

**NORMATIVA PARA LA MANIPULACIÓN DE MATERIAL
BIOLÓGICO EN EL INSTITUTO DE PARASITOLOGÍA Y
BIOMEDICINA “LÓPEZ NEYRA”**



ÍNDICE

1. OBJETO	3
2. MARCO JURÍDICO Y TÉCNICO DE REFERENCIA.....	3
3. RESPONSABILIDADES	5
4. INTRODUCCIÓN.....	5
5 CATEGORÍAS DE CONFINAMIENTO DEL MATERIAL BIOLÓGICO EN EL IPBLN.	6
6. PRECAUCIONES UNIVERSALES.....	7
7. RECOMENDACIONES PARA TRABAJOS EN CONFINAMIENTO DE NIVEL 1 (Laboratorios)	11
8. RECOMENDACIONES PARA TRABAJOS EN CONFINAMIENTO NIVEL II (P1) ..	12
9. RECOMENDACIONES PARA TRABAJOS EN CONFINAMIENTO NIVEL II.y III (P2)	14
10. CABINAS DE SEGURIDAD BIOLÓGICA. RECOMENDACIONES GENERALES.	15
11. RECOGIDA, MANIPULACIÓN Y TRANSPORTE DE CONTAMINANTES BIOLÓGICOS.	18
11.1. Recogida de muestras	18
11.2. Material de bioseguridad.....	19
11.3 Transporte de muestras	20
11.3.1. Transporte interno	20
11.3.2. Recepción y apertura:	21
11.3.3. Envíos por correo	21
12. NOTIFICACIÓN DE PRIMER USO	23
13. UTILIZACIÓN DE OTROS EQUIPOS. RECOMENDACIONES GENERALES.	23
14 ELIMINACION DE RESIDUOS BIOLÓGICOS Y TIPOS DE CONTENEDORES ..	26
14.1 Tipos de residuos.....	26
14.2 Tipos de recipientes para depositar en el laboratorio los residuos sólidos.....	26



NORMATIVA PARA LA MANIPULACIÓN DE MATERIAL BIOLÓGICO

1. OBJETO

El objeto del presente documento es el establecer unas disposiciones mínimas en materia de seguridad y salud aplicables a las actividades en las que los trabajadores estén o puedan estar expuestos a agentes biológicos debido a la naturaleza de la actividad desarrollada.

Todo el personal del Instituto, tiene la obligación de adquirir información sobre los peligros potenciales que puede conllevar el uso de ciertos productos químicos y biológicos. Por ello será una norma obligatoria la lectura de este manual para todo el personal que entre a trabajar en el Instituto.

Todo Jefe de laboratorio, etc., tiene la obligación de exigir al personal bajo su cargo la lectura y cumplimiento de estas normas. Debe asegurarse así mismo que el personal ha recibido la adecuada instrucción y que conoce los posibles riesgos del trabajo que va a realizar.

Cualquier accidente, debe ser comunicado a los responsables de los distintos servicios, y en su caso a cualquier miembro de la Comisión de Seguridad Biológica (si se estima oportuno su creación).

Ante cualquier pregunta, duda o sugerencia acerca de la manipulación de material biológico deberá dirigir al responsable del servicio de Bioseguridad o Coordinador de dicho servicio.

2. MARCO JURÍDICO Y TÉCNICO DE REFERENCIA

Este manual tiene por objeto facilitar la aplicación del Real decreto 664/1997 de 12 de mayo sobre protección de los trabajadores contra riesgos relacionados con la exposición a agente biológicos y químicos durante la manipulación, en aplicación a los establecido en la Ley 31 /1995 de 8 de noviembre, de Prevención de Riesgos Laborales y el Real Decreto 39/1997, de 17 de enero, por el que se aprueba el Reglamento de los Servicios de Prevención.



**Consejo Superior Investigaciones Científicas
Instituto de Parasitología y Biomedicina López Neyra**

Además de la legislación anterior se aplicaran otras de carácter sectorial, que hacen referencia a aspectos específicos relacionados con la manipulación de material biológico y sustancias químicas (residuos, agentes cancerígenos, etc.).

La legislación aplicable a la manipulación de material biológico y compuestos químicos es la siguiente:

- Directivas: 90/679/CEE de 26 de noviembre; 93/88/CEE de 12 de octubre y 95/30/CEE de 30 de junio.
- Ley 31/1995 de 8 de noviembre, de Prevención de Riesgos Laborales
- Real Decreto 39 / 1997 de 17 de enero, por el que se aprueba el Reglamento de los Servicios de Prevención.
- Real Decreto 664/1997, de 12 de mayo . BOE nº 124, de 24 de mayo. de protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo.
- Ley / 1998 de Residuos. BOE nº 96 de 22 de abril.
- Real Decreto 773/97 de 30 de mayo sobre Disposiciones mínimas de seguridad y salud relativa a la utilización por los trabajadores de equipos de protección individual.
- Real Decreto 485/1997, de 14 de abril, sobre disposiciones mínimas en materia de señalización de seguridad y salud en el trabajo.
- Real Decreto 668/80 (BOE. 14-4-90) sobre almacenamiento de productos químicos.
- Decreto 1078/1993, de 2 de julio de 1993 por el que se aprueba el Reglamento sobre clasificación, envasado y etiquetado de preparados peligrosos.
- Decreto 363/1995, de 10 de marzo 1995, por el que se aprueba el Reglamento sobre notificaciones de sustancias nuevas y clasificación, envasado y etiquetado de sustancias peligrosas.
- Directiva 90/394/CEE del Consejo, de 28 de junio de 1990, relativa a la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes cancerígenos durante el trabajo.
- Real Decreto, de 26 de enero, sobre protección de los trabajadores mediante prohibición de determinados agentes específicos en determinadas actividades.
- Ley 15/1994 de 3 de junio (BOE nº 133 de 4 de junio de 1994, por el que se establece el régimen jurídico de la utilización confinada, liberación voluntaria y comercialización de Organismos Modificados Genéticamente, a fin de prevenir los riesgos para la salud humana y el medio ambiente.



