones de tipo beta (β), las cuales pueden causar cáncer. En caso de ser ingerido, el decaimiento de las partículas puede causar también otras enfermedades graves al ser incorporado en proteínas que contengan azufre. Dado que el ^{35}S dura aproximadamente tres meses en su decaimiento, durante este tiempo sigue emitiendo radiaciones beta. Quien manipula ^{35}S puede evitar la exposición a esta radiación por contacto directo mediante el uso de guantes plásticos.

Otro radioisótopo es el Fósforo 32 (^{32}P) el cual emite radiaciones de tipo gamma (γ). Este radioisótopo tarda aproximadamente cinco meses en decaer totalmente, y durante este tiempo, sigue emitiendo radiaciones. Las partículas gamma pueden ser detenidas por escudos de material acrílico de 1/2 pulgada o por láminas de plomo que se utilizan para la protección del usuario. El personal que manipula este radioisótopo debe usar guantes de plástico dobles, desechables y gafas protectoras, aunque las partículas gamma no son totalmente detenidas por estos.

2.1 Prerrequisitos para el Manejo de Radioactividad

En investigación se utilizan diferentes radioisótopos en procesos de secuenciación de ácidos nucleicos e identificación de genes específicos mediante el uso de sondas radiomarcadas, entre otros.

Para la utilización de material radioactivo (^{35}S , ^{32}P , ^{125}I) en los experimentos, se solicitará al Comité de Bioseguridad su aprobación mediante el diligenciamiento de un formato, y previo estudio de los procedimientos, lugar, plano con la localización de los equipos, sitio de lavado, preparación de materiales y eliminación de desechos. Además, se deberá presentar una certificación sobre manejo de radioisótopos por parte de los usuarios y se deberá contar con el permiso de su utilización expedido por el Instituto de Ciencias Nucleares y Energías Alternativas (INEA). El permiso será intransferible al igual que los dosímetros correspondientes para la determinación de exposición a cada tipo de radioisótopo.

2.2 Zona de Trabajo

En cada Centro de Investigación de CORPOICA que requiera el uso de radioisótopos se dispondrá de un solo Laboratorio de Radioactividad con las siguientes condiciones:

1. La puerta del Laboratorio de Radioactividad será identificada con el símbolo internacional de radioactividad y deberá permanecer cerrada en todo momento. Igualmente, todos los equipos y accesorios que se utilicen en este cuarto serán identificados y serán de uso único y exclusivo para el manejo de la radioactividad.
2. Se deberá contar con superficies de trabajo lisas.
3. El suelo y las paredes deberán ser de material polimérico industrial lavable, que no tenga rendijas.
4. Las tomas eléctricas serán colgantes con el fin de evitar la contaminación no lavable.
5. Deberá disponerse de buena iluminación con lámparas tipo de tipo fluorescente para todo trabajo con elementos radioactivos. En caso de iluminación deficiente, deberá evitarse toda manipulación de radioactividad.

6. Se deberá disponer de pantallas tipo escudo de material de acrílico de 1/2 pulgada de espesor para la protección personal y de materiales absorbentes (con base plástica) para cubrir el área de trabajo.

7. Para almacenar los desechos radiactivos líquidos y sólidos se utilizarán recipientes con contenedores individuales en acrílico de 1 cm de espesor. También se usarán canecas y bolsas debidamente marcadas.

8. Para el manejo de materiales biológicos radiactivos se utilizarán contenedores acrílicos.

9. El monitoreo de contaminación en el área de trabajo se hará con un contador Geiger y con instrumentos con capacidad de detección de partículas beta y gamma. Dicho monitoreo se realizará antes, durante y después de realizado el trabajo. Cualquier anomalía se registrará y reportará al supervisor encargado nombrado por el Comité de Bioseguridad para estos efectos, quien tendrá a su cargo las funciones que se establecen en el Apéndice F (Formato para información sobre irregularidades de Bioseguridad); además aplicará las acciones correctivas necesarias.

10. Los instrumentos de monitoreo serán inspeccionados y calibrados por el INEA por lo menos una vez al año.

11. En el Laboratorio de Radioactividad se dispondrá de elementos para la descontaminación de material radioactivo, tales como:

- Botellón plástico para el almacenamiento y transferencia de material.
- Tambor de fibra de 30 galones recubierta de plástico.
- Forros protectores para zapatos.
- Respiradores, guantes.
- Platos plásticos.
- Toallas absorbentes.
- Bolsas plásticas, escobas, esponjas, cepillos.
- Señales de advertencia.

12. En el Laboratorio de Radioactividad se prepararán, se someterán a electroforesis y se secarán los geles radioactivos. Igualmente, habrá un lavamanos de tamaño amplio y profundo que permita lavar los vidrios de electroforesis.

13. En el Laboratorio de Radioactividad se dispondrá de: Cabina extractora de gases, un baño de María o preferiblemente de bloques térmicos, microcentrífuga, termociclador (PCR), reverberos, nevera, contador de centelleo, pipeteadores, escudos protectores, secuenciador de geles, secador de geles, fuente de poder, gradillas, horno de hibridización, cajas de material acrílico, tijeras, embudos, termómetros, cajas de puntas desechables y vidriería en general, los cuales serán de uso único y exclusivo para manejo de radioactividad. Con el mismo fin, se colocarán lápices y

bolígrafos en varios sitios del laboratorio, los cuales tendrán el símbolo de radioactividad y no podrán ser removidos a otros sitios.

14. Los radioisótopos y el material radiomarcado tanto en uso como en almacenamiento, se guardará en un refrigerador que estará localizado en el Laboratorio de Radioactividad. Este refrigerador tendrá el símbolo internacional de radioactividad. A través de las paredes del refrigerador no deberá detectarse radiación lo cual podrá evitarse mediante el uso de cajas especiales de material acrílico o de plomo que permita almacenar viales que contengan el material radioactivo.

15. Cuando se trabaje con líquidos radioactivos, se utilizará papel absorbente con soporte plástico. Se dispondrá de platonos plásticos con capacidad para retener el volumen manipulado y evitar derrames.

16. En caso de un derrame, se demarcará el área y se evitará el acceso al personal. Los objetos contaminados se marcarán y protegerán con un escudo de acrílico mientras se realiza el proceso de descontaminación con toallas absorbentes y soluciones descontaminantes (Count off®)

17. En el Laboratorio de Radioactividad se dispondrá de canecas únicas y exclusivas para almacenar temporalmente los desechos de materiales radioactivos. Para los desechos sólidos de ^{35}S se utilizará una caneca plástica forrada en su interior con una bolsa plástica. Para los desechos sólidos de ^{32}P se utilizará una caneca de material de acrílico de 1/2 pulgada de grosor o una caneca con lámina de plomo. Estas canecas serán identificadas con el signo internacional de radioactividad y con el radioisótopo utilizado.

2.3 Usuarios

1. Únicamente el personal debidamente autorizado por el Comité de Bioseguridad de acuerdo a los prerequisites establecidos anteriormente, podrá trabajar en el Laboratorio de Radioactividad. Queda rotundamente prohibido el acceso al área restringida de mujeres embarazadas, de lactantes, aseptadoras(es) y de niños.

2. Por lo menos una vez al año, se dará un entrenamiento al personal autorizado sobre los riesgos de trabajo con radioisótopos, el uso de técnicas apropiadas de manejo y comportamiento en caso de emergencia. La asistencia a estos eventos será de carácter obligatorio, ratificada mediante la firma del funcionario para poder continuar trabajando con radioisótopos.

3. En los laboratorios de CORPOICA en donde se manejen radioisótopos, el Comité de Bioseguridad asignará a un Investigador con funciones de supervisión, quién será la persona de referencia en casos de emergencia y velará por la implementación y cumplimiento de las medidas

establecidas. Dicha asignación será por un periodo de un año, al cabo del cual, se reasignará a otra persona del grupo de investigación.

4. Se llevará un libro de registro del uso que incluya, la fecha, nombre del usuario, equipo a utilizar y horas de entrada y salida, con las observaciones pertinentes. Igualmente se deberá registrar la fecha de recibo de material radioactivo, tipo de radioisótopo, cantidad total, actividad, persona que recibió el material, fecha y cantidad utilizada por cada usuario.

5. El personal que manipule material radiactivo debe tener un dosímetro que detecte emisiones beta en el caso de ^{35}S y radiaciones gamma para ^{32}P , de uso personal y exclusivo. El dosímetro deberá colocarse en la parte expuesta a las radiaciones y se prohíbe que éste sea transeferido a terceros. Mensualmente los dosímetros serán enviados al INEA para determinar el nivel de exposición del usuario cuyos resultados deberán ser remitidos tanto al usuario como al Comité de Bioseguridad.

6. Queda terminantemente prohibido el ingreso al área restringida de personal que no tenga el permiso respectivo. El personal que ingrese, deberá utilizar una bata protectora de manga larga identificada con el símbolo internacional de radioactividad y será obligatorio el uso de guantes dobles desechables en el laboratorio.

7. Queda prohibido que el personal que manipule material radioactivo salga a las áreas comunes con dicha bata y guantes. La bata deberá tener el símbolo internacional de radioactividad o ser de un color distintivo, diferente al blanco. Esta deberá permanecer en un módulo aislado anexo al cuarto de radiactividad cuando no se esté trabajando. Los guantes se desecharán después del trabajo y el operario lavará sus manos con agua y jabón antes de salir del Laboratorio de Radioactividad, previa comprobación de la ausencia de contaminación del cuerpo o de la ropa, mediante el uso del contador Geiger.

8. Las batas de laboratorio deberán monitorearse para asegurar que estén libres de radioactividad antes de ser enviadas a la lavandería.

9. Quedará terminantemente prohibido consumir alimentos, masticar chicle, fumar o aplicarse maquillaje en áreas de trabajo con material radioactivo.

10. Quedará prohibido pipetear con la boca y se deberán utilizar pipetas con puntas desechables.

11. No deben colocarse efectos de uso personal, tales como libros, cuadernos, lápices, gafas, etc. sobre las superficies en donde se trabaja con material radiactivo. Todo material que salga del área restringida, debe monitorearse con el contador Geiger.

12. En caso de un derrame de material radioactivo, éste deberá limpiarse inmediatamente para evitar que se seque y pueda diseminarse por corrientes de aire.

