



<https://doi.org/10.18233/apm.v45i5.2838>

Consideraciones básicas de bioseguridad para la elaboración de protocolos de investigación biomédica en el Instituto Nacional de Pediatría, México

Biosafety basic principles for writing a biomedical research protocol for the Instituto Nacional de Pediatría, México.

Juan Luis Chávez Pacheco,^{1,2} Sandra Elena Ramos Ángeles,^{1,3} José Antonio Velázquez Aragón,^{1,4} Adriana Reyes León,^{1,5} Saúl Gómez Manzo,^{1,6} Luz Belinda Ortiz Alegría,^{1,7} Sara Elva Espinosa Padilla,^{1,8} Roberto Enrique Jaloma Avendaño,^{1,9} Joaquín Priego y Romo,^{1,10} Karla Carvajal Aguilera^{1,11}

Resumen

La realización de investigación biomédica, es fundamental tanto en el área clínica como de la investigación; entraña una serie de peligros para las personas involucradas en estas actividades. Estos riesgos pueden ser riesgos biológicos, químicos y radiológicos. Los riesgos pueden ser mitigados o controlados con protocolos y recomendaciones adecuados. En esta guía se muestran de manera sencilla las principales medidas y consideraciones que un investigador debe conocer y observar para poder hacer una correcta evaluación de riesgos inherentes a las actividades implicadas en su protocolo. Por ende, es esencial implementar las medidas que aseguren la salud e integridad de las personas involucradas en dicho protocolo, quienes puede ser participantes o no.

PALABRAS CLAVE: Bioseguridad, riesgo biológico, riesgo químico, riesgo radiológico.

Abstract

Conducting biomedical research is essential in both the clinical and research areas. It entails a series of dangers for people involved in these activities. These risks, could be biological, chemical or radiological. These risks can be mitigated or controlled with appropriate protocols and recommendations. This guide shows in a simple way, the main measures and considerations that a researcher who carries out a protocol must know and apply, in order to make a correct assessment of the risk that the activities involved in the protocol. Thus, is essential to implement measures to ensure health and safety of involved people, whether they directly participate or not in the protocol.

KEYWORDS: Biosafety, biological hazard, chemical risk, radiological hazard.

¹ Comité de Bioseguridad en Investigación.

² Laboratorio de Farmacología.

³ Laboratorio de Citogenética.

⁴ Laboratorio de Oncología Experimental.

⁵ Laboratorio de Genética y Cáncer.

⁶ Laboratorio de Bioquímica Genética.

⁷ Laboratorio de Inmunología Experimental.

⁸ Laboratorio de Inmunodeficiencias primarias.

⁹ Banco de Sangre y Medicina Transfusional.

¹⁰ Departamento de Comunicación Social.

¹¹ Laboratorio de Nutrición Experimental. Instituto Nacional de Pediatría, Ciudad de México.

Recibido: 9 de noviembre 2023

Aceptado: 12 de agosto 2024

Correspondencia

Dra. Karla Carvajal Aguilera

karla_ca@yahoo.com

kcarvajala@pediatria.gob.mx

Este artículo debe citarse como:

Chávez-Pacheco JL, Ramos-Ángeles SE, Velázquez-Aragón JA, Reyes-León A, Gómez-Manzo S, Ortiz-Alegría LB, Espinosa-Padilla SE, Jaloma-Avendaño RE, Priego y Romo J, Carvajal-Aguilera K. Consideraciones básicas de bioseguridad para la elaboración de protocolos de investigación biomédica en el Instituto Nacional de Pediatría, México. Acta Pediatr Mex 2024; 45 (5): 511-533.

Introducción a la Bioseguridad en la Investigación Biomédica

La prevención es un mecanismo que tiene por objeto manejar los riesgos y hasta donde sea posible reducirlos y contenerlos. El principio es: mantener confinado el peligro en la misma fuente que lo produce e integrar las medidas de prevención de riesgos en las actividades que entrañan un peligro.¹

Existen dos tipos de medios de prevención: a) la protección colectiva, en la cual se acondicionan los espacios e instalaciones para las actividades que representan un peligro, y b) la protección individual, en la cual se suministra el equipo de protección personal necesario (bata, guantes, cubrebocas, etc.), se da vigilancia médica y se siguen buenas prácticas clínicas y de laboratorio (Figura 1).¹

Estas medidas permiten asegurar la protección del personal y del ambiente, así mismo, la prevención de riesgos asegura la calidad del trabajo y sus resultados. Debido a la diversidad de actividades que se realizan en la investigación científica, las fuentes de peligro son numerosas

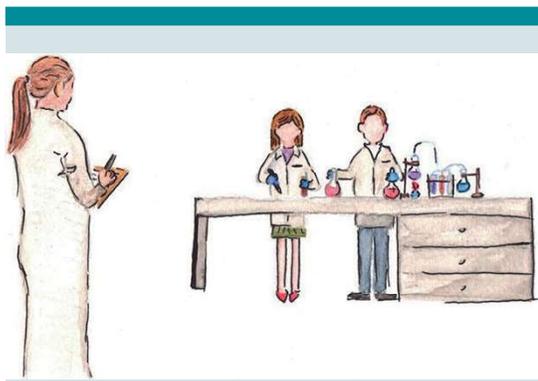


Figura 1. La protección colectiva implica la infraestructura e instalaciones, equipos de contención como campanas de bioseguridad o extintores, mientras la protección individual se refiere al uso de equipo personal como guantes, gafas, bata, etc.

y pueden presentarse de manera simultánea. Por lo tanto, es necesario identificar los riesgos para establecer las medidas de seguridad y de prevención. El **Cuadro 1** presenta una clasificación de los riesgos.²

Es importante discernir entre el peligro, el riesgo y la exposición. El **peligro** es una condición o característica intrínseca de un objeto, actividad o forma que puede causar lesión o enfermedad. El **riesgo** es la combinación de la probabilidad de que se produzca un evento y sus consecuencias negativas, mientras que la **exposición** es la frecuencia con la que se presenta la situación de riesgo (Figura 2). Ejemplo: el piso mojado es resbaloso (**peligro**) y existe un **riesgo** de caída con posibilidad de una fractura.²

La exposición a un peligro puede producir un daño o lesión, a la probabilidad de que se produzca este daño se denomina riesgo. Un agente biológico puede poseer una capacidad intrínseca de provocar un efecto nocivo para los seres humanos o el ambiente (animales, plantas y microorganismos). Sin embargo, si se manipula de forma segura, en condiciones controladas y minimizando la exposición, el riesgo al manipular este agente biológico puede ser extremadamente bajo.

Todas las decisiones de gestión de riesgos deben basarse en evaluaciones que tomen en cuenta el uso real y la exposición de los agentes peligrosos, no únicamente en las propiedades intrínsecas de un agente biológico.³

Evaluación del riesgo biológico

Para actuar eficientemente ante una realidad es necesario conocerla con antelación. Dentro de una actividad profesional, sea cual sea el riesgo, una buena prevención comienza por un buen análisis del riesgo. Analizar un riesgo biológico en el laboratorio consiste en tratar de responder a las cuestiones siguientes:

Cuadro 1. Clasificación de los tipos de riesgo

Riesgo	Descripción
Biológico	Manipulación de microorganismos patógenos, de organismos genéticamente modificados (OGM) o animales, se incluyen todas las muestras de origen humano (sangre, orina, heces y tejidos).
Químico	Uso de sustancias peligrosas, solventes, cancerígenos, mutagénicos y tóxicos, ciertos medicamentos, etc.
Radioactivo	Involucra la manipulación de fuentes radioactivas o ionizantes con peligro de dispersión.
Físico, no ionizante	Derivado de la manipulación de fuentes electromagnéticas, rayos láser, electricidad o ruido.

1.- ¿Cuáles son las fuentes de contaminación?

Se puede incluir a los microorganismos patógenos (bacteria, virus, hongos, parásitos),

priones, líneas celulares inmortalizadas, organismos genéticamente modificados (OGM), muestras biológicas (sangre, orina, heces, tejidos, etc.).



Figura 2. Riesgo y peligro. El peligro es la característica intrínseca de un objeto o circunstancia para generar un daño, el riesgo es la probabilidad de que este daño ocurra, la cual puede ser mitigada o exacerbada.

2.- ¿Cuáles son los efectos sobre la salud en el caso de que ocurra la contaminación?

El contacto con la fuente de contaminación puede generar una: a) Infección o infestación, b) Toxi-infección, c) Alergia, o la d) Implantación de un tumor. Se debe tomar en cuenta la severidad o gravedad de la contaminación sobre la salud del personal expuesto.

3.- ¿A través de qué tipo de actividades puede ocurrir esta contaminación?

Por la manipulación de las fuentes de contaminación, por las actividades de mantenimiento y limpieza de materiales, equipos y/o áreas de trabajo o por la recolección de residuos biológicos. La mayoría de las actividades en la práctica clínica o en la investigación poseen un riesgo biológico asociado a la manipulación de agentes o fuentes contaminantes.

4.- ¿Qué personas están expuestas al riesgo que representa el agente o la actividad evaluada?

