

Normas de bioseguridad de nivel 2

Actualmente, en la UIB sólo se pueden manipular microorganismos del grupo de riesgo 2. Las tareas correspondientes deben llevarse a cabo en laboratorios autorizados por el Comité de Bioseguridad y sólo por parte del personal que tenga acreditada la formación en bioseguridad de nivel 2.

Normas generales para la manipulación de microorganismos, muestras potencialmente contaminadas con agentes biológicos y organismos modificados genéticamente (OMG)

Para la manipulación de microorganismos y de materiales potencialmente contaminados con agentes biológicos (muestras humanas o animales, aguas residuales, OMG, etc.) debéis cumplir las siguientes normas de bioseguridad:

1. Medidas higiénicas:

- Lavaos las manos antes y después de manipular material potencialmente contaminado. Las manos deben lavarse con agua y jabón líquido, y se secarán con papel, nunca con toallas de tela. Para un correcto lavado de las manos, consultad este [enlace](#).
- Cubrid las heridas de las manos con un apósito impermeable.
- Quitaos los anillos y joyas de las manos antes de trabajar. No podéis llevar las uñas pintadas.
- No podéis llevar lentillas dentro del laboratorio.
- No podéis comer, beber ni fumar en el laboratorio, ni tan siquiera masticar chicle.
- No guardéis alimentos ni bebidas en las neveras del laboratorio.
- Mantened el lugar de trabajo limpio y ordenado. Guardad la ropa y objetos personales en armarios o espacios seguros.
- No debéis pipetear nunca con la boca. Utilizad siempre pipeteadores manuales o automáticos, propipetas, etc. Las pipetas deben tener tapones de algodón para evitar la contaminación.
- Mantened las ventanas y puertas del laboratorio cerradas.

2. Equipos de protección individual (EPI):

En el laboratorio tenéis que llevar en todo momento **calzado cerrado** con suela antideslizante y **bata** con manga larga. La bata no se llevará en ningún caso a casa (la UIB dispone de un servicio de limpieza). También debéis llevar **guantes impermeables** siempre que manipuléis cultivos, sangre y otros materiales u objetos potencialmente contaminados, pacientes, etc. No toquéis otros materiales (pomos de puertas, teléfonos, sillas, etc.) mientras llevéis guantes. Tampoco os toquéis la boca,

los ojos o la cara con los guantes.

Gafas de seguridad y mascarilla de celulosa tipo FFP3: se utilizarán cuando sea previsible la producción de salpicaduras o aerosoles y no podáis trabajar en la cabina de seguridad biológica. Por ejemplo, en caso de derrame de material infeccioso.



3. Cabina de seguridad biológica (CSB):

Debéis trabajar en una CSB de tipo II siempre que:

- Se puedan generar aerosoles (aspiraciones, agitación, centrifugación, sonicación, homogeneización, apertura de tubos o viales a presión, etc.).
- Se manipulen agentes biológicos que se transmiten por aire o muestras contaminadas con estos agentes (aguas residuales, etc.).

No deben confundirse las CSB con las cabinas de flujo laminar; estas últimas sólo protegen la muestra que se manipula, pero no garantizan la seguridad de las personas. No manipuléis muestras contaminadas en las cabinas de flujo laminar.

Protocolo de trabajo en la cabina de seguridad biológica

- Antes de comenzar el trabajo poned en marcha la CSB durante 5 minutos, con el objetivo de obtener un flujo de aire estable. Si dispone de luz ultravioleta, encendedla. Al acabar el trabajo, dejad la CSB en marcha un mínimo de 5 minutos.
- Antes de comenzar el trabajo, situad el material necesario dentro de la cabina, para evitar la entrada y salida continua de material. Por ejemplo, colocad el recipiente para puntas de pipeta usadas dentro de la CSB y no fuera.
- Antes de introducir o de sacar el material, debéis descontaminar el envase.
- Trabajad a unos 10 cm del borde de la CSB hacia el interior.
- No debéis obstruir las rejillas de aire posteriores o frontales con materiales.
- Evitad las corrientes de aire procedentes de puertas, ventanas, aires acondicionados, movimiento de personas, etc., porque pueden alterar el flujo vertical. Al mover los brazos y manos en el interior de la cabina, hacedlo lentamente.
- No utilizéis el mechero Bunsen en la CSB, porque la llama provoca turbulencias en el flujo de aire y puede dañar el filtro HEPA. Podéis utilizar asas estériles desechables o esterilizar las asas con un microincinerador.
- Recoged inmediatamente cualquier derrame accidental de material biológico dentro de la CSB, y después descontaminad la superficie y todo el material que esté en la cabina.
- El filtro HEPA debe substituirse periódicamente según indique el fabricante.