2.4 Desechos Radioactivos

1. Se prohíbe guardar residuos líquidos radioactivos en la zona de trabajo del Laboratorio de Radioactividad. Estos se almacenarán separadamente en botellones plásticos adquiridos para este propósito y se colocarán permanentemente dentro de contenedores acrílicos que se ubicarán en un lugar aislado y exclusivo, el cual será demarcado por el Comité de Bioseguridad. El transporte de los desechos radioactivos envasados al sitio de almacenamiento, se hará en platonos plásticos con capacidad de contener el líquido transportado en caso de un derrame. Los botellones tendrán indicada la fecha de adición de los desechos radioactivos y no se deberán mezclar (ejemplo desechos de ^{35}S con los de ^{32}P). A las basuras radioactivas sólidas se les dará un tratamiento similar y se deberán almacenar separadamente.

2. La información necesaria para identificar los botellones que contienen desechos líquidos y los recipientes que contienen desechos sólidos será la siguiente:

- a. Tipo de radioisótopo.
- b. Fecha de terminación de llenado del recipiente.
- c. Fecha en que se cumplirán 10 vidas medias, las cuales corresponden a cinco meses para ^{32}P y 30 meses para ^{35}S .

3. Las superficies (suelos, paredes y mesones) del lugar de almacenamiento de material radioactivo deberán ser fáciles de descontaminar en caso de ser necesario.

4. El lugar de almacenamiento deberá estar perfectamente identificado con el símbolo de material radioactivo y deberá impedirse el acceso a éste del personal no autorizado.

2.5 Rayos X

En agricultura, los Rayos X se utilizan en sistemas de detección de compuestos en suelos, plantas, agua, etc. Desde la primera utilización de los Rayos X en 1895 se han registrado daños en las personas expuestas sin precaución debido a los rayos ionizantes generados. Estos daños consisten en ulceración de la piel, dermatitis, leucemias, daño fetal, esterilidad y en casos mas severos, ocasiona carcinoma de la glándula mamaria, del pulmón y del estómago.

Los daños ocasionados por las radiaciones ionizantes han llevado al establecimiento de parámetros para las dosis que podrían recibir las personas cuya actividad implica el manejo de fuentes radioactivas. El operador de equipos debe calcular la dosis que puede producir la fuente que manipula y también, los métodos para una minimización racional de los niveles de exposición. Lo anterior se logra utilizando tiempos mínimos de exposición, distancias mínimas razonables entre el

operador y la fuente, blindaje adecuado entre el operador y la fuente y un monitoreo permanente de las áreas de trabajo.

2.5.1 Zona de Trabajo

1. La puerta principal de entrada será identificada con el símbolo internacional de Rayos X.
2. Se prohíbe el acceso al personal no autorizado.

2.5.2 Usuarios

1. En el cuarto de Rayos X, toda persona deberá colocarse un delantal y guantes de material de plomo.
2. Se limitará la cobertura del haz de Rayos X con un cono o dirigiendo y adecuando el diafragma del aparato emisor al tamaño de la película que se este utilizando.
3. No se dirigirá el haz de Rayos X hacia áreas contiguas de trabajo.
4. Se tendrá un filtro de aluminio de 2 mm de espesor instalado en la boca del tubo de proyección para remover Rayos X suaves.
5. La parte inferior de la mesa de Rayos X se cubrirá con una lámina de plomo, para proteger los pies del operario.
6. Se evitará colocar las manos (con o sin guantes) en el haz de Rayos X.
7. Se deberán utilizar películas detectoras de radiación para medir si por alguna razón se están recibiendo exposiciones excesivas de Rayos X, especialmente en los dedos.
8. Los guantes y delantales de plomo se deterioran con el uso y manejo inapropiado. Por consiguiente, éstos deberán ser periódicamente radiografiados para localizar la presencia de fisuras que permitan que los Rayos X pasen a través de éstas.
9. Para evitar fisuras en los delantales de plomo, éstos deberán colocarse sobre una superficie curva. Los guantes deberán colgarse permitiendo que el aire circule por su interior.

2.6 Análisis por Difracción de Rayos X

El equipo utilizado para el análisis de suelos por difracción de Rayos X, es un sistema cerrado, blindado que provee altas condiciones de seguridad para evitar la fuga de radiaciones ionizantes; por lo tanto, no se requieren adaptaciones especiales de la zona de trabajo ni extremas precauciones por parte del usuario. A pesar de lo anterior, se debe verificar la ausencia de escapes de Rayos X con alguna periodicidad.

2.6.1 Usuarios

1. El usuario no deberá mirar directamente el diafragma del tubo de Rayos X cuando esté en funcionamiento y nunca deberá mirar la muestra cuando está siendo expuesta a los Rayos X.
2. Siempre se deberá bloquear el rayo primario cerrando el diafragma antes de colocar la muestra en el difractor. A pesar de que algunos equipos tienen un sistema de cerrado automático, nunca deberá confiarse en éste. El usuario deberá escuchar el sonido que emite el diafragma cuando se cierra y deberá inspeccionar la luz del diafragma antes de abrir la puerta.
3. Deberá evitar introducir las manos en el generador de Rayos X o en los tableros de los circuitos electrónicos del equipo debido al riesgo de exposición a descargas eléctricas peligrosas (15 a 60 KV).

3. GUIAS PARA INVESTIGACIONES QUE INVOLUCRAN MOLECULAS DE ADN RECOMBINANTE

La biotecnología moderna ofrece un potencial para aumentar la eficiencia de los métodos actuales de producción en diversas áreas como la agricultura, la industria farmacéutica, la industria alimenticia, los procesos de diagnóstico y de tratamientos médicos, la industria química, los procesos de protección ambiental y biorremediación, entre otros. En el campo científico, la biotecnología ofrece herramientas que permiten profundizar el conocimiento de las bases moleculares, de la fisiología de la interacción de organismos, bien sean plantas, animales o microorganismos. Lo anterior es básico para el desarrollo de nuevas estrategias científicas.

Los avances en las nuevas biotecnologías son el resultado de los progresos en la investigación básica que se adelanta en los laboratorios y en el campo. A nivel molecular, las técnicas de ADN recombinante están posibilitando el desarrollo de organismos transgénicos (plantas, animales y microorganismos) mediante la transferencia y manipulación de genes de un organismo a otro. Sin

embargo, es importante tener en cuenta los posibles riesgos involucrados tanto en los procesos como en los productos obtenidos.

Considerando los avances en el desarrollo de la biotecnología en CORPOICA, es necesario contemplar la aplicación de normas y estructuras regulatorias para minimizar los riesgos potenciales que podría tener para la salud pública, el medio ambiente y las actividades de producción agropecuarias.

El propósito de esta sección es el de especificar las prácticas para la construcción y el manejo de moléculas de ADN recombinante y de organismos y virus que contienen moléculas de éste. Esta sección ha sido dividida en tres partes:

1. ADN recombinante
2. Plantas transgénicas
3. Experimentación en el campo

3.1 Moléculas de ADN Recombinante

Las moléculas de ADN recombinante se definen como: 1. Moléculas contruidas fuera de las células vivas mediante la unión de segmentos naturales o sintéticos de ADN a moléculas de ADN que pueden replicarse en una célula viviente, o 2. Moléculas de ADN que resultan de la replicación de las descritas anteriormente.

Los segmentos de ADN sintético que puedan producir polinucleótidos o polipéptidos de peligro potencial (toxinas o agentes farmacológicamente activos) deberán ser considerados equivalentes a su contraparte de ADN natural.

3.2 Niveles de Contención

Debido a que diversos laboratorios han desarrollado planes efectivos de seguridad biológica, existe considerable información sobre las facilidades de contención y selección de procedimientos de laboratorio aplicables a organismos que portan ADN recombinante.

Se han descrito cuatro niveles de bioseguridad que corresponden a combinaciones de prácticas de laboratorio, técnicas, equipos de seguridad y facilidades de laboratorio apropiadas para los trabajos desarrollados y el riesgo asociado con los agentes, funciones y actividad de laboratorio. El nivel 4 exige las condiciones más estrictas de contención (ver las guías para el manejo de microorganismos patógenos).

Los experimentos con ADN recombinante por su naturaleza, implican un tercer mecanismo de contención, es decir, la aplicación de barreras biológicas altamente específicas. De hecho existen barreras naturales que limitan bien sea la infectividad del vector o vehículo (plásmido o virus) para hospederos específicos, o su sobrevivencia en el medio ambiente. Los vectores que proveen los medios para la replicación de ADN recombinante y/o las células hospederas en las cuales se replican, pueden estar diseñados genéticamente para disminuir en muchas órdenes de magnitud la posibilidad de diseminación de moléculas de ADN recombinante fuera del laboratorio.

Los tres medios de contención involucran:

1. Conjunto de prácticas de uso general de microbiología.
2. Procedimientos especiales, equipo, instalaciones de laboratorio que proveen barreras físicas.
3. Barreras biológicas altamente específicas que son complementarias. Por lo tanto, se deben establecer diferentes niveles de contención apropiados a los experimentos con diferentes recombinantes, mediante la aplicación de combinaciones variadas de las barreras físicas y biológicas, paralelas al uso constante de prácticas rutinarias generales.

3.2.1 Zona de Trabajo

1. El Comité de Bioseguridad designará áreas exclusivas para trabajos con material de alto y bajo riesgo.
2. Los laboratorios deberán estar preferiblemente ubicados dentro de las instalaciones de contención para los diferentes niveles (descritos en la Sección de Microorganismos), que incluyan invernaderos y cámaras de crecimiento que prevengan la difusión de agentes en el caso de plantas. Los laboratorios deberán estar equipados con autoclaves y cabinas de seguridad biológica con filtros de aire tipo HEPA.

3.2.2 Usuarios

1. Las superficies de trabajo se deberán descontaminar con frecuencia, especialmente después de derrames de material viable peligroso, debiendo utilizar para ello sustancias químicas denaturantes adecuadas y toallas desechables.
2. Todo desecho antes de ser eliminado deberá ser esterilizado por autoclave. Los desechos radioactivos deberán ser tratados de acuerdo con las guías correspondientes (ver normas para el Manejo de Material Radioactivo), al igual que los productos químicos (ver normas para el Manejo de Compuestos Químicos).

3. Los usuarios deberán vestir batas de laboratorio en todo momento. Estas no podrán utilizarse fuera del laboratorio y antes de someterlas a lavado, deberán ser esterilizadas por autoclave.

3.3 Plantas Transgénicas

La obtención de plantas que expresen resistencia a agentes virales ha sido un gran éxito de la ingeniería genética. Plantas que antes eran susceptibles a enfermedades virales hoy pueden ser resistentes a dichos agentes, debido a los avances de la biotecnología. Existen también plantas transgénicas que producen sustancias insecticidas por ejemplo aquellas que contienen los genes cry procedentes de la bacteria Bacillus thuringiensis (Bt), los cuales son tóxicos para insectos plagas como los lepidópteros.