El riesgo por exposición se da dentro y fuera de las áreas de trabajo, fuera del laboratorio puede presentarse diseminación accidental o por descuido en las consignas de seguridad, o hacia los lugares a donde acuden las personas expuestas (hogares, lugares públicos).

Dentro del área de trabajo distintos tipos de personas están expuestas: quienes manipulan la fuente y sus colaboradores, quienes realizan la limpieza del área o la recolección de desechos/residuos y quienes se encargan del mantenimiento de los equipos. Con menor riesgo se encuentran las personas en contacto directo con la persona que manipuló el agente (familia, amigos, etc.) y el resto de la población.

5.- ¿Dónde se sitúa el peligro o fuente de contaminación?

En forma de cultivo líquido o sólido de microorganismos, líneas celulares (silvestres o genéticamente modificadas), muestras biológicas (incluso cortes histológicos), animales ferales o de bioferio (sean infectados o no), en sus contenedores o camas de alojamiento, en las áreas de trabajo como son las mesas, equipos o materiales usados, así como en los desechos y residuos generados.

6.- ¿Cómo se puede dar la contaminación de la(s) persona(s)?

Existen diferentes vías para el ingreso de un agente biológico:

La vía respiratoria es la principal entrada de una contaminación en el laboratorio. A través de esta vía entran los aerosoles (partículas finas sólidas o líquidas), diversas acciones como el pipeteo, el traspaso de líquidos, la agitación de líquidos, la homogenización de tejidos, la sonicación, el uso del microtomo y la centrifugación son generadoras de aerosoles.

La vía digestiva está implicada por el pipeteo con la boca, onicofagia o consumo de alimentos o bebidas en el lugar de trabajo.

La vía ocular es utilizada por los agentes infecciosos cuando ocurren proyecciones del material que alcanzan el ojo (sonicación, agitación, etc.).

La vía cutánea incluye el paso del agente infeccioso a través de la piel sana o de una herida, microorganismos como *Brucella spp.* pueden atravesar una piel sana; el uso de compuestos como DMSO puede facilitar su paso. Los piquetes o cortaduras, los arañazos o mordeduras de animales, son puntos de acceso para la infección.

7.- ¿Con qué probabilidad?

La probabilidad de estar expuesto a un peligro es un parámetro importante en un análisis de riesgo; sin embargo, en la manipulación de agentes biológicos, es difícil atribuir al peligro un porcentaje preciso de ocurrencia. En ciertos casos podemos estimar un valor si tomamos en cuenta, por ejemplo, la frecuencia de la exposición, la infectividad del agente biológico o su resistencia al medio exterior.

Las respuestas al cuestionario permiten definir las medidas de prevención que deben ser implementadas, así como las etapas en las que deben ser aplicadas.⁴

Clasificación del Riesgo Biológico

La clasificación de los agentes biológicos refleja primordialmente el juicio emitido sobre sus riesgos inherentes. Como ya se mencionó, éstos se evalúan con base en factores que incluyen la severidad de la enfermedad que causan, la rutas o vías de infección, su virulencia e infectividad (**Figura 3**).

Estos juicios deben tener en cuenta la existencia de terapias efectivas, a nivel local y regional, tomando en cuenta la resistencia a antibióticos y los medicamentos disponibles para la población expuesta, los sistemas de inmunización, presencia o ausencia de vectores, la cantidad del agente en cuestión. Así también, debe considerarse los posibles efectos sobre otras especies presentes en la zona, incluyendo plantas y animales.



Figura 3. Símbolo universal utilizado para identificar el riesgo biológico.

De acuerdo a las directrices de la Organización Mundial de la Salud (OMS), los agentes biológicos se clasifican en cuatro grupos de riesgo según sus características, asumiendo circunstancias ordinarias en un laboratorio de investigación, o el cultivo en pequeños volúmenes para fines diagnósticos y experimentales (**Cuadro 2**).⁵ Bajo otros escenarios, la evaluación del riesgo debe apegarse a las nuevas condiciones.

Los laboratorios de investigación también se clasifican en niveles de Bioseguridad del I al IV, de acuerdo al grupo de riesgo que en ellos se manejan. La clasificación hace referencia a las instalaciones, equipos de seguridad y de protección personal necesarios para minimizar el riesgo de exposición y el manejo seguro de los agentes infecciosos.⁵

Manejo de muestras biológicas

Se debe considerar a todas las líneas celulares como potencialmente infecciosas dado que pueden contener o estar infectadas con diver-

sos agentes biológicos. Así, las líneas celulares de primates derivadas de tejidos tumorales o linfoides, todas las líneas de primates expuestas o transformadas por virus oncogénicos, **todas las muestras de tejidos y fluidos humanos**, los tejidos de primates, las líneas celulares nuevas al laboratorio (hasta demostrar que estén libres de agentes peligrosos), las líneas celulares conteniendo virus o micoplasma deben ser **clasificadas y manejadas en nivel de bioseguridad 2**.⁶

Los riesgos de manipular muestras biológicas, confiere la posibilidad de manejar patógenos dentro de las muestras (**Figura 4**). Toda muestra humana, debe ser manipulada y/o conservada como contención de **nivel 2**. Por otro lado, sí se sospecha alguna infección, la contención corresponderá al riesgo del agente biológico en cuestión (Manual de bioseguridad en el laboratorio OMS).⁷

Sangre

Para el manejo de muestras de sangre debe tomarse algunas consideraciones:

1. Ser obtenidas por personal calificado para ello. Preferentemente, sustituir los sistemas convencionales de aguja y jeringuilla por dispositivos de seguridad de uso único que permitan recoger la sangre directamente en tubos de transporte o de cultivo al vacío. La extracción y procesamiento de suero sanguíneo humano será realizado por personal entrenado y con conocimientos del manejo de muestras sanguíneas.
2. Los contenedores para material biológico deben tener una etiqueta externa, la cual indique: la naturaleza del material, el nivel de bioseguridad, la fecha y el laboratorio de origen. Si el tamaño del contenedor no permite incluir todos los datos, entonces deberán anotarse en una hoja separada

Cuadro 2. Clasificación de los agentes biológicos según la OMS

Grupos de Riesgo	Alcance	Características del agente
Grupo I	Riesgo individual y poblacional escaso o nulo	Pocas probabilidades de provocar enfermedades en el ser humano o los animales, o de dañar el ambiente
Grupo II	Riesgo individual moderado, riesgo poblacional bajo	Provoca enfermedades a humanos o animales, con pocas probabilidades de entrañar un riesgo grave para el personal de laboratorio, la población, o el medio ambiente. En caso de una infección existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces y existe un riesgo bajo de propagación
Grupo III	Riesgo individual elevado, riesgo poblacional bajo	Genera enfermedades humanas o animales graves, aunque no se propagan de un individuo a otro. Existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces
Grupo IV	Riesgo individual y poblacional elevado	Provoca enfermedades graves en el ser humano o los animales y que se transmiten fácilmente de un individuo a otro, directa o indirectamente. Normalmente no existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces

incluida en un sobre plástica, este sobre acompañará al contenedor pero sin envolverse sobre el mismo.

- Los sobrantes de muestras clínicas o biospecímenes que resulten del pro-

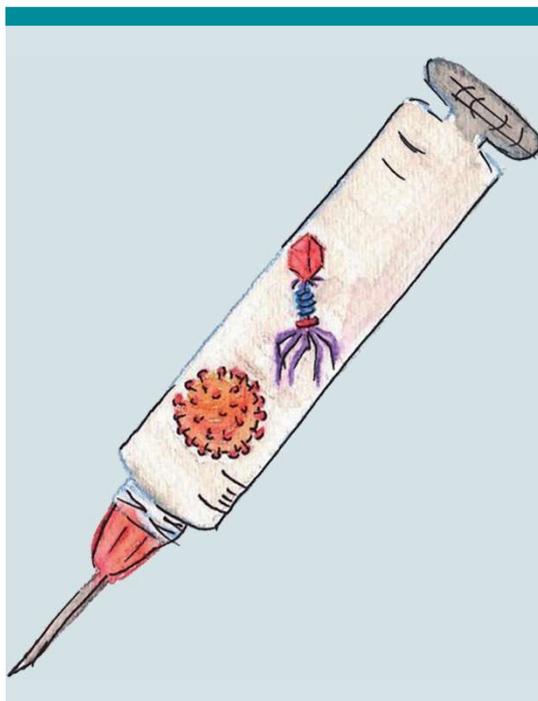


Figura 4. Toda muestra biológica puede contener un agente patógeno.

esamiento deberán ser descontaminados previo a su desecho (por autoclave, cloración, etc.). El material de vidrio conteniendo residuos biológicos deberá desecharse en cajas para punzocortantes biológico-infecciosos. Los tubos y otro material de plástico deberán desecharse en contenedores e incinerarse, ya sea localmente o por una compañía de manejo de desechos acreditada (Manual de bioseguridad en el laboratorio).⁷

Suero

El procesamiento del suero lo realizará personal debidamente capacitado, portando guantes y el equipo protector de ojos y mucosas. Las buenas prácticas reducen al mínimo las generación de aerosoles y salpicaduras. La sangre y el suero deberán pipetearse en vez de verterse y bajo ninguna circunstancia se pipetearán con la boca. Las pipetas usadas se sumergirán en el desinfectante apropiado por el tiempo necesario hasta su lavado, esterilización o desecho final.