**Consejo Superior Investigaciones Científicas
Instituto de Parasitología y Biomedicina López Neyra**

- Real Decreto 951/197 de 20 de junio (BOE nº 150 de 24 de junio de 1997), por el que se aprueba el Reglamento General para el desarrollo y Ejercicio de la Ley 15/1994.

3. RESPONSABILIDADES

- El responsable de cada Laboratorio deberá adoptar las medidas necesarias para que los usuarios de material biológico cumplan con lo establecido en el presente documento.
- El Servicio de Seguridad Biológica evaluará los riesgos derivados del uso de agentes biológicos y realizará, caso que sea necesario, las oportunas recomendaciones a los responsables. Realizará las comunicaciones a la Autoridad Laboral. Asimismo, dentro de la programación en materia de prevención de riesgos laborales, facilitará formación e información a los trabajadores del Instituto de Parasitología y Biomedicina López Neyra sobre los riesgos en el uso de agentes biológicos.
- Los trabajadores deberán cumplir con lo establecido en el presente documento, comunicando a su responsable directo cualquier incidencia.

4. INTRODUCCIÓN

Se entiende por exposición a agentes biológicos la presencia de éstos en el entorno laboral.

Los agentes biológicos se clasifican en función del riesgo de infección en cuatro grupos:

AGENTES BIOLÓGICOS DEL GRUPO DE RIESGO	RIESGO INFECCIOSO	RIESGO DE PROPAGACION A LA COLECTIVIDAD	PROFILAXIS O TRATAMIENTO EFICAZ
1	Poco probable que cause enfermedades	No	Innecesario
2	Puede causar una enfermedad y constituir un peligro para los trabajadores	Poco Probable	Posible generalmente
3	Puede provocar una enfermedad grave y constituir un serio peligro para los trabajadores	Probable	Posible generalmente
4	Provoca una enfermedad grave y constituye un serio peligro para los trabajadores	Elevado	No conocido en la actualidad



De esta forma, los agentes biológicos del Grupo de Riesgo 1 (GR1) serían aquellos que, habitualmente, no están asociados con enfermedades en el hombre. El GR2 lo constituyen agentes asociados con enfermedades en el hombre, que raramente son serias, y para las cuales existen habitualmente medidas preventivas o terapéuticas. El GR3 lo componen agentes que están asociados con enfermedades graves o mortales, para las cuales son posibles intervenciones de tipo preventivo o terapéutico (alto riesgo individual pero bajo para la colectividad). El GR4 lo forman agentes que, probablemente, causan una enfermedad grave o letal en el hombre, para las cuales las intervenciones preventivas o terapéuticas no son eficaces (alto riesgo individual y para la colectividad).

5 CATEGORÍAS DE CONFINAMIENTO DEL MATERIAL BIOLÓGICO EN EL IPBLN.

Confinamiento Nivel I:

- Poyatas de laboratorio general.
- Campana extractora.

Confinamiento Nivel II

La manipulación se llevará a cabo en las Cabinas de flujo laminar situadas en los laboratorios P1 de Planta 1ª y 2ª, y comprende las manipulaciones siguientes:

- Cultivos primarios y líneas celulares no infectadas de tejido no primates.
- Cultivo primario líneas celulares no infectadas, derivadas de primates (incluidas sangre)
- Cultivos primarios y líneas celulares de primates y no primates infectadas.
- Cualquier tipo de células tratadas con agentes cancerígenos.

Confinamiento Nivel II-III

- La manipulación se llevará a cabo en las Cabinas de flujo laminar situadas en los laboratorios P2 de Planta 1ª y 2ª, y comprende las manipulaciones de los siguientes parásitos:

- *Leishmania mexicana.*
- *Leishmania ethiopica.*
- *Leishmania peruviana.*
- *Leishmania tropica.*



**Consejo Superior Investigaciones Científicas
Instituto de Parasitología y Biomedicina López Neyra**

- *Leishmania major.*
- *Leishmania spp.*
- *Plasmodium spp.*
- *Trypanosoma brucei.*
- *Trypanosoma brucei gambiense.*
- *Células con patógenos endógenos y células deliberadamente infectadas con alguno de los parásitos especificados en este grupo*

Confinamiento Nivel III:

La manipulación se llevará a cabo en las Cabinas de flujo laminar situadas en los laboratorios P2 de Planta 1ª y 2ª. En este caso el confinamiento hace referencia a nivel operativo III y nivel de contención física dos, dado que los parásitos manipulados en nuestras instalaciones no representan riesgo de dispersión en aire. Por nivel de contención nivel III se entiende por el uso de procedimiento, protocolos de trabajo y uso de protecciones individuales que garanticen la protección de los trabajadores en la manipulación de los siguientes parásitos:

- *Leishmania brasiliensis.*
- *Leishmania donovani.*
- *Plasmodium falciparum.*
- *Trypanosoma brucei rhodesiense*
- *Trypanosoma cruzi.*
- *Células con patógenos endógenos y células deliberadamente infectadas con alguno de los parásitos especificados en este grupo*

6. PRECAUCIONES UNIVERSALES

Las denominadas “precauciones universales” constituyen la estrategia fundamental para la prevención del riesgo laboral para los trabajos con agentes biológicos.

a) Vacunación (inmunización activa)

La comunidad trabajadora está sometida a numerosos riesgos biológicos, producidos por bacterias, hongos, virus, etc., frente a los cuales se dispone de vacunas que hacen posible su prevención y, a veces, su tratamiento. La inmunización activa frente a enfermedades infecciosas ha demostrado ser, junto con las medidas generales de prevención, una de las principales formas de proteger a los trabajadores.



b) Normas de higiene personal:

A continuación se resumen un conjunto de normas de higiene personal a seguir por los trabajadores:

- Cubrir heridas y lesiones de las manos con apósito impermeable, al iniciar la actividad laboral.
- El lavado de manos debe realizarse al comenzar y terminar la jornada y después de realizar cualquier técnica que puede implicar el contacto con material biológico. Dicho lavado se realizará con agua y jabón líquido.
- En situaciones especiales se emplearán sustancias antimicrobianas. Tras el lavado de las manos éstas se secarán con toallas de papel desechables o corriente de aire.
- No comer, beber ni fumar en el área de trabajo.
- El pipeteo con la boca no debe realizarse.

c) Elementos de protección de barrera:

Todos los trabajadores de la salud deben utilizar rutinariamente los elementos de protección de barrera apropiados cuando deban realizar actividades que los pongan en contacto directo con agentes biológicos.