Debido a la obtención de plantas transgénicas, existen ya muchas con resistencia a herbicidas, enfermedades y plagas, las cuales hace diez años eran susceptibles a ellas. Este método no convencional ha aportado grandes avances para la agricultura. Sin embargo, es importante tener en cuenta que también existen ciertos riesgos como los que a continuación se describen:

3.4 Riesgos por Plantas Transgénicas con Resistencia a Agentes Virales

El riesgo de la creación de nuevos virus que causen nuevas enfermedades es bajo en plantas transgénicas. Sin embargo, cuando se analizan los riesgos de plantas transgénicas con resistencia a virus recombinantes de ARN, es importante considerar que pueden surgir otros virus recombinantes que deben ser tenidos en cuenta. Algunos recombinantes ARN-ARN han sido demostrados para cuatro grupos de virus de plantas. Las cápsides proteicas transgénicas, pueden transcapsidar ARN virales heterólogos y promover la transmisión de virus por vectores. Por ejemplo es posible que el ARN de viroides sea encapsidado por cápsides proteicas del virus del enrollamiento de la papa (PLRV), en plantas transgénicas que expresen el gen de la proteína de la cápside del PRLV y que éstos sean transmitidos por áfidos.

3.5 Riesgos por Plantas Transgénicas con Resistencia a Insectos

La incorporación de otros tipos de resistencia, como la resistencia a los lepidópteros debido a la presencia de la delta endotoxina de Bacillus thuringiensis (Bt), podría cambiar la dinámica del cultivo, las malezas y las comunidades de insectos. Se ha señalado que la incorporación de ésta toxina en el tomate, eliminaría las plagas de lepidópteros pero posiblemente estimularía otras plagas. Actualmente no se ha encontrado expresión del gen en el nectar de las flores, si esto ocurriera dicha toxina podría causar daño a insectos polinizadores benéficos como las abejas.

La supervisión de los organismos transgénicos y especialmente las plantas transgénicas es prioritaria si se tiene en cuenta que actualmente varios países incluyendo a Colombia, tienen especímenes con características de mayor resistencia a enfermedades o factores medioambientales adversos, existiendo gran interés para la realización de pruebas de campo previos a su comercialización.

A pesar de que en Colombia no se tiene aún experiencia con la liberación de organismos modificados genéticamente al medio ambiente, CORPOICA acorde con su desarrollo y requiere de la adecuación y/o construcción de invernaderos e instalaciones de bioseguridad con las características y guías de manejo descritas a continuación.

La importancia de estas instalaciones permite investigar en condiciones controladas los efectos impredecibles que sobre la organización del material biológico (plantas, microorganismos, etc.) puede tener la introducción de genes nuevos o modificados. Por lo tanto, no se puede permitir ningún tipo de escape de este material solo o a través de vectores.

3.5.1 Zona de Trabajo

1. Se construirá un invernadero único y exclusivo para el estudio, de plantas transgénicas.
2. El invernadero tendrá un aviso indicando la presencia de dicho material.
3. Este invernadero será de vidrio y no de malla (para evitar la entrada de vectores, por ejemplo, insectos).
4. El invernadero tendrá una entrada con doble puerta, por razones de seguridad.
5. En el interior del invernadero se colocarán módulos que contendrán las plantas transgénicas de los diferentes ensayos.
6. El invernadero tendrá en su interior trampas amarillas con adhesivo para insectos. En caso de detectarse su presencia se procederá a fumigar con insecticidas. También se utilizarán fungicidas si se considera necesario.
7. El sistema de ventilación tendrá filtros que eviten la entrada de insectos y no permitirá la dispersión del polen o de microorganismos hacia el exterior.
8. El aire de entrada y salida será tratado con filtros tipo HEPA.
9. En el interior del invernadero deberá mantenerse una presión de aire negativa.

10. Se colocará un libro de control de asistencia que incluya nombre del usuario, horas de entrada, salida y observaciones.

11. Se colocará una alarma de seguridad que indique la presencia de intrusos.

12. El invernadero deberá contar con una planta eléctrica de emergencia para suplir fallas en el sistema eléctrico central.

13. El invernadero deberá tener tanques de agua de reserva.

14. Alrededor de las instalaciones del invernadero se deberá ejercer un control estricto sobre el crecimiento de malezas, roedores e insectos. Se recomienda tener una plancha de cemento o andén alrededor de las instalaciones.

3.5.2 Usuarios

1. El acceso al invernadero estará restringido únicamente al personal autorizado.

2. Al entrar y salir del invernadero se colocará una solución desinfectante sobre la cual el personal caminará para descontaminar el calzado.

3. A la entrada y salida del invernadero el personal deberá lavar sus manos.

4. El usuario utilizará siempre tierra estéril para la siembra del material vegetal transgénico, la cual será esterilizada por autoclave después de su utilización.

5. Al tomar muestras de tejido de plantas transgénicas, se utilizarán guantes para evitar la inoculación mecánica de agentes virales.

6. Se prohíbe fumar en el invernadero.

7. El usuario deberá utilizar agua estéril para rociar las plantas transgénicas.

8. Todo material de desecho (agua, material vegetal transgénico, etc.) será esterilizado por autoclave.

9. Los usuarios deberán tratar todos los efluentes del invernadero por métodos térmicos o químicos antes de su eliminación a los sistemas de alcantarillado local.

10. El material vegetal transgénico que salga del invernadero para su análisis posterior en otros laboratorios, será transportado en contenedores herméticamente cerrados y desinfectados. Este material una vez utilizado será autoclavado y eliminado.

3.6 Areas de Cuarentena

Las áreas de cuarentena seguirán las mismas consideraciones indicadas para los invernaderos de material vegetal transgénico.

3.7 Experimentación en el Campo con Material Transgénico

Para pruebas de campo en pequeña escala de materiales que requieren aislamiento especial, se deberá diligenciar un formulario de solicitud (ver modelo en el Apéndice) como base para su revisión del Comité de Bioseguridad. Si la solicitud es aprobada, CORPOICA solicitaría por escrito la autorización a las instancias Oficiales correspondientes (ICA) para adelantar la investigación. Una vez obtenido el permiso por escrito, el investigador de CORPOICA estará autorizado para iniciar el trabajo.

Es importante realizar estudios ecológicos relativos a la seguridad en el sitio geográfico específico, considerando el nivel freático, las condiciones climáticas y la ubicación geográfica apropiada en relación con la proximidad de la biota que pudiera verse afectada.

3.7.1 Zona de Trabajo

1. Las parcelas deberán estar protegidas de la entrada de animales o insectos, mediante cercas, anillos y jaulas para plantas.
2. El terreno del experimento estará situado en un lugar aislado.

3.7.2 Usuarios

1. Se prohíbe adelantar experimentos de campo con plagas y patógenos exóticos.
2. Se prohíbe la entrada de personal no autorizado a las parcelas.



3. El usuario deberá garantizar que no habrá diseminación de polen y semillas a plantas transgénicas (esto puede ser logrado mediante la remoción de flores). Si las flores son necesarias para pruebas y experimentación posterior, las inflorescencias/flores deberán ser cubiertas antes de su maduración.

4. El usuario deberá tomar otras medidas de protección según lo indique el ICA o el Comité de Bioseguridad, para asegurar el aislamiento de partes cosechadas de plantas.

Otros parámetros necesarios deberán ser identificados por un comité asesor para cada ensayo específico el cual será designado por el Comité de Bioseguridad.

3.8 Importación de Organismos, Microorganismos, Patógenos Vegetales, Animales y Organismos Modificados Genéticamente

Para la introducción de estos agentes biológicos a los laboratorios de CORPOICA se tendrán las siguientes consideraciones:

1. La introducción de estos agentes; estará reglamentada por la legislación nacional de cuarentena. Las solicitudes de introducción de materiales serán remitidos a la Dirección de Sanidad Vegetal y/o Animal del Ministerio de Agricultura (ICA) previa aprobación del Comité de Bioseguridad.

2. La aprobación de introducción y uso estará sujeta a las condiciones del invernadero y del laboratorio una vez definidas las condiciones de bioseguridad (Nivel 3). La salida de material para pruebas de campo debe ser aprobada por el Comité de Bioseguridad, de acuerdo con las condiciones anteriormente mencionadas.

4. GUIAS PARA EL MANEJO DE MICROORGANISMOS PATOGENOS

Las actividades de investigación relacionadas con la manipulación de microorganismos van desde su caracterización morfológica, bioquímica, genética, hasta su manipulación mediante técnicas de ingeniería genética.

La mayoría de los riesgos biológicos no sólo están relacionados con la manipulación de microorganismos infecciosos o tóxicos presentes en los laboratorios de investigación, clínicos o de enseñanza, sino que también incluye a los animales de investigación capaces de transmitir enfermedades al personal de laboratorio, o los relacionados con la contaminación del medio ambiente.

El objeto de estas guías es el de asegurar que el personal de laboratorio con las debidas precauciones y facilidades, maneje el material biológico sin riesgo para si mismo, sus asociados y el medio ambiente.

Investigadores y técnicos aún con experiencia en el manejo de microorganismos deben ser muy precavidos con los peligros relacionados con esta actividad. Especial importancia merecen aquellas personas con poca o ninguna experiencia en microbiología quienes manejan material biológico potencialmente infeccioso.

Estas guías de seguridad relacionan prácticas para trabajar adecuadamente, mantener orden en los sitios de trabajo, conservar una adecuada higiene personal y un plan para atender accidentes.

4.1 Principios Generales

Para una aproximación racional a la bioseguridad compatible con los riesgos involucrados, es necesario tener algún conocimiento de la naturaleza física y biológica de los patógenos potenciales que se estén manejando, de las fuentes o procedimientos mas adecuados para mantener y/o diseminar el agente y los mejores métodos para su inactivación.

En general, los microorganismos se han clasificado con base en el riesgo, es decir, facilidad de transmisión, poder invasivo, virulencia, capacidad de causar enfermedad y letalidad de patógenos específicos. En el Apéndice A se presenta una lista de parásitos, hongos, micoplasmas, bacterias, clamidias, rickettsias y virus, clasificados según su orden de patogenicidad. Los microorganismos de la Clase 1 (C1) corresponden a cepas de baja o ninguna patogenicidad y en la medida que se asciende a los de la Clase 4 (C4) se incluyen microorganismos de mayor peligro. Cada clase tiene una lista de facilidades de contención (C1 - C4) y prácticas de laboratorio a utilizarse según el patógeno.