Para la eliminación de los tubos de ensayo conteniendo coágulos de sangre se colocará de nuevo su tapa y posteriormente en los recipientes para Residuos Peligrosos Biológico Infecciosos (RPBI) para su disposición final por autoclave o

incineración. Se deberá contar con desinfectantes apropiados para limpiar las salpicaduras y los derrames de material.³

Tejidos y cultivos celulares

Los principales riesgos biológicos por la manipulación de células, líneas celulares o tejidos, derivan de la posible presencia y transmisión de agentes infecciosos como virus: hepatitis B (HBV), de la inmunodeficiencia (HIV y SIV), hepatitis C (HCV), linfocitotrópico (HTLV), de Epstein-Barr (EBV), papilomavirus humanos (HPV) y citomegalovirus (CMV) al igual que por el potencial que tienen de albergar agentes exóticos menos comunes como *Mycobacterium tuberculosis*, filovirus, flavivirus, etc.

Como se ha mencionado anteriormente, toda célula, línea celular (silvestre o inmortalizada) o tejido debe manipularse bajo un nivel de bioseguridad 2, a menos que la naturaleza del agente patógeno que se esté manipulando motive a incrementar las precauciones (**Figura 5**). Cualquier célula o línea celular conocida por albergar secuencias nucleotídicas virales también constituye un riesgo biológico para el personal del laboratorio y deben tomarse las medidas de bioseguridad adecuadas.^{7,8}

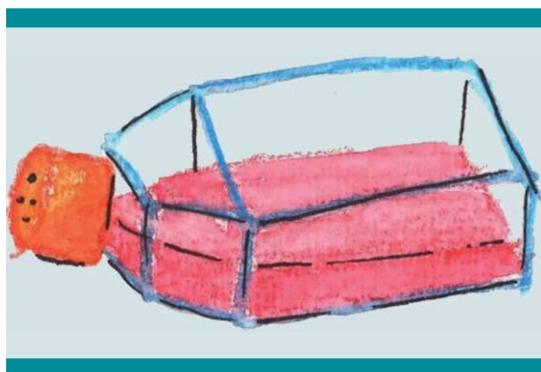


Figura 5. Cultivo celular. Las líneas celulares se deben manipular con un nivel de bioseguridad 2, siempre que no contenga un patógeno que implique elevar el nivel de bioseguridad.

El personal de laboratorio que manipula muestras que contienen agentes infecciosos deberá aportar una muestra de suero basal para evaluar una posible infección ocupacional y recibir las inmunizaciones necesarias. Bajo ninguna circunstancia se debe manipular células o líneas celulares autólogas, es decir los donadores de las muestras para transformar a líneas celulares no deberán manipular estos cultivos celulares, debido al riesgo de inmunotolerancia que implican ante inoculaciones accidentales.^{3,9}

Manipulación y transporte de muestras biológicas

Es importante tomar en cuenta los métodos técnicos destinados a evitar o reducir al mínimo los accidentes más comunes provocados por la manipulación y transporte de muestras biológicas.

Para la **manipulación** deberá usarse los equipos de protección personal (bata, guantes, lentes, etc.) y los dispositivos adecuados (gradillas o contenedores).

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

Traslado de muestras dentro de la instalación.

Para evitar fugas o derrames accidentales, deben utilizarse envases/embalajes secundarios como cajas o hieleras equipados con gradillas, de modo que los recipientes que contienen las muestras se mantengan en posición vertical. Los envases/embalajes secundarios pueden ser de metal, plástico o unicel, deberán asegurar un cierre que garantice el aislamiento completo, se deberán descontaminar periódicamente mediante autoclave o por acción de desinfectantes químicos.

El embalaje debe contener datos de identificación del material que se transporte (tipo de muestra, proyecto y responsable de las muestras). Los formularios de petición de examen se colocarán en bolsas o sobres impermeables separados. El personal de recepción no debe abrir estas bolsas.

Para un traslado correcto y asegurar la trazabilidad de las muestras, es necesario identificar al responsable de la toma de muestras, el personal que las traslada desde del sitio de toma al laboratorio de análisis y, el personal que la recibe, ocasionalmente puede ser la misma persona.⁷

Recepción de las muestras

Se sugiere que los laboratorios receptores de muestras destinen una zona especial con este propósito. El personal que las recibe y desempaqueta debe conocer los riesgos para la salud que conlleva tal actividad y estar capacitado para adoptar las precauciones necesarias, especialmente en el manejo de recipientes rotos o con fugas. Los recipientes primarios de las muestras deberán abrirse en una cámara de bioseguridad, disponer de desinfectantes y medidas de contención de derrames.^{3,7}

Para su disposición, los cultivos o muestras, deberán ser primero sometidos a autoclave y después colocados en recipientes impermeables (bolsa para desecho), selladas en la parte superior y luego colocarse dentro de los contenedores para RPBI.

Las zonas de trabajo se **descontaminarán** apropiadamente después de cada periodo de trabajo. Para el uso de las cámaras de seguridad biológica se deberá explicar a los usuarios el modo de empleo y las limitaciones de estas cámaras, tomando como referencia las normas nacionales y las publicaciones pertinentes.³

Recolección, etiquetado y envío de muestras biológicas

En el caso de que se requiera enviar las muestras hacia otra Institución (transporte nacional o internacional) deberán seguirse diversos lineamientos:

Utilizar las medidas de protección personal necesarias para el manejo de las muestras, los tubos o dispositivos a enviar deberán colocarse en recipientes apropiados para el traslado al laboratorio y dentro del laboratorio (véase en el presente capítulo la sección sobre **traslado de muestras**).

El **transporte de material infeccioso** y potencialmente infeccioso está sometido a **reglamentaciones nacionales e internacionales estrictas**, la reglamentación describe el uso apropiado de materiales de embalaje/envasado y otros requisitos.

El personal de laboratorio debe enviar las sustancias infecciosas de acuerdo con las normas de transporte aplicables, cuyo cumplimiento permitirá reducir la probabilidad de que los embalajes/envases se estropeen y derramen su contenido, el número de exposiciones que den lugar a posibles infecciones y mejorar la eficiencia de la entrega de los envíos.

El sistema básico de triple embalaje. Este sistema es el preferible para el transporte de sustancias infecciosas y potencialmente infecciosas, consta de tres componentes: el recipiente primario, el embalaje/envase secundario y el embalaje/envase externo.

El recipiente primario, que contiene la muestra, debe ser a prueba de fugas y debidamente etiquetado, estar envuelto en material absorbente para todo el líquido en caso de rotura/fuga. El recipiente primario se introduce en un segundo



embalaje/envase protector, hermético y a prueba de fugas. Pueden colocarse varios recipientes primarios en un solo embalaje/envase secundario. Existe reglamentación referente a los límites en relación con el volumen o el peso de las sustancias infecciosas envasadas. El embalaje/envase externo protege el embalaje/envase secundario de los daños físicos durante el transporte.⁷

Las etiquetas de cada muestra, las cartas y demás material debe incluir la información necesaria para **ser identificada(s)** o descritas, así como **identificar al remitente** y al **destinatario**. Para realizar el envío, deberá utilizarse, de preferencia, empresas certificadas y especializadas en el manejo de este tipo de muestras.⁸

Limpieza del material de laboratorio

La limpieza consiste en la eliminación de suciedad, materia orgánica y manchas, incluye el cepillado, la aspiración, el desempolvado en seco, el lavado o el fregado con un paño y agua con jabón o detergente. La suciedad, la tierra y la materia orgánica pueden albergar microorganismos e interferir con la acción de los descontaminantes (antisépticos, germicidas químicos y desinfectantes).

La limpieza previa es fundamental para conseguir una correcta desinfección o esterilización. Muchos productos germicidas sólo son activos sobre material previamente desinfectado. Deberán utilizarse materiales que sean químicamente compatibles con los germicidas que vayan a utilizarse después. Es muy frecuente utilizar el mismo germicida químico para la limpieza previa y la desinfección.⁷

Manejo de residuos peligrosos biológico-infecciosos

Como ya se mencionó, se les denomina **Residuos peligrosos biológico infecciosos (RPBI)** a los generados por la atención médica o de inves-

tigación, los cuales pueden contener agentes biológico-infecciosos que pueden causar efectos nocivos a la salud o al medio ambiente.

Sólidos

Los RPBI deberán disponerse adecuadamente, materiales en estado sólido deben ser esterilizados y colocados en bolsas de plástico color rojo con la leyenda grabada de RPBI y el logo correspondiente. Todo medio de cultivo sólido o gelificado será esterilizado en autoclave antes de ser colocado en las bolsas para RPBI, los consumibles de plástico (cajas Petri, placas de 6, 24, 96 pozos, etc.) que hayan entrado en contacto con medios de cultivo tisular o células cultivadas serán esterilizados en autoclave previo a su colocación en las bolsas rojas para RPBI.