4. Prevención con objetos punzantes y cortantes:

- Evitad el uso de jeringuillas. Si es inevitable, utilizad jeringuillas de seguridad.

- Cuando sea posible, substituid el material de vidrio (tubos, pipetas, botellas, etc.) por material de plástico.
- Trabajad con la máxima precaución cuando manipuléis objetos cortantes o punzantes.
- Nunca reencapsuléis las agujas ni los objetos cortantes o punzantes: depositadlos directamente en los contenedores rígidos de bioseguridad (amarillos).



5. Gestión de residuos sanitarios:

- Los residuos sanitarios se retiran mensualmente a través de una empresa autorizada, para su incineración posterior. Existen dos tipos de contenedores: **amarillos** (para objetos punzantes y cortantes contaminados, como agujas, cúteres, vidrio roto contaminado, portaobjetos de microscopía, etc.) y **negros** (para sólidos contaminados: placas, etc.).
- El laboratorio debe tener un contenedor diferenciado para vidrio roto limpio (libre de microorganismos). No depositéis vidrio roto contaminado en el contenedor para vidrio limpio.
- No llenéis en exceso los contenedores de residuos. En caso necesario, solicitad un contenedor nuevo a los oficiales de laboratorio.
- No tiréis material contaminado directamente por el desagüe ni a la basura ordinaria.
- Los residuos sólidos (placas de cultivos, tubos con cultivos, puntas de pipeta, guantes o papel contaminado, etc.) se guardarán en bolsas de autoclave. Una vez esterilizado, el material se depositará en contenedores negros de bioseguridad para su retirada posterior.
- Los tubos de vidrio con cultivos se colocarán en gradillas y se autoclavarán. Después se puede tirar el líquido por el desagüe y limpiar los tubos.



Para más información sobre la gestión de residuos, consultad este [protocolo](#).

6. Desinfección y esterilización:

Cuando acabéis el trabajo, **desinfectad** las superficies (mesa de trabajo, cabina, interior de la centrífuga, pipetas, etc.), aplicando uno de estos productos:

- Hipoclorito sódico (lejía) diluido en agua: al 1% final de cloro activo si la superficie está muy contaminada (por ejemplo con sangre) o al 0,5% de cloro activo si la superficie está poco contaminada. La solución debe ser fresca del día y debe dejarse en contacto con los objetos 20 minutos como mínimo.
- Solución fresca de etanol al 70%, que debe dejarse actuar al menos 5 minutos.
- Un desinfectante comercial de amplio espectro, siguiendo las instrucciones del fabricante.

La eficacia de los desinfectantes está limitada por la presencia de materia orgánica;

por eso, es importante que el instrumental se limpie con agua y jabón antes de aplicar el desinfectante.

La esterilización provoca la destrucción de todos los microorganismos, incluyendo las esporas bacterianas. Lo más frecuente en los laboratorios es la esterilización por calor húmedo (autoclave), durante 20 minutos a 121 °C y 1,1 atmósferas de presión. Es importante comprobar periódicamente que la autoclave funciona correctamente, para lo cual existen tests microbiológicos en el mercado.

7. Reducid la generación de aerosoles y evitad la dispersión de material infeccioso:

- Es más seguro utilizar asas desechables o un microincinerador eléctrico para esterilizar las asas de siembra, en lugar de mecheros Bunsen.
- Cualquier técnica que pueda generar aerosoles (aspiraciones, sonicación, homogeneización, apertura de tubos a presión) se realizará en una CSB.
- Emplead tubos con tapón de rosca en lugar de tapón a presión, para evitar salpicaduras.

8. Vacunación (inmunización activa):

Debe vacunarse todo el personal que trabaje en ambientes donde exista contacto, tanto directo como indirecto, con sangre u otros fluidos biológicos de personas infectadas, aguas residuales u otras fuentes de contaminación.

Por ejemplo, os debéis vacunar contra la hepatitis B si manipuláis sangre humana y contra la hepatitis A si trabajáis con aguas residuales. Además, tenéis que pasar periódicamente los reconocimientos médicos específicos. En caso de duda, acudid a la unidad médica del Servicio de Prevención de la UIB.