Los microorganismos de la Clase 1 requieren solamente de instalaciones de laboratorio corrientes, mientras que aquellos en la Clase 4 necesitan el máximo de contención posible. La mayoría de agentes que se manejan experimentalmente en CORPOICA son Clase 1, 2 y 3, designados como de bajo, moderado y alto riesgo respectivamente. Varios de estos agentes requieren de facilidades más restrictivas que los laboratorios corrientes, así como de un manejo especial y procedimientos de descontaminación.

4.2 Rutas de Infección

Se ha documentado un amplio número de casos de infecciones en los laboratorios con diferentes rutas de transmisión de patógenos. La más común es la inhalación de aerosoles infecciosos o

polvos, ingestión a partir de manos o utensilios contaminados o autoinoculaciones (inyección o incisión).

4.3 Exposición en el Laboratorio

Aunque muchos de los microorganismos son no patógenos o de baja virulencia para animales y el hombre deben manejarse con precaución evitando exposiciones innecesarias. Se debe establecer una conciencia de seguridad en todo lo relacionado con el manejo de microorganismos para cual es importante asumir una actitud positiva y duradera sobre bioseguridad.

El trabajo en el laboratorio con microorganismos patógenos, incrementa el riesgo de contaminación al igual que el uso de animales infectados con dichos agentes infecciosos.

Las personas que desarrollan trabajos de diagnóstico a partir de especímenes clínicos, tienen un riesgo potencial de exposición a los agentes infecciosos. Debe también tenerse en cuenta que la ausencia de un diagnóstico de un agente infeccioso, no significa necesariamente la eliminación de su presencia.

4.4 Fuentes de Exposición

- Muestras clínicas y patológicas

Cualquier material de origen animal o humano puede contener agentes infecciosos, tal es el caso de sangre, suero, orina, leche, materia fecal y tejidos. También, ciertos animales pueden portar patógenos propios que podrían ser potencialmente virulentos para humanos. Todas las muestras de simios deben manejarse como si fueran infecciosas.

- Cultivos

El derrame accidental de cultivos infecciosos es un riesgo obvio de contaminación debido a la posibilidad de crear aerosoles (gotitas que contienen microorganismos). Sin embargo, aún la manipulación rutinaria de cultivos puede liberar dichos microorganismos. La remoción de corchos de frascos con cultivos o la apertura de frascos luego de una agitación vigorosa, también puede generar estos aerosoles. Las técnicas menos vigorosas como la siembra de bacterias en agar o la esterilización de utensilios contaminados con la llama, puede producir partículas suspendidas en el aire. La expulsión de la gota final de una pipeta, es una fuente común de aerosoles. Por lo tanto, cualquier manipulación que se haga en microplacas de material infeccioso debe ser hecho cuidadosamente para evitar la producción de aerosoles o su derramamiento.

La siembra de hongos y bacterias debe hacerse en cabinas de flujo laminar y no en los mesones del laboratorio debido a la posible liberación de esporas que pueden ser inhaladas por el personal.

La liofilización de cultivos viables de microorganismos puede liberar altas concentraciones de partículas dispersas si las ampollas no son selladas adecuadamente. Así mismo, la ruptura de ampollas en términos de nitrógeno líquido puede también representar un riesgo debido a la sobrevivencia y dispersión del patógeno en la fase líquida.

- Animales

Se debe tener un máximo cuidado cuando se utilizan animales para aislar y/o propagar microorganismos, en los estudios de patogenia o en la producción de anticuerpos. Muchos animales de laboratorio portan microorganismos latentes que pueden producir enfermedad en el humano luego de una mordedura, rasguño o liberación del microorganismo al ambiente. En el proceso de inoculación de un animal, el operario puede exponerse al material infeccioso por autoinoculación accidental o inhalación de partículas suspendidas en el aire. Este mismo riesgo existe durante los procedimientos quirúrgicos, necropsias y procesamiento de tejidos. Las excretas animales también pueden ser fuente de microorganismos infecciosos. Deben tomarse las precauciones para minimizar la formación de aerosoles y polvo durante el cambio de camas o limpieza de jaulas.

4.5 Contención de Riesgos Biológicos

Aunque el aspecto más importante en el control de riesgos biológicos es la precaución del personal en el manejo de materiales infecciosos, ciertas características de diseño de laboratorios, ventilación y equipo de seguridad pueden prevenir la diseminación de patógenos en caso de accidentes.

4.5.1 Diseño del Laboratorio

Entre más virulento sea el microorganismo, mayores condiciones de contención física serán requeridas. La contención primaria es dada por el uso adecuado de equipos de seguridad. En segundo lugar el diseño mismo de los laboratorios es importante y debe estar a cargo de personal calificado.

4.5.2 Sistema de Ventilación

El aspecto más importante para los laboratorios de contención es que la presión de aire sea más baja en éste que en los corredores adyacentes. La presión negativa diferencial asegurará que el aire entre al laboratorio y no salga hacia los pasillos. Las puertas de los laboratorios deben mantenerse

cerradas tanto como sea posible para mantener esta presión negativa. Además, el aire expelido por los laboratorios de bioseguridad no debe ser recirculado en el edificio, sino conducido por ductos especiales y liberado en un sitio distante de la entrada de aire al laboratorio. En situaciones especiales, el aire de salida debe ser filtrado a través de filtros HEPA (high efficiency particulate), que retienen los microorganismos más pequeños.

4.5.3 Cabinas de Seguridad Biológica

Los aerosoles infecciosos pueden ser controlados en una cabina de seguridad biológica si ésta funciona correctamente y es usada apropiadamente. Estos aparatos de contención funcionan mediante un sistema de barrera de cortinas de aire que es filtrado (HEPA) antes de entrar al área de trabajo y antes de salir de la cabina. Para un adecuado funcionamiento, el flujo de aire debe ser regulado y los filtros HEPA canalizados para la ausencia de escapes. Es imperativo que las cabinas sean controladas anualmente, o más frecuentemente según se requiera ya que su uso continuo y las vibraciones tienden a afectar sus funciones. Los controles deben hacerse por personal especializado en el área.

Existen dos variedades de cabinas Clase II apropiadas para el manejo de patógenos ubicadas según el riesgo en Clases 2 o 3.

Tipo A: Recirculan un 70% del aire interno y liberan un 30% del aire filtrado hacia el laboratorio.

Tipo B: Recirculan un 30% del aire interno y liberan un 70% al exterior a través de un ducto. Debido al mayor margen de seguridad, pequeñas cantidades de compuestos químicos carcinógenos no volátiles o materiales radioactivos pueden ser usados en estas cabinas.

Las cabinas de la Clase III son totalmente cerradas y la manipulación de elementos se hace con guantes especiales. Estas cabinas se utilizan para las operaciones biológicas de altísimo riesgo. Las cabinas de la Clase III no deben confundirse con las cámaras anaeróbicas.

Es importante tener en cuenta que las cabinas de flujo laminar horizontal no son cabinas de seguridad biológica y nunca deben usarse para trabajos de alto riesgo biológico o químico.

4.6 Prácticas y Procedimientos

Las siguientes recomendaciones son solamente importantes para la prevención de infecciones en el laboratorio y para reducir la contaminación del material experimental.

4.6.1 Zona de Trabajo

El sitio en donde se manipulen microorganismos potencialmente patógenos o contaminantes debe ser hermético y sus techos, pisos y paredes deberán ser de superficies lisas, estar pintadas con materiales fácilmente lavables.

La zona de trabajo no debe tener grietas ni aristas que sirvan de reservorios de contaminación. Tampoco debe permitir corrientes de aire que contribuyan a la entrada de contaminantes o a la salida de patógenos. Este recinto debe poseer lámparas de luz ultravioleta germicida (UV 200 - 290 nm). El interruptor de dicha lámpara debe ser ubicado fuera del laboratorio para evitar la exposición del usuario a los rayos ultravioleta. Esta lámpara deberá ser encendida al terminar la jornada de trabajo y apagada por lo menos una hora antes de iniciar labores.

1. Las puertas del laboratorio deberán permanecer cerradas y el acceso de personal debe ser limitado.
2. Cuando se utilicen microorganismos patógenos para animales y el hombre, el signo de riesgo biológico y la identificación de los agentes en uso deberá ser colocada a la entrada del laboratorio.
3. Las superficies de mesones o cabinas en las que se manipule material altamente peligroso, deberá cubrirse con papel absorbente provisto de una cubierta plástica, para absorber el posible material derramado.
4. Las superficies de trabajo se deberán limpiar y desinfectar adecuadamente al terminar el trabajo o experimento y luego de derrames de material infeccioso.
5. Todos los materiales infectados deberán ser descontaminados por calor o químicamente, antes de su eliminación.
6. Todo medio de cultivo o sustrato que contenga hongos o bacterias deberá ser esterilizado por autoclave inmediatamente después de terminado su análisis.
7. Todos los accidentes y derrames peligrosos deberán reportarse al supervisor del laboratorio.
8. Se deberá mantener un riguroso orden de elementos en el laboratorio y se realizarán procesos de limpieza y desinfección semanal.
9. Quedará terminantemente prohibido el uso de los lavamanos presentes en los laboratorios y en los baños, para el lavado de: traperos, utensilios de aseo, pocillos de tinto, vasos, platos, etc.
10. Se deberá avisar oportunamente al personal de aseo y auxiliares de laboratorio sobre las áreas y lugares de acceso restringidos.

4.6.2 Usuario

1. Antes de empezar el trabajo, el usuario deberá planear las labores y organizar los materiales y el equipo a utilizar.
2. Los elementos personales tales como chaquetas, carteras, bolsos, botas, y libros no deberán mantenerse en el laboratorio.
3. No se permitirá comer, beber, mascar chicle, fumar o aplicarse cosméticos en el laboratorio.
4. No se permitirá el almacenamiento de comidas en los refrigeradores de los laboratorios ni en los cuartos fríos.
5. No se calentarán alimentos ni en hornos microondas ni en incubadoras u hornos de secado de material del laboratorio.
6. No se deberán guardar alimentos en los bolsillos de las batas de laboratorio.
7. La manipulación de agentes infecciosos o contaminantes deberá hacerse en cabinas de seguridad. Las características de dichas labores dependerán del tipo de organismo que se trabaje.
8. La manipulación de microorganismos en las cabinas de flujo laminar horizontal exige por parte del usuario la utilización de lentes de protección.
9. Al manipular microorganismos el usuario deberá mantener las manos lejos de la cara y el cabello.
10. Siempre que se trabaje con agentes infecciosos se vestirá una bata de laboratorio de manga larga, completamente cerrada. La necesidad de utilización de lentes de protección, guantes, gorros, máscaras o respiradores y aún de protectores de calzado, dependerá del organismo bajo estudio y de las manipulaciones a realizar.
11. En ninguna de las labores relacionadas con la manipulación de microorganismos se permitirá pipetear con la boca. Para tal fin, deberán utilizarse ayudas mecánicas como propipetas y peras de caucho.
12. Después de manipular materiales infecciosos o contaminantes y antes de salir del laboratorio, el usuario deberá siempre quitarse la bata de laboratorio y los guantes protectores y lavarse las manos con agua y jabón. Las manos se secarán con toallas de papel desechables.