Las bolsas no deberán llenarse a más del 75% de su capacidad, el laboratorio debe contar con un lugar específico para su almacenamiento en un lugar fresco, seco. El responsabilidad del personal que genera estos residuos realizar las siguientes actividades: Identificación (separación), envasado (etiquetado), almacenamiento temporal y tratamiento interno.

Los residuos serán retirados exclusivamente por el personal capacitado y contratado por la Institución. El prestador de los servicios fuera de las instalaciones del establecimiento generador, consignará: las áreas de almacenamiento, recolección, transporte externo y acopio, así como el tratamiento y la disposición final.¹⁰ El material de vidrio será esterilizado por autoclave previo a su lavado para reutilización.¹⁰

Líquidos

En el caso de líquidos serán colocados en envases de plástico rígido, de color rojo, esterilizados en autoclave, sellados herméticamente, contendrán la leyenda RPBI y el logo correspondiente. Los residuos de medios de cultivos que contenen-

gan microorganismos pueden ser esterilizados en autoclave o inactivados con hipoclorito de sodio antes de ser vertidos al drenaje o en su defecto colocados en las bolsas rojas de RPBI (máximo al 75% de su capacidad).

Los materiales que se utilizaron para la manipulación de organismos, ejemplo: transfectar o transformar células, deberán ser descontaminados (por adición de hipoclorito de sodio o en autoclave) antes de ser colocados en los contenedores rígidos de RPBI o lavados para su reutilización (Figura 6).³

Punzocortantes

Las agujas, navajas, escalpelos, microcapilares y otros materiales punzo-cortantes serán colocados en el contenedor rígido de color rojo para punzocortantes, estos poseen un mecanismo para facilitar el ingreso de estos dispositivos. Se



Figura 6. La disposición de residuos peligrosos biológico infecciosos (RPBI) debe ser realizada por personal capacitado para ello y en bolsas que porten el logo de material biológico infeccioso.

debe desechar solo el material punzocortante sin protección o capucha (agujas, bisturís, etc.).⁹

Los residuos pequeños de cristalería rota, como pipetas de vidrio o capilares, si estuvieron en contacto con material biológico, serán colocados en los contenedores rígidos para punzocortantes; sin embargo, si se emplearon para bioespecímenes sumamente peligrosos entonces deberán descontaminarse para minimizar el riesgo de liberar microorganismos o agentes patógenos al medio ambiente antes de colocarlos en los recipientes correspondientes.^{7,9}

Los punzocortantes no deberán ser doblados o mutilados para introducirlos al contenedor, no deberá forzarse la introducción y bajo ninguna circunstancia se introducirá las manos o los dedos al interior de estos recipientes. No se debe abrir los contenedores para verter su contenido a otros recipientes. El personal capacitado y contratado por la Institución retirará los contenedores antes de alcanzar el 75% de llenado. Las tapas de los contenedores de punzocortantes no deberán ser removidas tras haber sido selladas.³

Crioseguridad

Existen riesgos por la exposición a gases (nitrógeno, anhídrido carbónico) o líquidos (oxígeno o nitrógeno líquido), como quemaduras térmicas por congelación o asfixia anoxémica. La asfixia anoxémica puede producirse como resultado del almacenamiento de nitrógeno líquido y anhídrido carbónico, los cuales al evaporarse/sublimarse desplazan el aire respirable de espacios confinados o mal ventilados.

La fase líquida del nitrógeno (LN_2) alcanza temperaturas de hasta $-196\text{ }^\circ\text{C}$ mientras que la fase gaseosa de hasta $-156\text{ }^\circ\text{C}$. Ambas temperaturas pueden ocasionar lesiones térmicas inmediatas y severas a la piel desprotegida. El LN_2 expande su volumen 700 veces al evaporarse, de tal modo que un litro de LN_2 efectivamente desplazará casi



1 metro cúbico de aire respirable al evaporarse. El nitrógeno gaseoso es inodoro e incoloro, las nubes que salen del tanque de LN₂ al momento de abrirlo o llenarlo son ocasionadas por la condensación del vapor de agua ambiental y no corresponden a la nube de nitrógeno gaseoso. La evaporación del LN₂ presente en los tanques de criopreservación puede provocar la muerte por asfixia al desplazar el oxígeno de áreas confinadas o mal ventiladas.

Los tanques de criopreservación de LN₂ no deberán ser perturbados de manera innecesaria ya que esto aumenta la tasa de evaporación del nitrógeno y el desplazamiento del oxígeno.

El contenido de los tanques de criopreservación de LN₂ no deberá ser manipulado sin estar adecuadamente protegido (bata Howie, delantal grueso, careta facial y guantes de aislamiento térmico).

El LN₂ de los tanques criopreservación deberán considerarse potencialmente contaminantes e infecciosos, especialmente cuando sean empleados para almacenar líneas celulares transformadas por virus o muestras de sangre que alberguen (o que potencialmente pudieran albergar) a patógenos virales transmitidos por sangre como HBV, HIV, HCV, HTLV o CMV.

El hielo seco o dióxido de carbono sólido (CO₂) permite alcanzar temperaturas de hasta -78.5 °C. El contacto de la piel desprotegida (o protegida con guantes de látex) puede ocasionar lesiones térmicas severas en menos de 3 segundos. El hielo seco únicamente deberá ser manipulado con el equipo de protección personal adecuado (gafas, bata Howie y guantes aislantes). El hielo seco se expande al sublimarse por lo que no deberá ser almacenado en envases herméticos ni en los refrigeradores o congeladores.

Los envases plásticos, metálicos y de vidrio que entren en contacto con hielo seco o LN₂ deberán

ser manipulados con guantes aislantes y gafas o careta facial. Los guantes aislantes son holgados con la finalidad de permitir su remoción rápida en el caso de que LN₂ cayera en su interior.

Nunca se almacenará CO₂ o LN₂ en envases de cierre hermético o dentro de refrigeradores, congeladores o de la incubadora. Estos gases criogénicos se subliman o evaporan rápidamente lo que ocasiona la expansión de su volumen y la explosión de los recipientes.

La cara y el cuerpo del operador deberán mantenerse lejos de la boca de los tanques de LN₂ al introducir crioviales o cajas con el objeto de minimizar el riesgo de salpicaduras y/o explosiones provocadas por cambios de temperatura.³

Manejo de ácidos nucleicos

Desde el punto de vista químico, los ácidos nucleicos son macromoléculas formadas por polímeros lineales de nucleótidos llamados adenina (A), guanina (G), timina (T), citosina (C) y uracilo (U) que están unidos por enlaces éster de fosfato (**Figura 7**). Biológicamente los ácidos nucleicos son los portadores de la información genética y son los responsables de la herencia.¹¹

Se clasifican como:

1. Ácido Desoxirribonucleico o ADN, puede ser de doble cadena como el ADN genómico, de cadena sencilla como el ADN viral y cADN, o de cadena sencilla sintetizada como los oligonucleótidos y las sondas.¹¹
2. Ácido Ribonucleico o ARN que es de cadena sencilla. Hay diferentes tipos de ARN: el mensajero (ARNm), el ribosomal (ARNr) y el de transferencia (ARNt).¹¹

El ADN genómico y el ARN se pueden obtener de células de cualquier organismo (humanos,

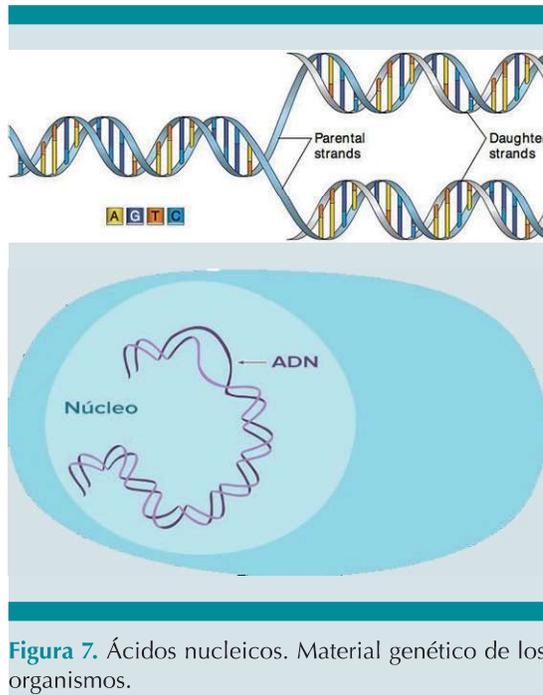


Figura 7. Ácidos nucleicos. Material genético de los organismos.

animales, plantas, hongos o bacterias), también se puede obtener de plásmidos, virus, líneas celulares y células tumorales.¹¹

La obtención o purificación de ácidos nucleicos, depende del tipo de muestra de origen (fluidos biológicos, tejido sano o tumoral, microorganismos, líneas celulares, cultivos celulares o bacterianos, plásmidos, etc.), de la cantidad de muestra disponible y del ácido nucleico que se quiera obtener (ADN o ARN).¹¹ Todos los desechos biológico-infecciosos que resulten de la extracción del material deben ser colocados en recipientes con bolsas rojas como residuos RPBI.³