Dicho contacto puede producirse tanto de forma directa como durante la manipulación de instrumental o de materiales utilizados.

Dentro de los elementos de protección de barrera podemos distinguir los siguientes:

1. Guantes.
2. Mascarillas.
3. Batas.

d) Cuidado con los objetos cortantes y punzantes:

Se deben tomar todas las precauciones necesarias para reducir al mínimo las lesiones producidas en el personal por pinchazos y cortes.

Para ello es necesario:

- Tomar precauciones en la utilización del material cortante, de las agujas y de las jeringas durante y después de su utilización, así como en los procedimientos de limpieza y de eliminación.



**Consejo Superior Investigaciones Científicas
Instituto de Parasitología y Biomedicina López Neyra**

- Los objetos punzantes y cortantes (agujas, jeringas y otros instrumentos afilados) deberán ser depositados en contenedores apropiados con tapa de seguridad, para impedir su pérdida durante el transporte, estando estos contenedores cerca del lugar de trabajo y evitando su llenado excesivo. En el caso de que dichos materiales estén contaminados, se depositaran en los contenedores amarillo con lejía que hay en cada una de las cabinas de seguridad biológico, o bien en bototes tipo duquesa boca ancha con lejía.

e) Desinfección y esterilización correcta de instrumentales y superficies:

El empleo de productos químicos permite desinfectar a temperatura ambiente los instrumentos y superficies que no resisten el calor seco o la temperatura elevada.

Para llevar a cabo una desinfección del tipo que sea, es necesario tener en cuenta:

- a. La actividad desinfectante del producto.
- b. La concentración que ha de tener para su aplicación.
- c. El tiempo de contacto con la superficie que se ha de descontaminar.
- d. Los agentes biológicos que se han de eliminar.

El producto desinfectante debe tener un amplio espectro de actividad y una acción rápida e irreversible, presentando la máxima estabilidad posible frente a ciertos agentes físicos, no debiendo deteriorar los objetos que se han de desinfectar ni tener un umbral olfativo alto ni especialmente molesto.

Una correcta aplicación de los desinfectantes será, en general, aquella que permita un mayor contacto entre el desinfectante y la superficie a desinfectar.

El producto desinfectante se debe poder aplicar de tal manera que no presente toxicidad aguda o crónica para los animales y el hombre que puedan entrar en contacto con él.

Debe tenerse en cuenta que por su propia función, destrucción de microorganismos, muchos desinfectantes tienen características de toxicidad importantes para el hombre, por lo que se deberán adoptar las medidas de protección y prevención adecuadas y seguir siempre las instrucciones para su aplicación, contenidas en la etiqueta y en las fichas de seguridad.



**Consejo Superior Investigaciones Científicas
Instituto de Parasitología y Biomedicina López Neyra**

Los desinfectantes que se utilicen deben estar adecuadamente etiquetados según la normativa correspondiente, tanto si se han adquirido comercialmente, como si son de preparación propia.

Al adquirir productos químicos, debe exigirse siempre la entrega de la ficha de seguridad correspondiente.

La eficacia de los desinfectantes está limitada por la presencia de materia orgánica, por lo que los tiempos de aplicación de los mismos disminuirá cuando el instrumental que se deba desinfectar esté limpio.

En función de los agentes manipulados, se redactarán por parte de cada laboratorio las instrucciones de desinfección en las que consten los desinfectantes y las diluciones a las que se deban emplear.

Esterilización:

Con la esterilización se produce la destrucción de todos los agentes biológicos, incluidos esporas bacterianas, que pueda contener un material.

Se debe recordar que, en ciertos casos, los instrumentos son sometidos a la acción de soluciones detergentes o antisépticas para diluir sustancias orgánicas o para evitar que se sequen. Dado que este paso no es una verdadera desinfección, estos instrumentos no deberán ser manipulados ni re-utilizados hasta que se efectúe una esterilización, en la cual se produce la destrucción de todos los agentes biológicos.

Existen diferentes tipos de esterilización de los cuales, a continuación, se ofrece un listado:

a) Esterilización por calor húmedo bajo presión (autoclave):

Es el método de elección, por ser el más fiable, eficaz y de fácil empleo. Se introduce el material a esterilizar en bolsas adecuadas y cerradas, dejándose durante 20 minutos a 121°C (para algunos agentes pueden ser necesarias otras condiciones), teniendo la precaución de que la atmósfera del autoclave esté a saturación y desprovista de aire.

En este sentido es recomendable disponer de un manual de procedimiento para el trabajo con el autoclave, siguiendo las instrucciones del responsable de esterilización.



b) Esterilización por calor seco:

Debe mantenerse por dos horas a partir del momento en que el material ha llegado a los 170°C.

7. RECOMENDACIONES PARA TRABAJOS EN CONFINAMIENTO DE NIVEL 1 (Laboratorios)

Esta exposición no está específicamente reflejada en la normativa legal dado que el trabajo que se lleva a cabo no supone riesgo significativo de enfermedad para un trabajador sano. No obstante, las recomendaciones serían:

- El acceso al laboratorio estará limitado, a juicio del responsable del mismo, cuando las prácticas se hallen en marcha.
- Las superficies donde se trabaja deberían ser descontaminadas una vez al día y después del derramamiento de cualquier material biológico.
- Está prohibido pipetear con la boca.
- No está permitido comer, beber, fumar o maquillarse en el laboratorio.
- No está permitida la manipulación de animales.
- La comida se almacenará en armarios o refrigeradores destinados a tal fin y situados en la cafetería.
- Antes de dejar el laboratorio, el personal que haya manejado materiales contaminados debe lavarse las manos.
- Cualquier técnica o manipulación debe ser efectuada de manera que minimice la creación de aerosoles.
- Se recomienda el empleo de batas u otro tipo de equipamiento que prevenga la contaminación de la ropa de calle.
- Los materiales contaminados se irán depositando en contenedores apropiados, que se podrán cerrar para su traslado.
- Normalmente no es necesario equipo de seguridad.
- Se recomienda guardar los cultivos de microorganismos convenientemente sellados con Parafilm (placas Petri, matraces).
- Todos los cultivos de microorganismos deben ser rotulados para su identificación, especialmente aquellos que se encuentren en áreas comunes (incubadores, cámaras.).
- Se recomienda revisar los cultivos de microorganismos con frecuencia. En caso de aparición de contaminación, eliminar los cultivos con la mayor rapidez.
- En caso de contaminación, limpiar y desinfectar la zona de trabajo con etanol 70%, muy especialmente si es zona común.



- Los residuos líquidos (incluyendo sobrenadantes de cultivos y restos de microorganismos en los tubos de centrifuga) deben ser tratados con lejía (o hipoclorito sódico al 5%) durante 1-2 horas antes de ser eliminados por la pila.
- Todos los residuos de disolventes orgánicos serán únicamente eliminados depositándolos en frascos de cristal ámbar o bidones de 5 litros de polietileno alta densidad. Los contenedores de estos residuos, una vez llenos serán rotulados con los datos referentes a su composición, fecha y número de laboratorio, y entregados al servicio de seguridad biológica que llevará a cabo su recogida.

8. RECOMENDACIONES PARA TRABAJOS EN CONFINAMIENTO NIVEL II (P1)

Este apartado ha referencia al trabajo con Líneas celulares bien caracterizadas de origen humano o de simio no infectadas, así como las células no humanas ni de simios bien caracterizadas, con bajo riesgo de infección endógena con patógenos humanos. La manipulación de estos agentes biológicos se llevará a cabo en los Laboratorios P1.

Las recomendaciones para los trabajos con nivel de confinamiento II son las siguientes:

- Para poder trabajar en el laboratorio P1, los usuarios deberán comunicar al Servicio de Seguridad Biológica el tipo de agente biológico con el que van a trabajar, especificándose tipo de célula, nombre de la línea celular y procedencia, así como los posibles riesgos que puede implicar su manipulación.
- El acceso al laboratorio, denominado P-1, esta restringido a personal debidamente adiestrado.
- Las superficies de trabajo se descontaminarán, una vez finalizado el trabajo.
- La manipulación de los agentes biológicos incluidos en nivel de confinamiento II (página 4) se llevara a cabo en la cabinas de flujo laminar (tipo II).
- Las superficies de trabajo de las cabinas o de cualquier equipo utilizado en dichos laboratorios se descontaminaran, una vez finalizado el trabajo con Etanol al 70%.
- Todos los residuos, tanto líquidos como sólidos, deberán descontaminarse antes de su eliminación:



**Consejo Superior Investigaciones Científicas
Instituto de Parasitología y Biomedicina López Neyra**

- Los residuos líquidos de cultivo celulares serán aspirados mediante bomba de vacío situada en cada una de las cabinas de flujo laminar, o bien se depositan en contenedores con lejía o hipoclorito sódico al 5%, al menos durante 2 horas, para la inactivación de los agentes biológicos contaminantes.
 - Los objetos punzantes, cortante y tips de pipetas automáticas contaminados se depositarán en los contenedores amarillos con lejía situados en cada una de las cabinas de flujo laminar.
 - El resto de residuos sólidos, guantes, papeles, francos de cultivo vacíos, placas, pipetas, etc., se depositarán en las papeleras que hay al lado de cada cabina de flujo laminar, para su autoclavado.
-
- Está prohibido pipetear con la boca.
 - No se permite comer, beber, fumar, tomar medicamentos o maquillarse en el laboratorio.
 - No está permitida la manipulación de animales.
 - Cualquier técnica o manipulación debe ser efectuada de manera que minimice la creación de aerosoles.
 - Los materiales contaminados que han de ser descontaminados fuera del laboratorio se irán depositando en contenedores apropiados que podrán cerrarse al ser trasladados del laboratorio.
 - El responsable del Servicio de Seguridad Biológica limitará el acceso al mismo. De esta manera, personas con riesgo de adquirir infecciones o para las que una infección pueda resultar especialmente peligrosa no tendrán permitida la entrada al laboratorio.
 - Siempre que se esté en el laboratorio, el personal llevará una bata de laboratorio.
 - Es obligatorio llevar guantes cuando se manipule el material, los cuales se depositaran en la papeleras situada a la salida del mismo.
 - Todos los residuos del laboratorio deben ser descontaminados adecuadamente antes de su eliminación.



9. RECOMENDACIONES PARA TRABAJOS EN CONFINAMIENTO NIVEL II.y III (P2)

Este apartado ha referencia al trabajo con patógenos o Líneas celulares bien caracterizadas de origen humano, simio u otro vertebrado infectadas. La manipulación de estos agentes biológicos se llevará a cabo en los Laboratorios P2.

Las recomendaciones para los trabajos con nivel de confinamiento II Y III son las siguientes:

- Para poder trabajar en los laboratorio P2, se deberá comunicar al Servicio de Seguridad Biológica el tipo de agente biológico con el que van a trabajar, especificándose tipo de célula, nombre de la línea celular y procedencia, así como los posibles riesgos que puede implicar su manipulación.
- El acceso al laboratorio, denominado P-2, esta restringido a personal debidamente adiestrado y poseedor de tarjeta magnética personalizada.
- Las superficies de trabajo se descontaminarán, una vez finalizado el trabajo.
- La manipulación de los agentes biológicos incluidos en nivel de confinamiento II y III (página 4 y 5) se llevara a cabo en la cabinas de flujo laminar (tipo II).
- Las superficies de trabajo de las cabinas o de cualquier equipo utilizado en dichos laboratorios se descontaminaran, una vez finalizado el trabajo con Etanol al 70%.
- Todos los residuos, tanto líquidos como sólidos, deberán descontaminarse antes de su eliminación:
 - Los residuos líquidos de cultivo de parásitos y células infectadas serán aspirados mediante bomba de vacío situada en cada una de las cabinas de flujo laminar, o bien se depositan en contenedores con lejía o hipoclorito sódico al 5%, al menos durante 2 horas, para la inactivación de los agentes biológicos contaminantes.
 - Los objetos punzantes, cortante y tips de pipetas automáticas contaminados se depositarán en los contenedores amarillos con lejía situados en cada una de las cabinas de flujo laminar.
 - El resto de residuos sólidos, guantes, papeles, francos de cultivo vacíos, placas, pipetas, etc., se depositarán en las papeleras que hay al lado de cada cabina de flujo laminar, para su autoclavado.
- Está prohibido pipetear con la boca.