13. Los procedimientos que generan aerosoles como agitación, macerado, sonicación, mezcla y licuado deberán realizarse en cabinas de seguridad biológica. El usuario deberá colocarse una máscara protectora.

14. La centrifugación de materiales que contengan agentes infecciosos deberá hacerse en tubos irrompibles. Estos deben colocarse en aparatos con rotores protegidos con tapa o en copas con tapa-rosca de seguridad. Luego de la centrifugación, los tubos deberán abrirse en la cabina de seguridad.

15. El uso de agujas y jeringas deberá evitarse tanto como sea posible. Si es necesario, la aguja será envuelta en una gaza impregnada de solución desinfectante para absorber posibles derrames de material contaminado. Las agujas una vez utilizadas deberán ser destruidas con un destructor de agujas.

4.7 Eliminación de Desechos Contaminados con Agentes Infecciosos

Todos los materiales utilizados en experimentos con microorganismos infecciosos deberán ser descontaminados antes de su eliminación o antes del lavado para su reutilización. Tales materiales comprenden, cultivos descartados, tejidos, medios de cultivo, recipientes de vidrio, plásticos, instrumentos, elementos de protección personal o cualquier sustancia expuesta a material infeccioso. La mejor descontaminación se logra por esterilización con vapor en autoclave; de no ser posible, el tratamiento con compuestos químicos desinfectantes recién preparados y a una concentración de conocida efectividad será suficiente como alternativa. Es importante dejar el tiempo suficiente de exposición para asegurar una completa inactivación. La esterilización con óxido de etileno será utilizada en caso de no tener otras opciones. El Apéndice B contiene una guía de desinfectantes químicos de uso común en los laboratorios. La incineración es el método recomendado para la eliminación de animales infectados, basuras o carnes. Este material deberá protegerse previamente en bolsas plásticas de tamaño adecuado.

4.8 Planes de Emergencia

A pesar de los cuidados que se tengan en la ejecución de procedimientos, siempre ocurrirán accidentes y por lo tanto será necesario prever acciones de emergencia. Estos planes deberán ser ajustados a las necesidades de una situación de riesgo. Es responsabilidad del supervisor del laboratorio preparar una lista de instrucciones en donde se especifiquen los pasos inmediatos que se han de seguir. Estas instrucciones deberán ser colocadas en un sitio visible en el laboratorio y periódicamente repasarlas con el personal. No habrá un plan único para todas las situaciones, pero los siguientes principios generales deben ser considerados:

1. En el evento de un derrame extenso o explosivo de patógenos virulentos, todo el personal deberá salir de la zona afectada. En caso de que la ropa se contamine, ésta deberá ser removida antes de salir y la piel contaminada deberá ser lavada exhaustivamente.

2. Determinar la necesidad y la duración del tratamiento médico para personas que se hayan expuesto a una infección por microorganismos. En los accidentes personales que tienen que ver con la ingestión, lesiones de la piel o inhalación de agentes infecciosos, se deberán proveer los primeros auxilios apropiados y llevar a estos pacientes a la sección de emergencia de un hospital.

3. Cerrar puertas, colocar el aviso "Prohibido entrar" indicando que se ha presentado un accidente y notificar al supervisor y al Comité de Bioseguridad.

4. No se podrá retornar al sitio en donde ocurrió el accidente, sino después de por lo menos 30 minutos, hasta cuando los aerosoles se hayan asentado y el grado de peligro y diseminación haya sido determinado.

5. Las personas que entren a limpiar tendrán que estar vestidas apropiadamente con ropa protectora y respirador.

6. Se utilizará una concentración adecuada de desinfectante para limpiar y descontaminar el área. En el Laboratorio siempre estará disponible una reserva de desinfectante para ser utilizada en casos de emergencia. Todos los materiales que se utilicen en los procedimientos de limpieza deberán ser descontaminados.

7. Un principio importante en cualquier situación de emergencia es el de que la atención inmediata al personal en peligro es prioritaria con respecto a los procedimientos de contención.

4.9 Estado de Salud y Otras Consideraciones

Algunas circunstancias poco usuales se tendrán en cuenta para prevenir la infección de personal por ciertos microorganismos en el laboratorio:

1. Mientras estén en tratamiento personas con compromiso inmunitario debido al uso de esteroides, otras terapias inmunosupresivas o tratamiento intensivo con antibióticos, no podrán trabajar en los laboratorios en donde se manipulen agentes infecciosos. Bajo tales circunstancias, incluso agentes no patogénicos pueden infectar a personas susceptibles ocasionando problemas de salud.

2. No es recomendable que mujeres embarazadas se expongan a ciertos agentes virales o bacteriales que podrían causar daño al feto, especialmente durante las primeras etapas del embarazo.

3. Los síntomas o enfermedades que se sospeche estén relacionadas con el trabajo con sustancias peligrosas, deberán ser reportadas al supervisor de laboratorio y referidas al servicio médico para su evaluación.

4. La vacunación (cuando se disponga) se recomienda para personas que frecuentemente manejan patógenos de la clase 3. Una vez inmunizadas estas personas, deberán ser analizadas para determinar el título de anticuerpos y establecer si se logró una respuesta protectora adecuada.

5. La colección y almacenamiento de muestras de suero del personal de laboratorio que manipula agentes patógenos, es una práctica recomendada para monitorear su exposición a microorganismos.

6. El suero de los empleados nuevos debe ser recolectado antes de que comiencen a trabajar con un nuevo agente y después de una sobreexposición o enfermedad. Una conversión serológica (incremento en el título de anticuerpos) confirmaría que una infección haya ocurrido, e indicaría la necesidad de revisar los procedimientos del laboratorio y las prácticas de entrenamiento.

5. GUIAS PARA EL MANEJO DE COMPUESTOS QUIMICOS

En los distintos experimentos que se realizan en los laboratorios de investigación, se utilizan de rutina numerosos compuestos químicos, muchos de los cuales representan un riesgo para el usuario si no se manejan adecuadamente.

Los efectos pueden ir desde irritación del tracto respiratorio, quemaduras, efectos neurotóxicos y mutagénicos hasta envenenamiento y muerte de la persona. Adicionalmente, se puede afectar el medio ambiente, si no se desechan con las debidas precauciones.

5.1 Zona de Trabajo

Los laboratorios que trabajen con sustancias químicas peligrosas deberán contar con las siguientes condiciones:

1. Equipo de primeros auxilios en caso de quemaduras y números telefónicos para casos de emergencia.

2. Duchas y frascos especiales para el lavado de ojos en casos de emergencia.

3. Gafas de seguridad para cada persona que trabaje en el laboratorio (según la especificidad y riesgo de su labor)
4. Cabina extractora de gases (para trabajos con ácidos, solventes y gases tóxicos).
5. Guantes protectores, delantales de goma, máscaras desechables, gafas de protección contra salpicaduras. Estos materiales deben estar estratégicamente situados en el laboratorio (cerca de los extractores de gases y de las duchas), nunca bajo llave.
6. Avisos de emergencia que señalen los procedimientos a seguir en caso de exposición con materiales peligrosos.
7. Extinguidores de fuego y una manta de lana u otro material no inflamable.
8. Un balde con arena para arrojar sobre el área de incendio.
9. Una ducha.
10. Una lista de empleados calificados para proporcionar primeros auxilios.
11. Los cilindros de gas en general, deberán estar asegurados en todo momento a la pared o a una mesa del laboratorio. Aquellos que no estén en uso deberán tener la tapa protectora de la llave.
12. No deberán usarse enchufes eléctricos de expansión para evitar la sobrecarga de circuitos y accidentes por tropiezos y enredos.
13. Los líquidos inflamables y oxidantes corrosivos fuertes deberán ser guardados separadamente en gabinetes especiales a prueba de fuego, ubicados en sitios ventilados.
14. Debe disponerse de recipientes adecuados, debidamente identificados para la eliminación por separado de desechos orgánicos, líquidos, hidrocarbonados clorinados, sólidos (no animales) y elementos cortopunzantes (agujas, cuchillas, vidriería rota). Todos los recipientes que contengan desechos tóxicos no deberán guardarse en el laboratorio, éstos serán ubicados en un sitio aislado especial (i.e., sótanos) que tenga extinguidores, adecuada ventilación y circulación restringida de personal.

5.2 Usuarios

1. Antes de iniciar el trabajo con cada uno de los productos químicos, los usuarios deben leer las etiquetas para definir los riesgos que su manipulación implique.

2. No está recomendado usar lentes de contacto (blandos o duros) para trabajar en el laboratorio debido a que existe el riesgo que el lente se derrita por acción del calor emitido por mecheros, etc. y se peque al ojo. Se deben utilizar gafas u otros elementos de protección adecuados.

3. Cuando se trabaje con químicos peligrosos se tendrán que utilizar guantes apropiados de acuerdo con cada situación específica. Los guantes desechables se deberán eliminar inmediatamente después de su uso con sustancias altamente tóxicas (químicos carcinogénicos, sustancias mutagénicas, compuestos neurotóxicos, etc.). De ser necesario, se utilizarán máscaras desechables o respiradores para la manipulación de polvos tóxicos, los cuales no deberán ser reutilizados. Se deberá usar ropa protectora (como batas de laboratorio bien cerradas) y zapatos cerrados (no usar sandalias ni zapatos de punta abierta).

4. No se deberá comer, beber, mascar chicle, fumar, aplicarse maquillaje, guardar alimentos o cocinar en áreas del laboratorio en donde se utilicen o guarden químicos peligrosos. Igualmente, no se deberán guardar alimentos en los congeladores, refrigeradores, estufas, incubadoras, hornos de secado, etc. Ningún alimento, bebida, ni recipiente de comida se deberá colocar sobre las mesas o áreas de trabajo del laboratorio.

5. Para todos los procedimientos de pipeteo se deberán utilizar equipos mecánicos o eléctricos (peras de caucho, pipeteadores automáticos, etc.).