Los procedimientos de obtención se deben realizar en laboratorios equipados con riesgo biológico nivel 2, por personal estrictamente capacitado. Durante el proceso se deberá utilizar guantes, bata de laboratorio, gafas de seguridad, mascarilla, campana de flujo laminar o de manejo de ácidos nucleicos.^{3,7,12} Generalmente para la

limpieza de las áreas de trabajo se utiliza etanol al 70%, detergente, luz ultravioleta, o soluciones comerciales (DNAZap, DNA, ExitusPlus).^{3,7} Para los procedimientos de obtención, purificación y manipulación de ADN o ARN, es común utilizar reactivos como trizol, fenol, cloroformo, etanol, isopropanol, ARNasa o ADNasa; en todos estos casos es necesario revisar las hojas de seguridad (Safety data sheet) para que la inactivación, disposición y desecho de cada uno de los reactivos utilizados sea de manera correcta como desechos de tipo Corrosivos, Reactivos, Explosivos, Tóxico e Inflamables (CRETI). Todos los materiales que se utilizan deberán ser estériles y libres de nucleasas.^{3,7}

Los ácidos nucleicos aislados o purificados son inocuos, por lo que su manejo dentro del laboratorio no implica riesgo para la salud o el ambiente. Sin embargo, para su manejo se recomienda realizar los procedimientos estándar de limpieza de acuerdo a las guías de las buenas prácticas de laboratorio.^{3,7} La manipulación del material genético deberá realizarse considerando los lineamientos de seguridad que se indican en los protocolos. Es muy importante mencionar que los ácidos nucleicos dejan de ser inocuos cuando se someten a diferentes procedimientos de análisis o manipulación como: Electroforesis en geles de agarosa o acrilamida, tinción con bromuro de etidio o cualquier agente que se incorpore a las cadenas del ADN o ARN, visualización con luz ultravioleta, uso de marcadores de peso molecular o líquidos criogénicos (nitrógeno líquido), reacciones de amplificación (PCR, RT-PCR, qPCR), reacciones de digestión enzimática, marcaje químico o radioactivo de ácidos nucleicos naturales o sintéticos, secuenciación, reacciones de hibridación, además de la producción de recombinantes mediante clonación.^{3,11}

Los ácidos nucleicos deben ser conservados en refrigeradores a 4°C, en congeladores a -20°C o -70°C si las muestras se almacenarán por mas

de 6 meses. Si se requiere la conservación de muestras biológicas para la obtención de ácidos nucleicos, estas deberán permanecer almacenadas en nitrógeno líquido. Es necesario utilizar contenedores adecuados para las temperaturas de almacenamiento, debidamente etiquetados indicando el tipo de ácido nucleico, la fecha, el nombre del proyecto y el nombre del investigador responsable.³

Considerando que los ácidos nucleicos son inocuos, estos se pueden desechar en la basura municipal (bolsa negra) ya que se degradan e inactivan cuando no se almacenan correctamente; para su desecho también se pueden utilizar nucleasas (DNAsas o RNAsas) que ayudan a la degradación inmediata del material genético antes de su desecho.³ Una vez que el ADN o ARN han sido manipulados dentro del laboratorio, su desecho deberá realizarse de acuerdo a las normas de seguridad establecidas dependiendo del tipo de manipulación que se realizó por ejemplo uso de agarosa o acrilamida, bromuro de etidio, SYBR-GREEN, sondas químicas o radioactivas de marcaje, mezclas de reacción con enzimas o sondas, reactivos o amortiguadores.^{3,7}

En el laboratorio los ácidos nucleicos también se pueden manipular mediante ingeniería genética para producir “ADN recombinante” (**Figura 8**). En estos casos, las “recombinantes” se construyen por medio de la inserción de segmentos de ADN natural o sintético al genoma de un hospedero como plásmidos bacterianos o virus (vectores). De manera natural la combinación de este material genético no existe; sin embargo, si se puede replicar o expresar gracias a la maquinaria genética de su vector. Con la ingeniería genética se pueden generar productos génicos específicos para su estudio en la investigación o la medicina.^{7,11}

El ADN recombinante se ha utilizado para crear organismos genéticamente modificados (OGM) como plantas transgénicas, animales

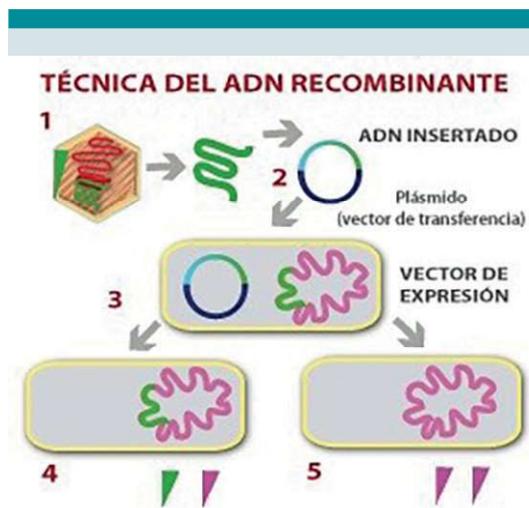


Figura 8. ADN recombinante, inserción de material genético (natural o sintético) al genoma de un hospedero.

knock-out, bacterias transformadas por uno o más plásmidos, células eucariontes transfectadas con un plásmido o infectadas con vectores virales recombinantes, animales infectados por microorganismos genéticamente recombinados.^{7,11,12} En algunos de estos productos, será necesario incrementar el nivel de bioseguridad (BSL 3 o 4), ya que se pueden generar recombinantes con riesgo biológico significativo.^{7,12} Los experimentos que involucren la creación o el uso de OGM deben realizarse después de efectuar una evaluación del riesgo biológico para determinar el nivel de bioseguridad con el que se debe trabajar. Las propiedades patógenas y cualquier peligro potencial asociado a esos organismos ya que pueden ser nuevos y no estar bien caracterizados. Hay que evaluar las propiedades del organismo donante, la naturaleza de las secuencias de ADN que van a transferirse, las propiedades del organismo receptor y las propiedades del entorno. Esos factores ayudarán a determinar el nivel de bioseguridad que se necesita para manipular sin riesgo el OGM resultante e identificar los sistemas de contención

biológica y física que de deben emplear.^{7,12} En estos casos el riesgo biológico se debe evaluar considerando las propiedades patógenas del vector, la naturaleza de la recombinante (cuando se incrementa la virulencia con la modificaciones hechas), el tipo de gen que se esta manipulando, la expresión del gen en el vector (producción de toxinas), las interacciones entre la recombinante y el genoma receptor (incremento de virulencia), la capacidad de diseminación y sobrevida del vector en el ambiente, la disponibilidad de tratamiento en caso de ser necesario, además de otros factores. Con la información obtenida se determinará de nivel de bioseguridad necesario y el nivel de contención biológica y física a implementar. Una manera de reducir el riesgo biológico es emplear vectores con sobrevida limitada fuera del laboratorio. En caso de utilizar ácidos nucleicos en sistemas de expresión como bacterias, virus y líneas celulares su manejo y disposición debe apegarse a las indicaciones establecidas para el manejo de organismos infecciosos-patógenos.^{3,7,12}

Consideraciones de bioseguridad en relación con los vectores de expresión

El nivel de bioseguridad debe ser incrementado cuando:^{3,7,12}

1. La expresión de secuencias de ADN derivadas de organismos patógenos puedan ser promotores o potenciadores de la virulencia o patogenicidad, cuando se generen secuencias oncogénicas o proto-oncogénicas.
2. Las secuencias de ADN insertadas no estén bien caracterizadas, como la preparación de genotecas de ADN genómico de microorganismos patogénicos.
3. Los productos génicos puedan tener actividad farmacológica como resistencia a antibióticos o a herbicidas y cuando se generen toxinas o alérgenos.

Siempre que se desee trabajar con OGM en investigación, es necesario cumplir con las normas y requisitos vigentes establecidos en cada país, respetando las restricciones establecidas para ello.⁷ En caso de dudas sobre el manejo de ácidos nucleicos, se recomienda consultar al Comité de Bioseguridad en Investigación del Instituto Nacional de Pediatría.

Manejo de microorganismos o de muestras biológicas que puedan contenerlas

Los **microorganismos** son seres vivos que solo pueden visualizarse con el microscopio, dotados de individualidad que presentan una organización biológica elemental.

El concepto de microorganismo engloba organismos uni y pluricelulares, con múltiples formas y tamaños, no relacionados evolutivamente entre sí, procariotas y eucariotas, una parte de las algas y los hongos, y agentes de tamaño ultramicroscópico, como virus y priones. Algunos microorganismos son patógenos y producen enfermedades en seres humanos, animales y plantas.

Las principales características de peligrosidad de los microorganismos son: a) su capacidad para infectar y causar enfermedad en humanos o animales, y b) su virulencia, medida por la gravedad de la enfermedad y la disponibilidad de medidas preventivas y tratamientos efectivos para la enfermedad.