**Consejo Superior Investigaciones Científicas
Instituto de Parasitología y Biomedicina López Neyra**

- No se permite comer, beber, fumar, tomar medicamentos o maquillarse en el laboratorio.
- No está permitida la manipulación de animales.
- Cualquier técnica o manipulación debe ser efectuada de manera que minimice la creación de aerosoles.
- Los materiales contaminados que han de ser descontaminados fuera del laboratorio se irán depositando en contenedores apropiados que podrán cerrarse al ser trasladados del laboratorio.
- El responsable del Servicio de Seguridad Biológica limitará el acceso al mismo. De esta manera, personas con riesgo de adquirir infecciones o para las que una infección pueda resultar especialmente peligrosa no tendrán permitida la entrada al laboratorio.
- Siempre que se esté en el laboratorio, el personal llevará una bata de color verde.
- Cuando se abandone el laboratorio para acceder a otras dependencias esta bata deberá dejarse en la esclusa de salida de este laboratorio.
- Se prestará especial atención para evitar la contaminación a través de la piel, por lo que es obligatorio llevar guantes cuando se manipule el material, los cuales se depositaran en la papelera situada a la salida del mismo.
- Todos los residuos del laboratorio deben ser descontaminados adecuadamente antes de su eliminación.
- Los derramamientos y otros accidentes que tengan como consecuencia la sobreexposición del personal a materiales infectados deberán ser comunicados inmediatamente al responsable de seguridad biológica, y en su ausencia al coordinador de dicho servicio.

10. CABINAS DE SEGURIDAD BIOLÓGICA. RECOMENDACIONES GENERALES.

Inicio del trabajo:

- Poner en marcha la cabina durante 5-10 minutos, al objeto de purgar los filtros y “lavar” la zona protegida
- Comprobar que el manómetro situado en la parte superior del frontal se estabiliza e indica la presión adecuada (varía con el modelo de cabina).
- Apagar y/o retirar la luz ultravioleta (si estuviera encendida y encender la luz fluorescente).



**Consejo Superior Investigaciones Científicas
Instituto de Parasitología y Biomedicina López Neyra**

- Limpiar la superficie de trabajo con etanol al 70 %.
- Antes y después de haber trabajado en una cabina deberían lavarse con cuidado las manos y brazos, prestando especial atención a las uñas.
- Se aconseja emplear batas de manga larga con bocamangas ajustadas y guantes de látex.
- En determinados casos, además es recomendable el empleo de mascarilla.

Durante la manipulación:

- Todo el material a utilizar (y nada más) se sitúa en la zona de trabajo antes de empezar. De esta forma se evita tener que estar continuamente metiendo y sacando material durante el tiempo de operación.
- Es aconsejable haber descontaminado el exterior del material que se ha introducido en la cabina.
- 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.
- Según el tipo de manipulación y el modelo de la cabina, la zona de máxima seguridad dentro de la superficie de trabajo varía. En general, se recomienda trabajar a unos 5-10 cm por encima de la superficie y alejado de los bordes de la misma. Especial atención se prestará a no obstruir las rejillas del aire con materiales o residuos.
- Una vez que el trabajo haya comenzado y sea imprescindible la introducción de nuevo material, se recomienda esperar 2-3 minutos antes de reiniciar la tarea. Así se permite la estabilización del flujo de aire. Es conveniente recordar que cuanto más material se introduzca en la cabina, la probabilidad de provocar turbulencias de aire se incrementa.
- Mantener al mínimo la actividad del laboratorio en el que se localiza la cabina en uso, a fin de evitar corrientes de aire que perturben el flujo. El flujo laminar se ve fácilmente alterado por las corrientes de aire ambientales provenientes de puertas o ventanas abiertas, movimientos de personas, sistema de ventilación del laboratorio...
- Evitar los movimientos bruscos dentro de la cabina. El movimiento de los brazos y manos será lento, para así impedir la formación de corrientes de aire que alteren el flujo laminar.
- Cuando deban emplearse asas de platino es aconsejable el incinerador eléctrico o, mejor aún, asas desechables.



**Consejo Superior Investigaciones Científicas
Instituto de Parasitología y Biomedicina López Neyra**

- Si se produce un vertido accidental de material biológico se recogerá inmediatamente, descontaminando la superficie de trabajo y todo el material que en ese momento exista dentro de la cabina.
- No se utilizará nunca una cabina cuando esté sonando alguna de sus alarmas.

Al finalizar el trabajo:

- Limpiar el exterior de todo el material que se haya contaminado.
- Vaciar la cabina por completo de cualquier material.
- Limpiar y descontaminar con alcohol etílico al 70% o producto similar la superficie de trabajo.
- Dejar en marcha la cabina durante al menos 15 minutos.
- Conectar si fuera necesario la luz ultravioleta (UV). Conviene saber que la luz UV tiene poco poder de penetración por lo que su capacidad descontaminante es muy limitada.