6. El transporte de reactivos y de material de vidrio deberá hacerse en recipientes profundos de material adecuado.

7. En cada laboratorio deberá disponerse de jabón para manos y toallas de papel desechables. El personal deberá lavarse las manos una vez terminada la manipulación de compuestos químicos, al igual que antes de salir del laboratorio.

8. Todas las personas que trabajen en el laboratorio deberán conocer el sitio de ubicación de los extintores de fuego, mantas para apagar incendios, duchas de seguridad y deberán además, ser entrenados en su funcionamiento.

8. Todos los accidentes de laboratorio deberán ser notificados al supervisor del mismo y al Comité de Seguridad.

5.3 Carcinógenos, Químicos y Mutágenos

Cuando se utilizan carcinógenos o mutágenos químicos, deberán tenerse las mayores medida de protección del personal. La cantidad de estos compuestos capaz de inducir cambios biológicos como tumores y mutaciones, dependerá de la estructura química del agente y de muchos otros factores como la constitución genética del individuo expuesto, duración de la exposición, ruta de

administración y exposición simultánea o secuencial con otros agentes, etc. Aunque los procesos de carcinogénesis y mutagénesis son dosis-dependiente, existen aspectos inciertos sobre la extrapolación de una especie a otra, que permita actualmente establecer los niveles máximos de seguridad permisibles de exposición a carcinógenos y a mutágenos para humanos. Por lo tanto, es importante la prudencia y cuidado en el manejo de tales químicos con medidas adecuadas de protección para minimizar las posibilidades de exposición, especialmente de la piel, sistemas digestivo, respiratorio y los ojos. La rigurosidad de estas medidas debe aumentarse con la potencia del compuesto y la cantidad manipulada. La información sobre el riesgo y manejo de algunos compuestos tóxicos específicos se presenta en el Apéndice C.

6. APENDICE A

6.1 CLASIFICACION DE MICROORGANISMOS CON BASE EN EL RIESGO

I. Clasificación de agentes etiológicos según el riesgo

A. Agentes de la Clase 1.

Todas las bacterias, parásitos, hongos, virus, rickettsias y agentes chlamydiales no incluidas en las clases mas altas.

B. Agentes Clase 2.

1. Agentes bacteriales

Actinobacillus - todas las especies excepto

A. mallei, que pertenece a la Clase 3.

Arizona hinshawii - todos los serotipos.

Bacillus anthracis

Bordetella - todas las especies

Borrelia recurrentis, *B. vincenti*

Clostridium botulinum

Cl. chauvoei, *Cl. Haemolyticum*

Cl. hitolyticum, *Cl. Novyi*

Cl. septicum, *Cl. Tetani*

Corynebacterium diphtheriae

C. equi, *C. haemolyticum*

D. pseudotuberculosis

E. pyogenes, *C. renale*

Diplococcus (Streptococcus)

pneumoniae

Erysipelothrix insidiosa

Escherichia coli - todos los serotipos enteropatógenicos

Haemophilus ducreyi, *H. influenzae*

Herellae vaginicola

Klebsiella - todas las especies y serotipos

Leptospira interrogans - todos los serotipos

Listeria - todos los serotipos

Mima polymorpha *Moraxella* - todas las especies

Mycobacteria - todas las especies excepto las de la Clase 3

Mycoplasma - todas las especies excepto *M. mycoides* y *M. agalactiae* que pertenecen a la Clase 5

Neisseria gonorrhoeae, *N. meningitidis*

Pasturella - todas las especies excepto las de la Clase 3

Salmonella - todas las especies y serotipos

Shigella - todas las especies y serotipos

Sphaerophorus necrophorus

Staphylococcus aureus

Streptobacillus moniliformis

Streptococcus pyogenes

Treponema carateum, *T. pallidum* *T.*

pertenue.

Vibrio fetus, *V. comma*, incluyendo el biotipo *El Tor* v. *parahemolyticus*.

2. Agentes micóticos

Actinomycetes (incluyendo especies de *Nocardia* y especies de *Actinomyces* y *Arachnia propionica*)

Blastomyces dermatitidis
Cryptococcus neoformans
Paracoccidioides brasiliensis

3. Agentes Parasiticos

Endamoeba histolytica
Leishmania sp.
Naegleria gruberi
Toxoplasma gondii
Toxocara canis
Trichinella spiralis
Trypanosoma cruzi

4. Agentes Virales, Rickettsias y Chlamydias

Adenovirus-humanos- todos los tipos
Cache Valley virus
Coxsackie A y B virus
Cytomegaloviruses
Echovirus- todos los tipos
Encephalomyocarditis (EMC)
Flanders
Hart Park virus
Hepatitis
Herpes - excepto *Herpesvirus simiae* (virus B de los monos) que pertenece a la Clase 4
Coronavirus
Influenza
Langat virus
Lymphogranuloma venéreo
Measles (Sarampión)
Mumps (Paperas)
Parainfluenza
Poliovirus - tipos silvestres y atenuados
Poxvirus - todos los tipos excepto *Alastrim*,
Smallpox (Viruela humana) *Monkey pox* y

White pox, los cuales dependiendo de los experimentos están en la Clase 3 o 4

Rabia - todas las cepas excepto el virus de la calle que se clasifica en la Clase 3 cuando se inocula en carnívoros

Reovirus
Respiratory Syncytial virus (Virus Respiratorio Sincitial)

Rhinovirus

Rubella virus (Rubeola)

Simian viruses (Virus de simios) - todos los tipos excepto *Herpesvirus simiae* (*Monkey B virus*) y *virus Marburg*, los cuales pertenecen a la Clase 4

Sindbis virus

Tensaw virus

Vaccinia virus

Varicella virus

Vesicular stomatitis virus

Vole rickettsia

Yellow fever virus (*Fiebre amarilla*)

C. Clase 3

1. Agentes Bacterianos

Actinobacillus mallei

Bartonella - todas las especies

Brucella - todas las especies

Franciscella tularensis

Mycobacterium avium, *M. bovis*, *M. tuberculosis*

Pasteurella multocida tipo B

Pseudomonas pseudomallei

Yersenia pestis

2. Agentes micóticos

Coccidioides immitis

Histoplasma capsulatum

Histoplasma capsulatum var. Duboisii

3. Agentes parasíticos

Schistosoma mansoni

4. Agentes virales, Rickettsias y Chlamydias

Alastrim Smallpox, Monkey pox y White pox, cuando se utilizan in vitro

Arbovirus - todas las cepas excepto las de las Clases 2 y 4

Dengue virus, cuando es utilizado en experimentos de inoculación y transmisión

Lymphocytic choriomeningitis virus (LCM)

Psittacosis-Ornithosis-Trachoma Agentes del grupo Tracoma

Rabies street virus cuando se utiliza en la inoculación de carnívoros (ver Clase 2)

Rickettsia - todas las especies excepto

Vole rickettsia cuando es utilizado en experimentos de inoculación y transmisión

Yellow fever virus - silvestre cuando se utiliza in vitro

D. Clase 4

1. Agentes bacterianos :

Ninguno

2. Agentes micóticos :

Ninguno

3. Agentes parasíticos :

Ninguno

4. Agentes virales, rickettsias y Chlamydias

Alastrim, Smallpox, Monkey pox, White pox, cuando se utilizan en experimentos de inoculación y transmisión en animales

Ebola virus

Hemorrhagic fever agents (agentes de enfermedades hemorrágicas), incluyendo

Crimean hemorrhagic fever (Congo), Junin y Machupo, y otros sin definir.

Herpesvirus simiae (Monkey B virus)

Lassa virus

Marburg virus

Tick-borne encephalitis virus complex, incluyendo *Russian spring-summer encephalitis, Kyasamur forest disease, Omsk hemorrhagic fever, central european encephalitis viruses*

Venezuelan equine encephalitis virus (Encefalitis equina venezolana), cepas epidémicas, cuando se utilizan en experimentos de inoculación y transmisión en animales

Yellow fever virus (Virus de la fiebre amarilla) salvaje.

II. Clasificación de virus oncogénicos en base al riesgo biológico

A. Virus Oncogénicos de Bajo Riesgo

Rous sarcoma

SV-40

CELO

Ad7 - SV40

Polyoma

Papiloma bovino

Tumor mamario del ratón

Leucosis aviar

Leucemia murina

Sarcoma murino

Tumor mamario del ratón

Leucemia de la rata

Leucemia del hamster

Leucemia bovina

Sarcoma canino

Virus del mico Mason-Pfizer

Marek

Herpes del cobayo

Lucke (Sapo)
Adenovirus
Fibroma de Shope
Papiloma de Shope

B. Virus Oncogénicos de Riesgo Moderado

Ad2 - SV40
FeLV
HV saimiri
EBV
SSV-1
GaLV
HV ateles
Yaba
FeSV

III. Patógenos Animales

A. Organismos causantes de enfermedades animales

Serotipos exóticos de fiebre aftosa

B. Organismos causantes de enfermedades animales y vectores (exóticos)

Peste equina africana
Peste porcina africana

Besnoitia besnoiti
Virus de la Enfermedad de Borna
Fiebre petequial bovina infecciosa
Viruela del camello
Fiebre efimera
Peste aviar
Viruela caprina
Louping ill
Lumpy skin
Enfermedad de Nairobi
Newcastle (cepas exóticas)
Mycoplasma mycoides (pleuroneumonía bovina contagiosa)
Mycoplasma agalactiae
Rickettsia ruminantium
Fiebre del Valle de Rift
Peste bovina
Viruela ovina
Enfermedad vesicular del cerdo
Enfermedad de Teschen
Trypanosoma vivax (Nagana)
Trypanosoma evansi
Theileria prava (Fiebre de la costa del este)
T. annulata
U. lawrencei
V. bovis
W. hirci
Exantema vesicular del cerdo
Virus de la Enfermedad de Wesselsbron
Zyonema