Los fundamentos del manejo y de la contención de microorganismos patógenos o de material biológico que pueda contenerlos incluyen las prácticas microbiológicas, el equipo de seguridad y las protecciones de las instalaciones que protegen a los trabajadores de laboratorio, al medio ambiente y al público de la exposición a microorganismos infecciosos que se manejan y se almacenan en los laboratorios.⁴



La OMS ha recomendado una clasificación del grupo de riesgo de los microorganismos para su uso en laboratorios, que describe cuatro grupos de riesgo generales que abordan el riesgo tanto para el trabajador de laboratorio y para la comunidad.⁵

Los criterios de riesgo para definir los cuatro niveles de contención (niveles de bioseguridad 1 a 4) son: la infectividad, la gravedad de la enfermedad, la transmisibilidad y la naturaleza del trabajo que se realiza. Otro factor de riesgo importante para los agentes que causan enfermedad de moderada a grave es su origen, ya sea autóctono o exótico. Cada nivel de contención requiere prácticas microbiológicas, equipo de seguridad y requerimientos de las instalaciones para el nivel de riesgo correspondiente asociado con el manejo de un agente biológico.^{4,13}

Las prácticas y el equipo básicos apropiados para los protocolos son comunes a la mayoría de los laboratorios de investigación y clínicos. Las protecciones de las instalaciones ayudan a proteger a los ocupantes del edificio y la salud pública y el medio ambiente que no pertenecen al laboratorio.¹⁴⁻¹⁶

Nivel de bioseguridad 1 (BSL-1): implica el nivel básico de protección y es apropiado para agentes que no causan enfermedad en seres humanos sanos.

Nivel de bioseguridad 2 (BSL-2): adecuado para el manejo de agentes de riesgo moderado que causan enfermedades en seres humanos de diversa gravedad por ingestión o por exposición a la membrana percutánea o mucosa.

Nivel de bioseguridad 3 (BSL-3): para agentes con un potencial conocido para la transmisión de aerosoles, para agentes que pueden causar infecciones graves y potencialmente letales y que son indígenas o exóticos de origen.

Nivel de bioseguridad 4 (BSL-4): en el uso de agentes exóticos que presentan un riesgo individual alto de enfermedad, hasta potencialmente mortal por aerosoles infecciosos y para los cuales no hay tratamiento disponible o conocido.

De acuerdo con el Reglamento de la Ley General de Salud en materia de Investigación, las instituciones de salud en las que se realicen investigaciones con microorganismos patógenos o material biológico que pueda contenerlos, deberán:

I) Contar con las instalaciones, infraestructura y equipo de laboratorio, además de elaborar un manual de procedimientos.

II) Adiestrar al personal en los procesos y determinar la necesidad de vigilancia médica del personal.

III) Establecer un programa de supervisión y seguimiento.

IV) Disponer de bibliografía actualizada y un archivo sobre la seguridad de los equipos.

V) Cumplir con las demás disposiciones que determine la Secretaría de Salud en materia de microorganismos.

En las instituciones de salud, los laboratorios de microbiología cumplirán con los requisitos que señalen las normas técnicas que indica la Secretaría de Salud y se clasificarán en: laboratorio básico de microbiología, laboratorio de seguridad microbiológica y laboratorio de máxima seguridad microbiológica.

El manual de procedimientos deberá de contener: prácticas de laboratorio, seguridad personal de los empleados, manejo y mantenimiento de instalaciones y equipos, situaciones de urgencia, restricciones de entrada y tránsito, recepción y transporte de materiales biológicos, disposición

de desechos, inactivación inmediata, descontaminación y todos los procesos necesarios para lograr la seguridad microbiológica.

El investigador principal deberá determinar el tipo de laboratorio en el que realizará las investigaciones propuestas, así como los procedimientos respectivos, tomando en cuenta el grado de riesgo de infección que presenten los microorganismos a utilizar, lo cual puede ser consultado en las hojas de seguridad de patógenos. (<https://www.canada.ca/en/public-health/services/laboratory-biosafety-biosecurity/pathogen-safety-data-sheets-risk-assessment.html>).¹⁷

Para evaluar el grado de riesgo de infección, la Secretaría de Salud emitirá la norma técnica correspondiente y clasificará a los microorganismos de acuerdo con los siguientes criterios:

Grupo de riesgo I: escaso riesgo para el individuo y la comunidad.

Grupo de riesgo II: riesgo moderado para el individuo y limitado para la comunidad. Los microorganismos de los grupos I y II deberán manejarse en laboratorios de tipo básico de microbiología, empleando gabinetes de seguridad si es necesario.

Grupo de riesgo III: riesgo elevado para el individuo y escaso para la comunidad. Los microorganismos del grupo III deberán manejarse en laboratorios de seguridad microbiológica.

Grupo de riesgo IV: riesgo elevado para el individuo y la comunidad. Los microorganismos de los grupos IV deberán manejarse en laboratorios de máxima seguridad microbiológica, bajo la autorización y control de las autoridades sanitarias correspondientes.

En las investigaciones con microorganismos, el investigador principal deberá:

Determinar los riesgos reales y potenciales de las investigaciones propuestas y, al ser aprobadas, darlos a conocer a todo investigador o personal asociado.

Determinar el nivel apropiado de contención física, seleccionar las prácticas microbiológicas idóneas, diseñar procedimientos para atender posibles accidentes e instruir al personal participante sobre estos aspectos.

Vigilar que el personal participante cumpla con los requerimientos de profilaxis médica, vacunaciones o pruebas serológicas y supervisar que el transporte de materiales infecciosos se haga en forma apropiada, de acuerdo con las normas.

Informar a la Comisión de Bioseguridad sobre la ocurrencia de enfermedad entre el personal participante, que pudiera atribuirse a la inoculación transcutánea, ingestión o inhalación de materiales infecciosos, así como accidentes que causen contaminación.

Reportar a las autoridades correspondientes las dificultades o fallas en la implantación de los procedimientos de seguridad, corregir errores de trabajo y asegurar la integridad de las medidas de contención física.

Tomando en cuenta las anotaciones anteriores, el investigador responsable y el personal participante que manipule microorganismos y muestras biológicas que puedan contenerlos, deben establecer los procedimientos adecuados para:

Manejo: El equipo básico de protección personal son guantes, bata, cubrebocas y gafas, además del laboratorio de microbiología necesario, incluyendo los gabinetes de bioseguridad para su manejo.

Almacenamiento: Debe considerarse el tipo de recipiente en contacto con las muestras y uno externo, la temperatura y el tiempo de almace-

namiento, así como el etiquetado de las muestras para su reconocimiento y el procedimiento de contención e inactivación inmediata, en caso de falla en la temperatura.

Traslado: Deben elegirse los recipientes adecuados para evitar derrames, el etiquetado de cada contenedor y del recipiente externo, la temperatura y el tiempo de traslado (al interior de la institución) o transporte (a otra institución).

Residuos: Contemplar los métodos que aplican a la inactivación inmediata de los residuos de microorganismos o de muestras que puedan contenerlos, tomando en cuenta el tiempo y temperatura, así como el tratamiento de todo el material y equipo que estuvo en contacto con ellos.

El investigador responsable debe especificar el nombre y cargo del personal que funge como responsable de cada actividad (manejo, almacenamiento, traslado y manejo de residuos).

El Comité de Bioseguridad en Investigación puede realizar visitas con la periodicidad que determine, para evaluar el cumplimiento de las medidas, para recomendar el cumplimiento de las medidas y para recomendar modificaciones a las prácticas de laboratorio, incluyendo la suspensión de las investigaciones.

Manejo de reactivos Corrosivos, Reactivos, Explosivos, Tóxicos e Inflamables (CRETI).

En el artículo 151 de la Ley General de Equilibrio Ecológico y Protección al Medio Ambiente (LGEEPA), se especifica que el manejo y disposición final de los residuos CRET I corresponde a quien los genera.¹⁸

En el Instituto Nacional de Pediatría (INP) se realizan actividades en donde se utilizan o generan sustancias consideradas como CRET I (**Figura 9**), las cuales, por sus características pueden representar un riesgo para la salud o el ambiente.



Figura 9. Pictogramas de identificación de los residuos corrosivos, reactivos, explosivos, tóxicos e inflamables (CRETI) y de los biológico-infecciosos (RPBI).

El manejo adecuado de los CRET I, de acuerdo con la LGEEPA, se entiende como “el conjunto de operaciones que incluyen su generación, identificación, el envasado, el etiquetado, la inactivación, el almacenamiento, recolección, transporte, alojamiento, reúso, tratamiento, reciclaje y la disposición final de los residuos peligrosos”.

Los sitios que generan residuos CRET I (laboratorios o servicios) deben cumplir con las operaciones para un manejo adecuado de sus residuos, comenzando por la correcta identificación de los reactivos, almacenamiento por compatibilidad (reactivos almacenados según la NOM-054-ECOL-1993) y contar con todas las hojas de seguridad correspondientes.¹⁹

Los residuos generados por los procesos experimentales deberán envasarse en recipientes adecuados y debidamente etiquetados (**Figura 10**); si procede, deberán inactivarse previo a su envasado. Las áreas generadoras de residuos CRET I deberán proporcionar un espacio adecuado, debidamente señalado, que funja como almacén temporal de estos residuos. El responsable del proyecto programará la recolección de

 Instituto Nacional de Pediatría Residuos Peligrosos Químicos	
Área generadora:	
Nombre del responsable:	
Nombre del residuo	
Componentes del residuo (si es una mezcla):	
Concentración aproximada:	Volumen o peso:
Fecha de inicio de recolección:	Fecha de entrega:
Estado físico:	

Figura 10. Etiqueta para los envases conteniendo residuos CRETI en el Instituto Nacional de Pediatría.²²

estos residuos al almacén general de CRETI de la Institución, este proceso será realizado solo por personal capacitado.