Limpeza y desinfección de la cabina de seguridad biológica:

- Se llevará a cabo una desinfección completa en las siguientes situaciones: a) en caso de que se haya producido un vertido importante; b) antes de cualquier reparación; c) antes de iniciarse los chequeos periódicos; d) siempre que se cambie el programa de trabajo; e) cuando se substituyan los filtros HEPA y f) al cambiarla de lugar (incluso dentro del mismo laboratorio).
- Por otro lado, debe tenerse en cuenta que una buena limpieza de la zona de trabajo es una garantía de ausencia de polvo y otros contaminantes. La limpieza tiene por objeto eliminar la suciedad que se halla adherida a las superficies y que sirve de soporte a los microorganismos. Al limpiar se elimina también la materia orgánica, contribuyendo de forma decisiva a la eficacia de la posterior descontaminación.
- Es conveniente una vez a la semana levantar la superficie de trabajo y limpiar y descontaminar por debajo de ella.
- Nunca se debe utilizar la cabina como almacén transitorio de equipo o material de laboratorio. Esta mala práctica conduce a una acumulación de polvo totalmente innecesaria.
- Evitar introducir en la cabina materiales que emitan partículas fácilmente como algodón, papel, madera, cartón, lápices...



Mantenimiento de la cabina de seguridad biológica por el servicio de limpieza y esterilización:

- Mensualmente se limpiará la superficie de trabajo y el resto del interior de la cabina. (cada semana un laboratorio).
- Semanalmente se pondrá en marcha a fin de comprobar la medida que da el manómetro.
- Mensualmente, con un paño mojado, se limpiarán todas las superficies exteriores con objeto de eliminar el polvo acumulado.
- Mensualmente se revisará el estado de las válvulas interiores con que vaya equipada.
- Anualmente se certificará por una entidad cualificada.

11. RECOGIDA, MANIPULACIÓN Y TRANSPORTE DE CONTAMINANTES BIOLÓGICOS.

11.1. RECOGIDA DE MUESTRAS

Los principales riesgos para el personal que toma muestras son la contaminación de las manos durante la extracción y los pinchazos y cortes provocados por las agujas y otros objetos afilados. Algunas normas prácticas y procedimientos para reducir al mínimo esos accidentes son:

- Evitar que en las manos haya cortes, abrasiones u otras lesiones cutáneas que permitan una mejor penetración de agentes biológicos. En este caso es obligatorio el uso de guantes.
- Utilizar una buena técnica y un buen material para evitar la contaminación de las manos.
- Lavarse las manos con agua y jabón inmediatamente después de cualquier accidente de contaminación con agentes biológico y una vez terminado el trabajo, incluso si se han utilizado guantes.
- Utilizar bata blanca o verde.
- No reencapuchar las agujas ni desacoplarlas de la jeringa. Colocar ambas en un recipiente de plástico rígido imperforable (contenedores amarillos o botes tipo duquesa)
- Sellar bien los recipiente de muestras. Si están manchados etanol al 70%, u otro desinfectante.



**Consejo Superior Investigaciones Científicas
Instituto de Parasitología y Biomedicina López Neyra**

- Si se produce un pinchazo o un corte, lavarse la herida concienzudamente con agua y jabón. Favorecer la hemorragia.
- Toda contaminación de las manos u otra parte del cuerpo con agentes biológicos patógenos y todo pinchazo o corte se comunicarán al responsable de seguridad biológica el cual en caso necesario lo pondrá en conocimiento de servicio de seguridad e higiene del C.S.I.C.y al servicio médico

Otras técnicas correctas en el laboratorio son:

- Llenar cuidadosamente la jeringa para evitar la formación de burbujas y espuma en el material que se va a inyectar.
- Evitar, si es posible, el empleo de jeringas para mezclar líquidos infecciosos.
- Si se extraen líquidos de viales a presión diferente de la atmosférica, envolver la aguja y el tapón del recipiente con un algodón empapado en un desinfectante apropiado antes de retirar la aguja del tapón de caucho del frasco.
- Expulsar el exceso de líquido y las burbujas de la jeringa, manteniéndola verticalmente en un algodón empapado en etanol 70 %

11.2. MATERIAL DE BIOSEGURIDAD

Guantes

Los guantes reducen el riesgo de contaminación de las manos con agentes biológicos, pero no evitan los pinchazos o cortes causados por agujas, otros instrumentos afilados o vidrio o plástico roto. Es importante recordar que el empleo de guantes tiene por objeto complementar, y no sustituir, una buena técnica de trabajo y unas prácticas apropiadas de control de infecciones, en particular el lavado correcto de las manos. En relación con el uso de los guantes, se han de adoptar las siguientes precauciones generales:

- Proveerse de guantes para toda manipulación de material potencialmente peligroso.
- Desechar los guantes siempre que se piense que se han contaminado. Utilizar un par nuevo.
- Con las manos enguantadas no hay que tocarse los ojos, la nariz, las mucosas o la piel.
- Lavarse las manos después de quitarse los guantes.



Agujas

Si se emplean sistemas tradicionales de jeringa y aguja, estos deben ser desechables y una vez utilizadas se eliminarán las dos sin separar, en un contenedor adecuado. No reencapuchar nunca la aguja. Al separar la aguja aumenta el riesgo de contaminación ya que la muestra residual que quedaba en ésta puede salirse por gravedad y además el cono de la aguja y la punta de la jeringa pueden estar contaminadas, por agente biológico.

11.3 TRANSPORTE DE MUESTRAS

El transporte de muestras biológicas es un tema en el que se ha de tener especial cuidado ya que es un riesgo potencial de contaminación para el usuario o postal que lleva la muestra, al público en general y al receptor de la misma.

Hay una serie de medidas básicas aceptadas internacionalmente y unas normas de sentido común que se deben respetar cuando la muestra biológica viaja desde un lugar en el que se genera hasta el lugar en el que se utilizan, independientemente de que sea a nivel del propio edificio o sea de una parte a otra del mundo.

Se distinguen tres situaciones que merecen una especial atención: El transporte de la muestra dentro del propio centro de trabajo o de un punto de extracción periférico a un laboratorio, la recepción y apertura del recipiente con muestras biológicas y el transporte de éstas como es el envío por correo.