APENDICE B

RESUMEN DE DESINFECTANTES PRACTICOS PARA EL USO EN EL LABORATORIO

DESINFECTANTES		REQUISITOS PRACTIVOS				INACTIVACION DE				CARACTERISTICAS IMPORTANTES											
		concentracion del ingrediente activo	Tiempo de contacto (minutos)		Temperatura oC	Humedad Relativa %	Bacterias	Lipovirus	Virus Hidrofilicos	Esporas Bact.	Tiempo de Almacenamiento > 1 semana ⁴	Corrosivo	Inflamable	Explosivo Potencial	Residuo	Inactivado por material organico	Compatible con lentes ⁸	Compatible con electrónicos	Irritante de Piel	Irritante de ojos	Irritante respiratorio
Virus con envoltura	Amplio Espectro																				
Tipo	Categoría																				
Líquido	Amonio cuat.	2%	10	N.E.		+	+			+					+	+		+	+		+
	Fenólicos	2%	10	N.E.		+	+	1		+	+			+				+	+		+
	Clorinados	3%	10	30		+	+	+	+		+		+	+				+	+	+	+
	Iodoforos	2%	10	30		+	+	+	+	+	+	+		+	+			+	+		+
	Etanol	85%	10	N.E.		+	+	1		+		+							+		+
	Isopropanol	85%	10	N.E.		+	+	1		+									+		+
	Formaldehído	8%	10	30		+	+	+	+	+				+				+	+		+
	Glutaraldehído	2%	10	30		+	+	+	+	+				+		+		+	+		+
Gas	Oxido de etileno	.45g/L	60	60	37	+	+	+	+	N.A.		+ ²	+ ²			+	+	+	+	+	+
	Paraformaldehído	.3g/ft	60	60	>23	+	+	+	+	N.A.		+ ³	+ ³			+	+ ⁶⁹	+	+	+	+

APENDICE B (Continuación)

DESINFECTANTES		APLICACIÓN POTENCIAL											EJEMPLOS
		Superficies de trabajo	Material de vidrio	Descont. de grandes áreas	Sistema de manejo de aire	Descont. de superficies de equipos portátiles	Descont. del interior de equipos portátiles	Descont. de superficies de equipos estacionarios	Descont. del interior de equipos estacionarios	Lentes e instrumentos electrónicos	Descarte de líquidos	Libros, Papeles	
Tipo	Categoría												
Líquido	Amonio cuat.	+	+			+		+					
	Fenólicos	+	+			+		+					
	Clorinados	+	+			+		+			+		
	Iodoformos	+	+			+		+					
	Etolol	+	+			+		+					
	Isopropanol	+	+			+		+					
	Formaldehido	+	+			+		+					
	Glutaraldehido	+	+			+		+					
Gas	Oxido de etileno						+			+		+	
	Paraformaldehido			+	+		+		+	+			

N.A.= No aplicable

N.E. = No efectivo

3. A concentraciones de 7% a 73% por volumen de aire, exposición a llama abierta

6. Lentes de microscopio y cámara

1. Resultados variables según el virus

4. Protegido de la luz y el aire

2. No es inflamable ni explosivo en 90% de CO₂

5. Por la piel y/o boca

Fuente: University of Wisconsin. 1983. Guidelines for handling pathogenic microorganisms. Biohazard recognition and control.

8. APENDICE C

8.1 Informacion y Manejo de Algunos Compuestos Tóxicos Específicos

8.1.1 Acetato de Uranilo

Es un compuesto altamente tóxico.

Usuario

1. Este compuesto deberá manipularse con guantes desechables, máscara y papel absorbente en la zona de trabajo.

8.1.2 Acetona

La acetona es altamente inflamable y tóxica.

Usuario

1. La acetona debe ser manejada en la cabina extractora de gases, lejos de llamas, fuentes de calor y chispas.

2. El usuario deberá evitar inhalar este compuesto.

3. Se deberá utilizar guantes desechables al manejar la acetona para evitar que la piel entre en contacto con ella.

8.1.3 Acido Acético

La ingestión de este compuesto causa ulceración de la boca y del tracto digestivo, hematemésis, colapso respiratorio, uremia y muerte.

Usuario

1. Se deberá manipular este compuesto en la cabina extractora de gases, utilizando guantes y papel absorbente en la superficie de trabajo.

8.1.4 Acido Clorhídrico

Este compuesto causa severas quemaduras y daño visual permanente. Produce ulceración del tracto respiratorio, colapso circulatorio y muerte.

Usuario

1. Se deberá manipular este compuesto en la cabina extractora de gases, utilizando guantes y papel absorbente en la superficie de trabajo.
2. El ácido clorhídrico deberá siempre añadirse al agua y nunca el agua al ácido clorhídrico debido a que se produce una reacción exotérmica fuerte con riesgo de ocasionar salpicaduras y quemaduras severas.
3. No deberá utilizarse la tapa del botellón del ácido clorhídrico como recipiente para luego tomar con el pipeteador el volumen que necesite. Esta práctica nunca debe ser utilizada, debido a que se contaminan los reactivos y al cerrar el botellón, éste quedaría impregnado con el compuesto, lo cual podría producir severas quemaduras a los usuarios.

8.1.5 Acido Sulfúrico

El ácido sulfúrico es altamente corrosivo. Se debe evitar inhalar los vapores de este ácido y el contacto con la piel, ojos o ropa.

Usuario

1. El usuario deberá manipular este compuesto en la cabina extractora de gases utilizando guantes y papel absorbente en la superficie de trabajo.
2. El ácido sulfúrico deberá siempre añadirse lentamente al agua y nunca el agua al ácido sulfúrico debido a que se produce una reacción exotérmica fuerte con riesgo de ocasionar salpicaduras y quemaduras severas.
3. No deberá utilizarse la tapa del botellón del ácido sulfúrico como recipiente para luego tomar con el pipeteador el volumen que necesite. Esta práctica nunca debe ser utilizada, debido a que se contaminan los reactivos y al cerrar el botellón, éste quedaría impregnado del compuesto lo cual podría producir severas quemaduras a los usuarios.

8.1.6 Acrilamida

El monómero de acrilamida, el cual se encuentra en forma de polvo es neurotóxico y con comprobado efecto cancerígeno. La acrilamida puede ser absorbida a través de la piel o por inhalación y puede causar parálisis del sistema nervioso central. Las manifestaciones de exposición corresponden a parálisis, debilidad de las extremidades, temblores y ataxia. La acrilamida una vez polimerizada deja de ser neurotóxica.

Usuarios

1. Se deberá utilizar obligatoriamente guantes y máscara al pesar la acrilamida. Es importante dejar limpia el área de trabajo.
2. Las trazas de acrilamida que queden en la balanza utilizada, deberán ser limpiadas obligatoriamente por el usuario, quien utilizará una brocha fina o una toalla desechable para este fin. (Nunca se removerán con la mano trazas de ningún compuesto depositado en la balanza).
3. No se deberá agitar el frasco que contiene la acrilamida en forma de polvo antes de abrirlo, debido a que al abrirlo el usuario puede inhalar las partículas.

8.1.7 Bromuro de Etidio

El bromuro de etidio es un mutágeno potente el cual produce alteraciones genéticas que se manifiestan en generaciones subsiguientes. Este compuesto se intercala entre los pares, interactúa con el grupo fosfato de las bases de los ácidos nucleicos y afecta los procesos de replicación y transcripción del ADN, causando una respuesta tóxica al individuo expuesto.

Zona de trabajo

1. Se destinará un cuarto exclusivo para procesos de electroforesis en los que se utilizan geles teñidos con este compuesto.
2. La tinción de geles con bromuro de etidio se hará preferiblemente luego de haber realizado la electroforesis, utilizando recipientes de uso exclusivo para este fin y recolectando el fluido en un botellón debidamente marcado. En caso de realizar la electroforesis con geles que contengan bromuro de etidio, se dispondrá de cámaras de electroforesis exclusivamente para este fin. Igualmente los fluidos y geles que contengan el reactivo serán acumulados y eliminados adecuadamente. La caneca para desechos sólidos tendrá en su interior una bolsa plástica.
3. Se recomienda tener el cuarto oscuro para fotografía, vecino al cuarto en que se corren los geles teñidos con bromuro de etidio, con el fin de evitar que equipos y otros elementos del laboratorio sean contaminados. En dicho cuarto se colocarán los transiluminadores de luz ultravioleta.
4. Se deberá tener un pipeteador exclusivo para dispensar el bromuro de etidio y éste se mantendrá en el cuarto respectivo. Además se deberá tener, cajas con puntas para pipeteadores, guantes y toallas de papel desechables
5. En este cuarto habrá un lavamanos con jabón y toallas de papel desechables disponibles.

Usuario

1. Usar obligatoriamente guantes dobles desechables los cuales deberán cambiarse con frecuencia.
2. Se utilizarán obligatoriamente caretas protectoras o gafas protectoras adecuadas al operar el transiluminador de luz ultravioleta. Las caretas protectoras se mantendrán colgadas en la pared para evitar que se contaminen con trazas de bromuro de etidio. Igualmente, en el cuarto donde esté el transiluminador, se mantendrá una caneca con su interior protegido con una bolsa plástica en la que se desecharán los geles teñidos.
3. No se colocarán libros, cuadernos, lápices, gafas, etc. sobre las superficies en donde se trabaja con bromuro de etidio.
4. Después de terminadas las labores y antes de salir del Laboratorio donde se manipula bromuro de etidio, el usuario deberá obligatoriamente lavarse las manos con abundante jabón y agua.

Se recomienda que CORPOICA contrate a alguna compañía de reconocida experiencia para la recolección periódica y eliminación de este y demás desechos tóxicos.

8.1.8 Cloroformo

El cloroformo es un solvente clorinado altamente volátil. La inhalación de grandes dosis de este compuesto puede causar hipotensión, parálisis, depresión respiratoria y del miocardio y muerte. El cloroformo puede ser absorbido también por la piel. Otros órganos afectados son los ojos, el hígado, los riñones y las vías respiratorias. El cloroformo es un teratógeno (el cual causa malformaciones fetales) y también es carcinógeno.

Zona de trabajo

1. La manipulación del cloroformo deberá hacerse únicamente en una cabina extractora de gases.

Usuario

1. Para la manipulación del cloroformo deberá utilizarse guantes desechables y papel absorbente en la superficie de trabajo.
2. No deberá utilizarse la tapa del botellón de cloroformo como recipiente para luego tomar con el pipeteador el cloroformo que se necesite. Esta práctica nunca debe ser utilizada, debido a que se contaminan los reactivos.

8.1.9 Dietilpirocarbonato (depc)

El DEPC es un compuesto tóxico.

Zona de trabajo

1. El DEPC debe manipularse en la cabina extractora de gases.

Usuario

1. El usuario de este compuesto deberá utilizar guantes desechables, y colocarlo sobre papel absorbente.

8.1.10 Dodecil Sulfato de Sodio (sds)

Este compuesto es altamente tóxico al ser inhalado en forma de polvo.

Usuario

1. Se deberá utilizar una máscara protectora al pesar el SDS.
2. No se deberá agitar el frasco que contiene el SDS en forma de polvo, antes de abrirlo, debido al riesgo de inhalar partículas.