9. Transporte y almacenamiento de microorganismos y muestras:

Si tenéis que transportar microorganismos o muestras potencialmente contaminadas con agentes biológicos, debéis emplear contenedores secundarios herméticos para evitar derrames accidentales. Los recipientes deben llevar la señal de riesgo biológico.



El envío de microorganismos o muestras contaminadas a otros laboratorios se hará a través de una empresa de transporte que cumpla la normativa vigente y utilizando los contenedores y etiquetas de bioseguridad proporcionados por dicha empresa. El personal que recibe y envía las muestras debe conocer los riesgos y debe estar capacitado para adoptar las precauciones generales de bioseguridad, en especial cuando manipule recipientes rotos.

Las muestras biológicas se deben almacenar en zonas de acceso restringido, en neveras o congeladores señalizados, los cuales deben estar conectados al grupo

electrógeno de emergencia del edificio.

10. Emergencias:

Los accidentes biológicos incluyen los derrames de muestras contaminadas y los pinchazos, cortes o salpicaduras en la piel o en las mucosas con sangre u otros fluidos corporales, cultivos, aguas residuales, etc., así como las mordeduras y arañazos de animales.

Actuación inmediata:

- **Derrames:** si se rompe material de vidrio contaminado, pones guantes y recoged el cristal roto de forma segura (mejor con pinzas) y depositadlo en los contenedores de residuos sanitarios. Absorbed el líquido derramado con papel y descontaminad las superficies con una solución de cloro activo al 1%. Después autoclavad todos los residuos generados.
- **Heridas o pinchazos:** forzad la salida de sangre y después lavad la herida con agua y jabón. A continuación, desinfectad la herida con povidona yodada.
- **Salpicadura** en la mucosa del ojo o la boca: lavad con suero fisiológico o con el lavajos de emergencia durante 5 minutos.
- **Ingestión accidental** de material contaminado: acudid directamente a la unidad médica del Servicio de Prevención.

Después de la actuación inicial, debéis ir a la unidad médica (edificio Cas Jai, de 8 a 17.30 h, extensión 34 61). Si el accidente se produce fuera del horario de la unidad médica, dirigiros al hospital Son Espases o a la Mutua Balear.

En este [enlace](#) podéis consultar el procedimiento completo en caso de accidente biológico.

Normas específicas para la manipulación de animales

Además de las instrucciones generales anteriores, se deben tener en cuenta estas normas:

Prácticas de trabajo:

1. La manipulación de animales sólo está autorizada en el animalario de la UIB.
2. Todas las jaulas, boxes o cajas de confinamiento deben etiquetarse con la identificación de los animales que se alojan en ellas. Esto es especialmente importante cuando los animales se hayan infectado de manera intencionada.
3. Sólo se permitirá la entrada al animalario al personal autorizado.

4. Se observará una estricta higiene personal, prestando especial atención al lavado de manos, que se realizará después de la manipulación de los animales vivos o muertos, después de quitarse los guantes y siempre antes de salir de la unidad animal.
5. Las heridas que se produzcan al manipular los animales se tratarán inmediatamente (estimulación de la hemorragia, lavado con agua y jabón, protección de la herida con apósito y, si fuera necesario, tratamiento farmacológico).
6. Las superficies de trabajo se descontaminarán con un desinfectante efectivo después de usarlas y cuando se produzcan salpicaduras o derrames de material infeccioso. Asimismo, al finalizar el trabajo con materiales infecciosos, todos los equipos deben ser descontaminados. También se descontaminarán los equipos antes de realizar operaciones de mantenimiento o reparación, antes de sacarlos del animalario o cuando haya cambio de procedimiento para evitar la contaminación cruzada. Estas operaciones deben llevarse a cabo con los EPI adecuados.
7. Está prohibido salir del animalario con la ropa de trabajo y/o los EPI.
8. Los procedimientos de trabajo deben estar diseñados de tal forma que impidan o minimicen la generación de aerosoles. Si esto es imposible, se debe trabajar en la CSB de clase II. Esto también será de aplicación cuando se realicen actividades con manipulación de material infectado, incluyendo los propios animales.
9. El transporte de equipos, materiales y residuos para su limpieza, desinfección o eliminación debe hacerse en contenedores adecuados, perfectamente identificados y cerrados.
10. El transporte de los cadáveres para su eliminación se realizará en contenedores estancos, que eviten derrames. Los cadáveres se guardarán en el arcón congelador disponible para tal fin y finalmente serán incinerados.
11. Todos los accidentes, incluidos mordeduras y arañazos, deben comunicarse a la persona responsable del animalario.
12. Se debe notificar inmediatamente cualquier enfermedad o muerte inesperada que se produzca entre los animales. No se tocarán los animales que presenten una enfermedad imprevista mientras no se reciban instrucciones específicas de la persona responsable de la unidad animal.
13. Todo el personal que trabaje con animales deberá estar inmunizado contra el tétanos y contra las otras enfermedades que considere la unidad médica del Servicio de Prevención de la UIB según el material biológico con el que se trabaje.
14. Deben respetarse los flujos de desplazamiento de personas, materiales y animales establecidos (siempre de zona limpia a zona sucia, nunca al contrario).