En algunos casos, el residuo CRETI después de inactivado puede ser dispuesto en forma directa por el laboratorio de generación (vía drenaje o basura municipal), para ello deberá seguir el procedimiento descrito en las guías de uso del producto o apearse a la legislación nacional vigente.

En el manejo de reactivos/residuos CRETI, es necesario **contar con todas las hojas de seguridad de los productos**, el kit de pequeños derrames de sustancias químicas y conocer los procedimientos de atención para responder a cualquier eventualidad que pudiera presentarse, así como conocer el mecanismo de contacto para notificar la eventualidad a las autoridades correspondientes.

Una guía sobre los reactivos considerados como peligrosos para la salud puede ser consultada en la Norma Oficial Mexicana NOM-052-SE-MARNAT-2005.²⁰ Esta guía establece las características, el procedimiento de identificación y los listados de los residuos peligrosos. Nuestra Institución consta con un Programa de manejo de sustancias químicas y residuos

hospitalarios (versión 2018), el cual contiene información sobre los procedimientos vigentes en materia de residuos CRETI.

Disposición final. Los desechos químicos generados durante el desarrollo de la investigación deberán de ser tratados de acuerdo al residuo generado.

Algunos ejemplos de procedimientos de disposición de residuos: soluciones de reactivos o amortiguadores (“buffers”), si la hoja de seguridad lo indica, será inactivados y vertidos al drenaje, o en su defecto envasados, etiquetados y almacenados temporalmente hasta su envío al almacén general de CRETI. Las soluciones de ácidos o bases serán cuidadosamente neutralizadas antes de ser vertidas por el drenaje como sales neutras.

Los residuos de bromuro de etidio (a cualquier concentración), empleados en amortiguadores o geles de agarosa, serán descontaminados mediante adición de 300 mg de carbón activado por cada 100 ml de gel o buffer de agarosa contaminado, el contenedor quedará en reposo por al menos 24 h, posteriormente se filtra por papel filtro. El carbón y el papel filtro contaminados serán desechados como sólidos CRETI mientras que el líquido puede ser vertido directamente al drenaje.

La disposición de soluciones conteniendo acrilamida deberá realizarse mediante la polimerización con un exceso de TEMED al 5%; una vez polimerizada, el residuo sólido (gel) contiene pequeñas cantidades de acrilamida libre y se considera no carcinogénico, el gel puede ser colocado en una bolsa o contenedor para CRETI y etiquetado como tóxico.

Seguridad radiológica

Las radiaciones ionizantes es toda aquella fuente capaz de emitir fotones de Rayos X o de

Rayos Gamma, o fuentes que emiten radiación corpuscular tipo Alfa, Beta, o Neutrones que producen ionización al interactuar con la materia. De manera general en los laboratorios de investigación se trabajan con radiaciones tipo Gamma y/o Beta y esta clase de radiación es imperceptible a los sentidos humanos. Sin embargo, los tejidos biológicos sufren daños permanentes cuando son expuestos a los isótopos radiactivos emitidos por las radiaciones ionizantes.²¹ Por lo anterior, es importante que toda aquella persona que esté involucrada con el uso y manejo de fuentes radioactivas tipo “abiertas”, conozca y aplique correctamente las normas y procedimientos en seguridad radiológica con la finalidad de minimizar los riesgos de exposición tan bajos a las exposiciones de las radiaciones (CRITERIO ALARA, “As Low As Reasonably Achievable”).

Existen dos tipos de fuentes radioactivas, las de tipo abierta y cerrada.

Las fuentes radioactivas de tipo abiertas son aquellas fuentes sólidas o líquidas que durante su uso pueden diseminarse y causar contaminación radiactiva en el medio ambiente. Las fuentes radioactiva de tipo cerradas es todo material radiactivo, que se encuentra encapsulado dentro de un cilindro de manera permanente durante su uso. La radiación proveniente de la fuente se expone de manera controlada hacia la muestra y no se produce contaminación del medio ambiente.²¹

Normas generales sobre el uso de material radioactivo

- I. **Identificación de los espacios con fuentes radioactivas.** Para una identificación correcta por el personal del laboratorio y de personas externas, es importante el señalamiento de todos los lugares donde se manejan, usan y almacenan radionúclidos. El símbolo internacional

utilizado para indicar fuentes radiactivas, áreas donde se almacenan y utilizan materiales radiactivos, y contenedores para materiales radiactivos está constituido por una hélice magenta o negra sobre un fondo amarillo (**Figura 11**) y su tamaño deberá de ser mayor a 10 cm para una mejor identificación y su colocación deberá ser en una área visible. La presencia de este símbolo en los sitios de trabajo como mesas, campana de extracción, en refrigeradores, congeladores y lugares de almacenamiento, indican la necesidad de precaución para evitar la contaminación o la exposición indebida a los radionúclidos.

II. Procedimiento operativo sobre el uso de fuentes de radiación ionizante

a) **Recepción:** Todo material radiactivo adquirido por el INP deberá llegar directamente al área usuaria, y será entregado exclusivamente al Personal Ocupacionalmente Expuesto (POE), quien deberá vestir apropiadamente bata y usar guantes. Primero se deberá de observar que el paquete no se encuentre dañado; posteriormente se procederá a remover los empaques externos y se verificará que el tapón del frasco que contiene la radioactividad no este flojo, roto y que no exista derrames; el cual se confirmará por medio de la prueba de frotis. Si existe contaminación el frasco se deberá de regresar al contenedor y



Figura 11. Símbolo internacional utilizado para la indicación de fuentes radioactivas.

se dará aviso al Encargado de Seguridad Radiológica.^{21,22}

b) Almacenamiento: Las fuentes radioactivas cuando no se encuentren en uso, el POE será el responsable de almacenarlas en contenedores de plástico que contengan las paredes con el blindaje adecuado y se deberá de indicar el nombre del usuario, la naturaleza de la fuente y la actividad de la misma. En caso de que se almacene Yodo 125 y 131, Sodio 22, Tecnecio 99, Tritio 03, Carbono 14 y Fósforo 32, deberá destinarse una zona de almacenamiento detrás de una pared de bloques de plomo.^{21,22}

c) Operación: Para tener un control estricto del uso de la fuente radioactiva, el POE será el responsable de realizar el registro de los movimientos en cada una de las fuentes radioactivas. Para la apertura del frasco el POE deberá de utilizar campana de extracción de vapores y los dispositivos necesarios para la contención, atenuación, detección y señalización en caso de derrames.^{21,22}

Durante la manipulación del material radiactivo, el POE deberá usar bata de algodón que cubra la ropa de calle hasta las rodillas; guantes desechables, cubrebocas y lentes de protección para evitar salpicaduras a los ojos. Además el POE deberá de utilizar delantal con blindaje de plomo y mamparas de plomo cuando se utilicen fuentes radioactivas de Yodo 125 o Cromo 51. Las mesas donde se realice la operación de fuentes radioactivas deben de estar marcadas, delimitadas y cubiertas con papel absorbente que deberá de ser de un solo uso.^{21,22}

d) Manejo de desechos: El desecho radiactivo generado por el POE en cada laboratorio deberá de ser clasificado en tres niveles: bajo, intermedio y alto de acuerdo a la concentración, actividad y vida media de los radionúclidos como lo indica la Norma Oficial Mexicana NOM-004-NUCL-1994.²³ Los desechos radioactivos líquidos deberán de ser colocados en

contenedores de plástico; mientras que los desechos sólidos deberán de guardarse en bolsas de plástico debidamente etiquetados. El POE de cada área de trabajo autorizada, es el responsable de llevar el registro en la bitácora de la recepción, contabilidad y decaimiento del radionúclido registrado.²² Cuando el desecho radiactivo presente una actividad intermedia o alta, se enviarán para su almacenamiento al almacén temporal del INP.²²

III. Responsabilidades

a) Obligaciones del titular o permisionario con el POE: Este deberá de registrar ante la Comisión Nacional de Seguridad Nuclear y Salvaguardias al POE: Además deberá de vigilar y tomar las precauciones necesarias para evitar la exposición innecesaria del personal en general y al POE.

b) Obligaciones y responsabilidades del POE

En el Reglamento General de Seguridad Radiológica Capítulo I, artículo 159 (requisitos), artículo 160 (obligaciones) se encuentran definidos los requisitos y obligaciones que el POE deberá de cumplir en el manejo y residuos de materiales radiactivos.²⁴

Artículo 159 del Reglamento General de Seguridad Radiológica el personal ocupacionalmente expuesto deberá:²⁴

I.- Estar registrado ante la Comisión Nacional de Seguridad Nuclear y Salvaguardias (CNSNS);

II.- Ser mayor de 18 años;

III.- Poseer certificado de estudios, según lo estipulado por la norma técnica correspondiente. Este certificado deberá ser expedido por la autoridad correspondiente, y