11.3.1. Transporte interno

Un sistema de transporte interno debe valorar desde el momento en que la muestra es extraída hasta que llega al laboratorio. Los tubos procedentes de la extracción deben depositarse en gradillas dentro de un contenedor de transporte que pueda retener fugas o derrames y asegure una protección adicional. Preferiblemente se debe seleccionar la ruta de transporte que evite el contacto con servicios de recepción, area administrativa y cafetería

En el caso de transporte por carretera desde los puntos de extracción periféricos al de utilización, se debe añadir que el contenedor obligatoriamente debe ser hermético de forma que impida toda fuga o derrame. Además, una vez cerrado y sellado el recipiente, debe limpiarse con desinfectante y secarse. El conductor del



**Consejo Superior Investigaciones Científicas
Instituto de Parasitología y Biomedicina López Neyra**

vehículo deberá ser consciente del material que transporta y será instruido sobre lo que ha de hacer en caso de accidente o derrame del contenido de los recipientes.

El contenedor irá identificado con la señal de peligro biológico o una etiqueta similar: Peligro de infección o muestra biológica.

11.3.2. Recepción y apertura:

Los puntos de recepción de muestras estará ubicado en conserjería. De la misma manera es conveniente que el personal del servicio de recepción sepa con antelación la procedencia y el número de muestras que va a recibir, lo que asegura la posibilidad de evitar muestras perdidas o en paradero desconocido.

La persona de la recepción debe estar entrenada en el sentido de que si existen dudas sobre lo que va dentro del contenedor en cuanto a su integridad, sea introducido dentro de una bolsa de plástico que proteja hasta la descontaminación o apertura en cabina de seguridad biológica.

Este riesgo se hace más patente en aquellas muestras que han sufrido transporte y con las que se ha de ser especialmente cuidadoso, teniendo siempre la precaución de desinfectar externamente el contenedor, previamente a su apertura.

11.3.3. Envíos por correo

La manipulación, transporte y envío de muestras y agentes infecciosos entre laboratorios o instituciones utilizando el servicio a terceros está regulado por una serie de organismos para evitar o reducir el riesgo de exposición al público, personal de las líneas aéreas y marítimas, de la administración postal y de empresas de mensajería.

El envío se hará siguiendo las exigencias recogidas por el Artículo 21 del Convenio Postal Universal (BOE nº 303 de 27 de diciembre de 1966), así como las recomendaciones de la OMS.

Los embalajes destinados a las sustancias infecciosas y las muestras de diagnóstico constan de tres capas (según Figura 1):

1ª) Un recipiente primario estanco en el que se coloca la muestra [(a)]. Será de vidrio o de plástico de buena calidad. Debe permitir un cierre hermético que impida fugas. Los



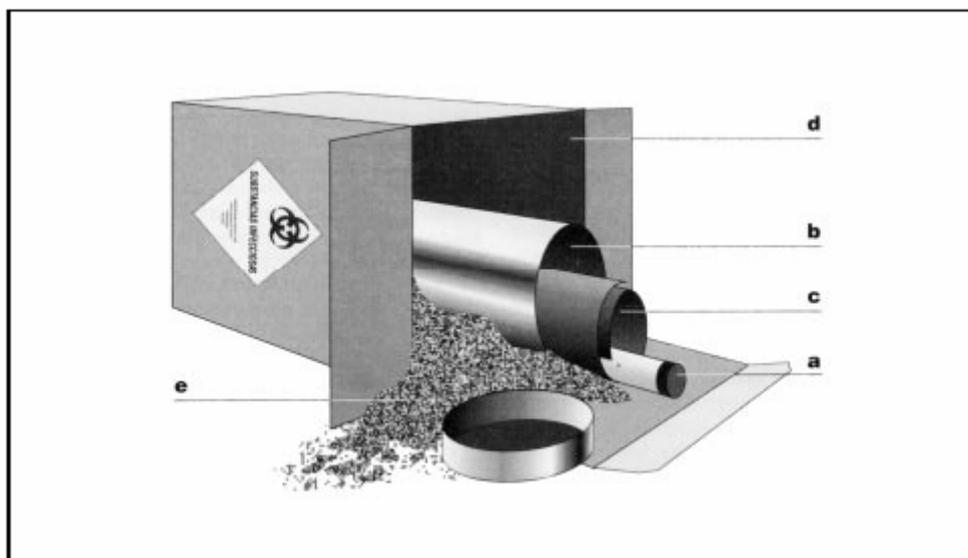
**Consejo Superior Investigaciones Científicas
Instituto de Parasitología y Biomedicina López Neyra**

taponos de rosca (preferiblemente) o de corcho se sujetarán con alambre, cinta adhesiva u otro material seguro. El recipiente primario se envolverá en material absorbente (toallas de papel, algodón hidrófilo o guata de celulosa) en cantidad suficiente para absorber todo el líquido en caso de derrame [(c)].

2ª) Un recipiente secundario que ha de ser resistente y estanco [(b)]. En él se pueden poner varias muestras en sus recipientes primario. Se utilizará material de relleno para evitar daños por choques.

3ª) Una envoltura exterior para proteger el recipiente secundario de las influencias exteriores durante el transporte y de una posible manipulación. Será de un material lo suficientemente sólido como para que asegure la protección. A él irán adheridas las señas del destinatario y del remitente así como los adhesivos que exija el transportista sobre su contenido: etiqueta de sustancia infecciosa o de sustancias biológicas percederas [(d)].

En la parte exterior de este recipiente irá adherido un ejemplar del formulario de datos relativo a la muestra, así como cartas y demás material informativo que permitan identificarla o describirla. Los otros dos ejemplares son para el laboratorio receptor que lo recibirá con suficiente antelación por correo aéreo y para el expedidor. Esto permite que el receptor identifique adecuadamente la muestra, esté prevenido sobre su llegada y pueda tomar las disposiciones oportunas para que manipulación y examen se hagan en condiciones de seguridad.





12. NOTIFICACIÓN DE PRIMER USO

La notificación será necesaria cuando la actividad se encuentre englobada entre las de intención deliberada de manipular o utilizar en el trabajo los agentes biológicos.

Clasificados los agentes, la notificación se hará referida al grupo de riesgo al que pertenece. el agente esté asignado.