Equipos de protección individual (EPI):

1. Se usarán los EPI adecuados al riesgo. La ropa de protección, guantes, calzado, etc. deben ser resistentes a mordeduras y arañazos.
2. Se recomienda utilizar mascarilla y gafas de seguridad para prevenir la sensibilización a los alérgenos existentes en el animalario. Su uso es obligatorio cuando se realicen operaciones susceptibles de generar aerosoles, salpicaduras o proyecciones, como necropsias, recolección de tejidos o inoculación intranasal de animales infectados, por ejemplo.
3. Se dispondrá de dispositivos seguros para inmovilizar al animal, cuando sea necesario, como en la toma de muestras o la administración de sustancias.
4. Al salir del animalario o de las instalaciones de la unidad animal se procederá a limpiar y, si corresponde, desinfectar los elementos de protección utilizados que no sean desechables.

Normas específicas para la manipulación de cultivos celulares

Para la manipulación de cultivos celulares son de aplicación las normas generales mencionadas anteriormente. De manera específica, el trabajo con cultivos celulares en la UIB requiere el cumplimiento de las normas de bioseguridad siguientes:

Instalaciones y acceso:

1. El trabajo con cultivos celulares sólo puede realizarse en instalaciones y laboratorios autorizados por el Comité de Bioseguridad de la UIB.
2. El acceso a las instalaciones y laboratorios autorizados está restringido al personal con formación acreditada en la manipulación de cultivos celulares.

Normas de trabajo:

1. Es obligatorio utilizar equipos de protección individual (EPI) adecuados a la manipulación que se lleve a cabo. Hay que disponer de una bata de uso exclusivo para cultivos que debe dejarse en las mismas instalaciones de cultivos.
2. Con la excepción de las líneas celulares bien caracterizadas y los cultivos primarios obtenidos de animales certificados SPF, la manipulación del resto de cultivos celulares se llevará a cabo en una cabina de seguridad biológica (CSB) de tipo II. En caso de duda, consultad el manual del curso de bioseguridad o contactad con el Comité de Bioseguridad.
3. Los cultivos celulares contaminados se manipularán de acuerdo al nivel de bioseguridad correspondiente al agente infeccioso, y con el visto bueno del resto de usuarios de las instalaciones.

4. Observad las normas generales de uso de la CSB (ver “Protocolo de trabajo en la CSB”, página 2). En el caso de las instalaciones de cultivos celulares, es recomendable dejar siempre encendida la luz ultravioleta, aunque la CSB esté apagada, para minimizar contaminaciones accidentales.
5. Trabajad siempre con material estéril, abierto dentro de la CSB, manteniendo las condiciones óptimas de limpieza e higiene.
6. Limpiad y desinfectad siempre el material antes y después de la rutina de trabajo y, especialmente, en el caso de derrames de medio de cultivo.
7. En cultivos de larga duración, verificad periódicamente sus propiedades y realizad controles de contaminación por *Mycoplasma*.

Residuos:

1. Los residuos líquidos del cultivo celular deben recogerse por aspiración dentro de un recipiente que contenga lejía. Después de la rutina de trabajo, se aspirará un desinfectante (por ejemplo, etanol al 70%) para limpiar el sistema de aspiración.
2. Los residuos sólidos provenientes de los cultivos se autoclavarán en bolsas de autoclave y después se guardarán en contenedores negros de bioseguridad para su posterior retirada. Los residuos punzantes o cortantes se depositarán en los contenedores amarillos.
3. Los residuos de papel, cartón y plástico que no hayan estado en contacto con material biológico se tirarán a la papelera ordinaria.

Normas específicas para la manipulación de plantas modificadas genéticamente (MG)

Los diferentes registros y formularios que debe rellenar el investigador responsable del experimento están explicados en el manual del curso de bioseguridad.

Normas específicas de trabajo:

Como norma general, las plantas MG se cultivarán de manera separada en el tiempo con otras plantas no modificadas genéticamente. Se aceptarán excepciones debidamente justificadas en base a criterios experimentales.