IV.- Contar con autorización de la CNSNS respecto a su capacitación y adiestramiento.²⁴



Artículo 160 del Reglamento General de Seguridad Radiológica:²⁴ Son obligaciones del personal ocupacionalmente expuesto:

I.- Conocer y aplicar correctamente los principios básicos de seguridad radiológica;

II.- Evitar toda exposición innecesaria a la radiación de su persona y del público;

III.- Cuidar y vigilar que cuando dejen de utilizarse las fuentes de radiación ionizante se encuentren en condiciones adecuadas de seguridad radiológica y física; el material radioactivo en sus contenedores y el equipo que contiene las fuentes o el dispositivo generador de radiación ionizante en posición de apagado;

IV.- Comprobar cuando salga de una zona donde exista riesgo de contaminación radiactiva, que su persona y vestuario no estén contaminados;

V.- Conocer y aplicar correctamente las normas, instrucciones y procedimientos contenidos en el Manual de Seguridad Radiológica y en el Plan de Emergencia de la instalación;²²

VI.- Conocer el manejo y uso correcto de las fuentes de radiación ionizante, del equipo detector y medidor de radiación, de los accesorios y dispositivos de seguridad radiológica y, de los factores blindaje, distancia y tiempo, en el grado que lo requieran sus funciones y responsabilidades;

VII.- Portar durante la jornada de trabajo los dosímetros personales que se requieran de acuerdo a lo estipulado en el Manual de Seguridad Radiológica;

VIII.- Procurar que en el desarrollo de sus actividades se produzca la menor cantidad de desechos radioactivos;

IX.- Conocer y aplicar correctamente los procedimientos autorizados por el encargado de

seguridad radiológica para la eliminación de los desechos radioactivos;

X.- Enterarse de los equivalentes de dosis que ha recibido en el desempeño de sus labores con la periodicidad con que se anoten en el registro correspondiente;

XI.- Someterse a la toma de muestras biológicas que se requieran para la vigilancia médica y para las pruebas de bioensayo;

XII.- Proporcionar con veracidad los datos que le sean requeridos durante las inspecciones, auditorías, verificaciones y reconocimientos que realice la Comisión;

XIII.- Conocer la conducta a seguir en caso de accidente radiológico;

XIV.- El personal que preste sus servicios en diversas instalaciones y este profesionalmente expuesto, deberá informar al encargado de seguridad radiológica, de cada una de ellas, a fin de que todas cuenten con el historial dosimétrico completo, y

XV.- Informar al encargado de seguridad radiológica, sobre cualquier situación de alto riesgo, incidente y accidente radiológico.²⁴

c) Entrenamiento del POE

Es responsabilidad del titular de un permiso o licencia, expedido por la CNSNS, que el POE posea niveles de calificación adecuada y un entrenamiento suficiente para realizar una actividad con fuentes de radiación ionizante, o con equipos generadores de radiación ionizante, para dar cumplimiento con el programa de seguridad radiológica establecido en el centro de trabajo.²⁵

Para la capacitación y adiestramiento, el POE deberá de realizar un Curso de Principios Básicos

de Seguridad Radiológica y un Curso de Capacitación en el Manual de Procedimientos de la Instalación. Posteriormente, deberá de realizar un Curso Anual de Reentrenamiento, todos estos cursos deberán de ser proporcionados por el CNSNS, o por el permisionario, el cual deberá considerar lo especificado en la NOM-012-STPS-1999.²⁶

CONCLUSIONES

Cuando se planea realizar cualquier tipo de investigación biomédica, en la cual se pretenda utilizar algún tipo de muestra biológica, agentes químicos o ionizantes, es necesario el escrutinio minucioso de las características de cada muestra y materiales que pudieran considerar algún peligro. Considerar el personal que tendrá que manipular, o que estará expuesto, incluyendo pacientes, familiares de los pacientes y población en general que pueda en algún momento estar expuesto. Esto constituye la valoración de los riesgos que nos permitirán generar el plan adecuado de mitigación y protección que nos lleve a realizar un actividad de investigación segura y confiable.

Agradecimientos

Agradecemos al L.P. Pedro Isauro Clavel Pérez por la donación de las acuarelas utilizadas para ilustrar las figuras 1-6.

REFERENCIAS

1. Directive of the European Parliament and of the Council. Official Journal of the European Communities. On the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work. 2000.
2. Laboratory Biosafety Guidelines. 2nd Edition 1996 Minister of National Health and Welfare. Minister of Supply and Services Canada 1996. Cat. No. MR 21-1/1996-E ISBN 0-662-24214-9. Last modified June 10, 1996.
3. Manual de Bioseguridad para Laboratorios de Investigación Biomédica.. 5a Edición. Laboratorio de Genómica Viral y Humana. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Ed. García-Sepúlveda. 2012
4. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 2009. U.S. Department of Health and Human Services Public Health Service. Centers for Disease Control and Prevention. National Institutes of Health. 5th Edition.
5. Laboratory biosafety manual. 2004. World Health Organization. Geneva. 3rd Edition.
6. University of South Carolina. Biosafety manual. 2006.
7. Manual de Bioseguridad en el Laboratorio. 2005. Tercera Edición. Ginebra, Suiza. Organización Mundial de la Salud (OMS). ISBN 92 4 354650 3.
8. Beyer, Ch. Le risque biologique en laboratoire de recherche mieux le connaître pour l'évaluer et le prévenir. Insem Lettre.Objectif & Santé Sécurité n°2. Service des affaires générales, Administration du Siège. 2015.
9. Canadian Biosafety Handbook, Chapter 4, Risk Factors, Risk Group, and Risk Assessments. 2nd Ed. Public Health Agency of Canada. 2016. ISBN 978-1-100-25773-0
10. Norma oficial mexicana NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002, Protección ambiental – Salud ambiental – Residuos peligrosos - Infecciosos – Clasificación y especificaciones de manejo. Diario Oficial de la Federación, México 2002: 1-12.
11. Alberts B, et al. 2016. Molecular Biology of the Cell: “3 Macromolecules: Structure, Shape, and Information” y “7 Recombinant Acid Hybridization”. Sixth Edition. Barcelona, España. Omega, Cop.
12. Institutional Biosafety Committee Charter and procedures: How to get biological work registered, reviewed and approved. 2014. University of New Hampshire.
13. Biorisk management. Laboratory biosecurity guidance. Epidemic and pandemic alert and response. World Health Organization. 2006. 33 pág.
14. Pentella MA, Kostle PA, Desjardin L, Gilchrist MJR. 2006. Biosafety for microorganisms transmitted primarily by the airborne route. En: Biological Safety: Principles and Practices, 4th Edition. Editors: Fleming DO, Hunt DH. ISBN:9781683671770. doi:10.1128/9781555815899.
15. Burnett LC, Lunn G, Coico R. Biosafety: Guidelines for working with pathogenic and infectious microorganisms. Curr Protoc Microbio. 2009;13:1A.1.1-1A1.14.
16. Peng H, Bilal M, Iqbal HMN. Improved biosafety and biosecurity measures and/or strategies to tackle laboratory-acquired infections and related risks. Int J Environ Res Public Health. 2018;15:2697. doi:10.3390/ijerph15122697.
17. The Approved List of biological agents. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Health and Safety Executive. United Kingdom. Third Edition. 2013. 1-35.
18. Ley General de Equilibrio Ecológico y Protección al Medio Ambiente (LGEEPA). PROFEPA. Cámara de Diputados del H. Congreso de la Unión. Diario Oficial de la Federación, México 2016: 1-128
19. NORMA Oficial Mexicana NOM-054-ECOL-1993, que establece el procedimiento para determinar la incompatibilidad entre dos o mas residuos considerados como peligrosos por la norma oficial mexicana NOM-052-ECOL-1993. Diario Oficial de la Federación, México 1993: 1-65.



20. NORMA Oficial Mexicana NOM-052-SEMARNAT-2005, Que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos. . Diario Oficial de la Federación, México 2006: 1-35.
21. Manual de procedimientos de seguridad radiológica para la utilización de fuentes abiertas y selladas de radiación ionizante. Instituto de Investigaciones Biomédicas. Universidad Nacional Autónoma de México 2010; 1-82.
22. Programa de manejo de sustancias químicas y residuos hospitalarios. Instituto Nacional de Pediatría 2018; 1-228.
23. Norma Oficial Mexicana NOM-004-NUCL-2013, Clasificación de los desechos radiactivos. Diario Oficial de la Federación, México 2013: 1-10.
24. Reglamento General de Seguridad Radiológica, 1988, Diario Oficial de la Federación, México Diario Oficial de la Federación, México 1988: 1-60.
25. Norma Oficial Mexicana NOM-031-NUCL-2011. Requisitos para el entrenamiento del personal ocupacionalmente expuesto a radiaciones ionizantes. Diario Oficial de la Federación, México 2011; 1-11.
26. Norma Oficial Mexicana NOM-012-STPS-1999. Condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo donde se produzcan, usen, manejen, almacenen o transporten fuentes de radiaciones ionizantes. Diario Oficial de la Federación, México 1999; 1-8.