No se podrá trabajar con agentes biológicos del grupo de riesgo 2 o 3*, hasta que el laboratorio interesado lo comunique al servicio de Seguridad Biológica.

13. UTILIZACIÓN DE OTROS EQUIPOS. RECOMENDACIONES GENERALES.

a) Normas Generales

- Los equipos y aparatos nunca deben colocarse en zonas de paso, en particular en los pasillos del laboratorio.
- Todos los aparatos con toma eléctrica deberán cumplir las normativas de seguridad correspondientes. Nunca deben utilizarse en zonas mal aisladas y expuestas a la humedad.
- Las fuentes de calor (calentadores, termobloques, etc.), sobre todo si se alcanzan temperaturas elevadas, deberán estar debidamente señalizadas para evitar quemaduras accidentales.
- Todos los procedimientos de utilización de aparatos deberían contar obligatoriamente con apartados relativos a su utilización segura.

b) Neveras y cámaras frigoríficas

Un adecuado mantenimiento, limpieza y desinfección sistemáticos de los aparatos reduce considerablemente los riesgos asociados a su utilización. Sin embargo, aun en estas condiciones, hay que tener en cuenta lo siguiente:

- No deben almacenarse cultivos de microorganismos patógenos por inhalación en recipientes que no estén convenientemente cerrados, especialmente si la cámara tiene un sistema de circulación de aire.



**Consejo Superior Investigaciones Científicas
Instituto de Parasitología y Biomedicina López Neyra**

- No deben almacenarse reactivos que contengan compuestos volátiles inflamables (éter etílico, por ejemplo) en neveras que no posean un sistema de protección antideflagración. En los aparatos de tipo doméstico que se utilizan en el laboratorio debe anularse la lámpara de la luz.

c) Congeladores

La congelación es un proceso que mantiene la viabilidad de muchos agentes infecciosos, de ahí un potencial riesgo y las siguientes recomendaciones:

- Tratar de identificar en ficheros, listas, etc. el contenido de lo almacenado y sus riesgos potenciales.
- El material potencialmente infeccioso debe colocarse en tubos, recipientes, etc. bien cerrados. No se llenarán completamente, para evitar que rebosen por efecto del aumento de volumen tras la congelación.
- Descongelar periódicamente, limpiar y desinfectar si fuese procedente.
- Utilizar guantes para manipular el contenido. Si la temperatura es baja (por ejemplo -70°C o inferior), los guantes representan una protección adicional.

d) Estufas e incubadores

La limpieza y la desinfección, periódicas y sistemáticas, son el método recomendable para reducir los riesgos derivados de la contaminación accidental del personal del laboratorio.

e) Autoclaves

Los autoclaves deben poseer manómetro y termostato, así como válvula de seguridad, sistema de desconexión rápido y la purga del vapor ha de realizarse a un recipiente estanco y con agua, jamás directamente al exterior.

- No deben usarse si no se conocen perfectamente todos los mandos y su fundamento.
- Usar guantes especiales para protegerse del calor.
- No abrir jamás si el manómetro no está a "0" y la purga no ha sido abierta.



f) Centrífugas

Los mayores riesgos derivan, sobre todo, de la contaminación por los aerosoles generados durante la centrifugación de materiales biológicos y, en menor medida, de los traumatismos accidentales. Se recomienda:

- Cuando se centrifugue material biológico potencialmente infeccioso deben utilizarse tubos cerrados; la centrífuga debe disponer de rotores o cestillos de seguridad que protejan al operador de los posibles aerosoles.
- La rotura accidental de un tubo y su vertido en la cubeta representa una incidencia importante que debe ser comunicada inmediatamente al Supervisor o responsable, de forma que se proceda a la desinfección segura del aparato.
- No se deben utilizar centrífugas antiguas que no posean sistema de cierre de seguridad, del que disponen todos los aparatos actuales, ni manipular éstas de forma que permitan su apertura mientras están en funcionamiento.
- Si el laboratorio dispone de ultracentrífugas, el equilibrado cuidadoso del rotor es fundamental.

g) Miscelánea

- Las bombas de vacío y los aspiradores deberán contar con las correspondientes trampas y filtros.
- Los baños de agua ("baños maría") deberán contener un desinfectante adecuado, ser limpiados una vez a la semana y desinfectados con periodicidad mensual.
- En la zona de trabajo no debe colocarse directamente material de escritorio ni libros, ya que el papel contaminado es de difícil esterilización o desinfección.



14 ELIMINACION DE RESIDUOS BIOLÓGICOS Y TIPOS DE CONTENEDORES

14.1 TIPOS DE RESIDUOS

- **Contaminados.** Todo lo desechable que haya estado en contacto con microorganismos patógenos y no patógenos.
- **No contaminados.** Todos los demás residuos que se generan en el laboratorio.

14.2 TIPOS DE RECIPIENTES PARA DEPOSITAR EN EL LABORATORIO LOS RESIDUOS SÓLIDOS.

Todos los residuos sólidos, de todo tipo, (excepto radiactivos) que puedan generarse como resultado de la manipulación con agentes biológicos anteriormente descritos, deberán segregarse de forma adecuada:

CARACTERÍSTICAS	TIPO DE RESIDUO	RECIPIENTE	TRATAMIENTO
NO CONTAMINADO	Vidrio intacto o roto, pipetas Pasteur, agujas y hojas de bisturí, etc	Frascos tipo duquesan 2 L.	-
	Material de cultivos sin contaminar: placas de agar y material desechable empleado para cultivo celular y bacteriano.	Bolsas autoclave	Autoclave
CONTAMIANDO	Pipetas Pasterur	Contenedores amarillos de 5L.	Autoclave
	Tubos eppendorf, puntas de pipeta, jeringas, agujas	Contenedores amarillos de 5L	Autoclave
	Papeles, guantes, geles y demas objetos blandos	Bolsas autoclave	Autoclave
	Medios de cultivo sólidos y líquidos contaminados	Frascos tipo duquesan 2 L. o contenedores amarillos de mayor capacidad.	Inactivación con Hipoclorito sódico.