Es imprescindible identificar qué plantas son MG. La identificación se llevará a cabo mediante el etiquetaje de las macetas con el código de Registro de Entrada. De esta forma, el mismo código de Registro de Entrada servirá para identificar las semillas almacenadas y las plantas que se estén cultivando.

Para minimizar el riesgo de flujo genético, y como norma general, se terminará el experimento antes de la antesis o apertura de las flores. Alternativamente, se cortarán las flores antes de la antesis. Se aceptarán excepciones debidamente justificadas en base a criterios experimentales.

Como norma general, la puerta de la instalación confinada estará cerrada.

El responsable de vigilancia y control de la instalación de confinamiento revisará periódicamente el cumplimiento de las medidas de confinamiento y de protección.

Principios generales de trabajo:

Todo el personal que manipule plantas MG está obligado a asistir y superar el curso de bioseguridad de la UIB, específicamente el módulo de utilización confinada de plantas MG.

Todo el personal que manipule plantas MG deberá cumplir las normas generales de bioseguridad citadas al principio de este documento.

Todo el personal que manipule plantas MG utilizará bata de laboratorio y atenderá las medidas de protección personal adicionales requeridas para el experimento concreto que se lleve a cabo. En el caso de utilizar guantes, se desecharán en las bolsas de autoclave dobles previstas al efecto en cada una de las dos secciones. Las batas no se deben sacar de la instalación de confinamiento, sino que se guardarán en las perchas previstas a la salida de la misma.

Inactivación de cultivos y material en contacto con plantas MG y limpieza de la instalación:

Una vez acabado cada experimento con plantas MG, el investigador responsable del experimento se asegurará de que la instalación quede limpia y en orden. El Registro de Cultivo incorpora información sobre el cumplimiento de limpieza de la instalación de confinamiento e inactivación de las plantas MG y residuos derivados.

Las plantas se desecharán, junto con los sustratos, en las bolsas de autoclave previstas. Las bolsas de autoclave con residuos se inactivarán en la autoclave situada en la misma Área de Fisiología Vegetal.

El resto de recipientes no desechables y la instrumentación que haya estado en contacto con las plantas MG (incluidas las macetas) se inactivarán con hipoclorito sódico a una concentración final superior al 1%, antes de proceder a su limpieza estándar. Los recipientes desechables se depositarán cerrados en la bolsa de autoclave citada.

De manera regular, el servicio de limpieza desinfectará la instalación de confinamiento (al menos dos veces al año).

Vertidos accidentales:

Se contempla una única situación potencial de vertido accidental de plantas MG en esta instalación. Debido a los volúmenes previstos de trabajo, en todos los casos se tratará de vertidos de pequeñas dimensiones. En el caso de vertidos de cultivos de plantas, las plantas que no puedan ser reutilizadas se recogerán individualmente y se desecharán en las bolsas de autoclave. El resto de residuos sólidos se recogerán con papel y se depositarán en las mismas bolsas. El suelo y las superficies afectadas se limpiarán con papel empapado en hipoclorito de sodio al 20% o en etanol al 70%. Los papeles se desecharán en la bolsa de autoclave. Las bolsas de autoclave con residuos se inactivarán en la autoclave situada en la misma Área de Fisiología Vegetal.

En caso de accidente, el investigador responsable del experimento incluirá la información relevante en el Registro de Cultivo e informará con la mayor brevedad posible al responsable de vigilancia y control de la instalación de confinamiento.

Almacenamiento y transporte de plantas y semillas MG:

El almacenamiento, cultivo (incluida la germinación) y manipulación de cualquier planta MG únicamente puede realizarse en la instalación de confinamiento fitotrón.

El transporte por cualquier medio de plantas MG (o sus semillas o partes) requerirá de una evaluación del riesgo para la salud humana y el medio ambiente y se cumplirán las normas específicas de seguridad e higiene profesional (artículo 13.2 del Real Decreto 178/2004). El transporte de plantas MG (o sus semillas o partes) desde o hacia el exterior de la Unión Europea debe ir acompañado de la documentación establecida en el Protocolo de Cartagena, de seguridad en biotecnología. Para más información, consultad el manual del curso de bioseguridad o contactad con el responsable de vigilancia y control de la instalación de confinamiento.

Invernadero de bioseguridad de nivel 2:

Consultad el manual del curso de bioseguridad y cumplid las indicaciones del responsable técnico de la instalación.