8.1.11 Fenol

El fenol es altamente corrosivo y puede causar quemaduras severas de la piel y daño a los ojos. Este compuesto puede ser absorbido por la piel y por lo tanto, debe evitarse su contacto.

La exposición a grandes dosis de fenol puede ser fatal a los 30 minutos. Las señales iniciales de toxicidad por fenol son: dolor de cabeza, mareo y náuseas. Dosis bajas pueden causar quemaduras extremadamente dolorosas, daño a los riñones, bazo, hígado y páncreas, así como edema pulmonar. Dosis crónicas causan daño al hígado y riñón, lo cual puede ser fatal. El fenol además es carcinogénico bajo condiciones experimentales.

Zona de trabajo

1. La manipulación del fenol deberá hacerse únicamente en cabina extractora de gases.

Usuario

1. Se deberá usar bata de manga larga y guantes al manipular este compuesto en la cabina extractora de gases.

2. Se colocarán toallas de papel absorbente en la superficie de trabajo siempre que se manipule este compuesto.

3. En caso de manipular volúmenes pequeños en tubos Eppendorf fuera de la cabina extractora de gases, se utilizarán gafas protectoras. Lo anterior es debido a que se han reportado accidentes al abrir las tapas de los microtubos, las cuales teniendo trazas de fenol pueden salpicar al ojo del manipulador o del personal del laboratorio.

4. No se pipeteará con la boca soluciones que contengan fenol. Siempre se utilizarán pipeteadores mecánicos.

5. En caso de que el fenol entre en contacto con la piel, esta se deberá lavarse y enjuagarse con abundante agua y jabón.

6. Los desechos de fenol se colectarán en un botellón (no rompible) específico, debidamente marcado y ubicado en un sitio seguro, para evitar que accidentalmente se rompa

8.1.12 Formaldehido

Este compuesto es irritante y se presume que puede generar cáncer. La exposición a este compuesto causa irritación de las vías respiratorias, afectando las membranas mucosas. Su ingestión puede causar hematemesis, hematuria, proteinuria, anuria, acidosis y muerte.

Zona de trabajo

1. La manipulación del formaldehido deberá hacerse únicamente en una cabina extractora de gases.

Usuario

1. La preparación y electroforesis de geles que contienen formaldehido deberá ser realizada en la cabina extractora de gases.

8.1.13 8-hidroxiquinolina

Se deberá evitar el contacto con los ojos y la piel debido a que se sospecha que es un carcinógeno y debe ser usado con adecuada ventilación.

Usuario

1. Se deberá utilizar guantes desechables y máscara protectora cuando se pese este compuesto.

8.1.14 Naftalina

Es un compuesto altamente tóxico. No debe usarse en sitios ocupados por personal de laboratorio para evitar su inhalación.

8.1.15 Nitrógeno Líquido

El contacto de la piel con nitrógeno líquido puede causar serias quemaduras o necrosis por congelación de tejidos.

Usuario

1. Se deberá manipular con guantes adecuados y careta.
2. En caso de manejar pequeños volúmenes, sacar del termo la cantidad necesaria y nunca devolver al recipiente original el material sobrante, de esta manera se evitará la contaminación.

8.1.16 Ruido

En los Laboratorios donde se realizan investigaciones, se deberá obligatoriamente mantener niveles de ruido bajos debido a que el tímpano de quienes están expuestos a ruidos altos, están expuestos a riesgos de pérdida de audición. Todo equipo que produzca ruido permanentemente, se colocará en corredores u otros sitios en donde no permanezca personal frecuentemente. En caso de colocar radio, la música se mantendrá a un volumen bajo también para que los demás investigadores del mismo laboratorio puedan concentrarse en sus actividades.

8.1.17 Calor

En los Laboratorios se mantendrán equipos que no generen excesivo calor. Todo equipo que genere calor en exceso deberá obligatoriamente colocarse en pasillos externos o en cuartos con apropiada ventilación para que los investigadores no estén expuestos a la incomodidad generada.



Centro de Documentación

9. APENDICE D

9.1 Acuerdo de Seguridad del Trabajador de Laboratorio

EL trabajar en un laboratorio expone a un individuo a riesgos de heridas y enfermedades causadas por materiales y equipo de laboratorio. Los riesgos asociados con el trabajo en (identificar el laboratorio) _____ con (Identificar el supervisor del laboratorio) _____ me han sido explicados a mi plena satisfacción y he tenido la oportunidad de hacer todas las preguntas que he considerado necesarias.

Las regulaciones y normas, por muy bien diseñadas que estén, no son suficientes para garantizar una práctica de laboratorio segura. La habilidad, el conocimiento y el sentido común del trabajador de laboratorio son indispensables para un programa de seguridad. Para este fin, cada persona que trabaje en un laboratorio deberá asumir las siguientes responsabilidades:

1. Deberá asistir a los seminarios de seguridad cuando se le solicite y deberá leer todo el material y la información (tales como el Manual de Bioseguridad de CORPOICA, avisos de peligro, etc.) que le sean proporcionados acerca de la seguridad en el laboratorio. Si fuesen observados otros riesgos, éstos deberán ser notificados al supervisor del laboratorio y al Comité de Bioseguridad.
2. Deberá cumplir a cabalidad con las regulaciones y prácticas de seguridad establecidas y a consultar al supervisor del laboratorio y/o al Comité de Bioseguridad para cualquier ayuda necesaria en circunstancias donde las prácticas de seguridad sean dudosas.
3. Se deberá informar a todos los visitantes de los riesgos existentes y cuando sea necesario, (por ejemplo, con respecto a equipos de laboratorio utilizados por investigadores visitantes) informarles sobre las regulaciones de seguridad. Todos los señalamientos de alerta proporcionados por el Comité de Bioseguridad han de ser exhibidos y mantenidos claramente. Todo laboratorio desocupado deberá quedar cerrado bajo llave.

He leído y entendido las responsabilidades citadas y estoy de acuerdo en respetarlas y seguirlas en el ejercicio de mi trabajo en el laboratorio. Reconozco, además, que voy a trabajar con materiales peligrosos, estoy consciente del riesgo que representan y acepto trabajar con tales materiales.

El firmar este Acuerdo de seguridad del Trabajador de Laboratorio no equivale a renunciar a los derechos individuales de reclamo en caso de accidentes o de contraer enfermedades.

Firma

Fecha

Por este medio, se concede el permiso a _____ de participar en trabajos de investigación bajo mi supervisión. He discutido los riesgos conocidos del trabajo propuesto con el/ella, y a el/ella se le ha dado una copia de las regulaciones y normas de seguridad.

Supervisor del Laboratorio
(Director del Programa)

Ciudad y Fecha

BIBLIOTECA AGROPECUARIA
DE COLOMBIA

10. APENDICE E

10.1 Recomendaciones Generales y Precauciones para el Personal de Apoyo (aseadores, plomeros, electricistas).

1. Queda terminantemente prohibido lavar los traperos, pocillos del tinto, vasos, en los lavamanos de los baños y laboratorios.
2. Queda terminantemente prohibido el acceso de niños a los laboratorios.
3. Para el lavado de cristalería, será obligatorio el uso de guantes y delantales adecuados.
4. El transporte de material de vidrio para lavado, se deberá hacer en bandejas o platonos plásticos compactos.
5. Queda terminantemente prohibida la entrada a los laboratorios de radioactividad y en donde se maneja bromuro de etidio. De ser necesario, deberán estar acompañados por un investigador responsable.
6. El personal encargado de limpiar los tanques de residuos biológicos deberán utilizar overoles plásticos, botas y guantes plásticos y caretas protectoras.

11. APENDICE F

11.1 Formato de Información sobre Irregularidades sobre Bioseguridad

PARA: Presidente Comité de Bioseguridad de CORPOICA
Subdirección de Investigación Estratégica
Edificio de Comunicaciones. Piso 3.
Tibaitatá.
Apartado Aéreo 240142 Las Palmas
Santafé de Bogotá

Yo (Nombre, apellido) _____ informó al Comité de Bioseguridad de
CORPOICA, que observé en la fecha (Año, mes, día) _____ al
funcionario (Nombre y apellido) _____
utilizar de una manera irresponsable, a mi juicio el siguiente
elemento: _____ en el Laboratorio de
_____ de CORPOICA. Observé que dicha persona hizo lo siguiente:

Firma _____



Centro de Documentación

BIBLIOTECA AGROPECUARIA
DE COLOMBIA

12. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Arena, J. M. 1970. Poisoning. Charles C. Thomas Publisher. 715 p.

Carlson, W. D. 1967. Radiation safety. In: Veterinary Radiology, 2nd edition. E. A. & Febiger. p. 137-140.

Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Unidad de Investigación en Biotecnología. 199_. Manejo de material radioactivo. p. 77-82.

Centro Internacional de la Papa (CIP).1993. Biotecnología y bioseguridad en el CIP. Normas Internas. 16 p.

Gilchrist, M. J. R. Biosafety precautions for airborne pathogens. p.67-75.

IICA. 1990. Pautas de seguridad para el manejo de radiaciones, productos químicos y biológicos en los laboratorios de diagnóstico veterinario. Trad. O. Ferrán y J. I. Torres. 32 p.

Instituto de Ciencia Nucleares y Energías Alternativas (INEA). 1995. División Protección Radiológica y Seguridad Nuclear. Curso de capacitación en protección radiológica para las aplicaciones médicas. Santafé de Bogotá, D. C. 22 al 26 de Mayo de 1995.

Maríño, O.C., E. Cortés, M. C. de Jimeno, C. Ramirez. 1990. Guías de normas de seguridad para el Laboratorio de Investigaciones Médicas Veterinarias. Manual 204p.

NIH. Department of Health and Human Services. 1986. Guidelines for research involving recombinant DNA molecules, p. 549-567. In: E-L Winnacker (ed.), From Genes to Clones. Introduction to Gene Technology. VCH Publishers, New York.

National Research Council. 1989. Biosafety in the laboratory. Prudent practices for the handling and disposal of infectious materials. National Academy Press. 222p.

Sambrook, J., E. F. Fritsch, T. Maniatis. 1989. Molecular cloning: A laboratory manual, 2nd edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.

Toscano, W. A., S. E. McNulty. Toxic and carcinogenic chemicals in biomedical laboratories. p.133-140.

University of Wisconsin. 1983. Guidelines for handling pathogenic microorganisms. Biohazard recognition and control. 13p.

University of Wisconsin. 1989. Radiation safety for laboratory technicians. 49 p.