



Manual de seguridad para investigadores en laboratorios de biotecnología



*Editado por
Dimitri Sossai, Mariangela Miele, Paola Bet*

Erga  *edizioni*

ISBN 88-8163-286-1

Finalizó su impresión en el mes de agosto de 2001
en los talleres de la imprenta de la

Erga  *edizioni*

Via Biga 52 (canc.) - 16144 Genova
Tel. 010 83.28.441 - Fax. 010 83.28.799
www.erga.it - edizioni@erga.it

Este volumen ha sido producido en contribución con la Comunidad Europea- Directorio General, Trabajo y Asuntos Sociales.

Editado por Dimitri Sossai, Mariangela Miele, Paola Bet.

Autores

Paola Bet *
Marcel Castegnaro
Francesca Cavalli °
Modesto Román Delgado ◇
Silvia Franchello
Bernardetta Ledda *
Ubaldo Leoncini ‡
Mariangela Miele_
Rosa Montero Simò ◇
Bruno Papaleo •
André Picot ∞
Stefano Signorini •
Dimitri Sossai Δ
Paola Tomao •
Cinzia Lucia Ursini •
Nicoletta Vonesch •

* Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro (IST), Genova - Italia

◇ Centro de Seguridad e Higiene en el Trabajo, CSHT, Consejería de Empleo y Desarrollo Tecnológico, Junta de Andalucía - Córdoba - España.

• Istituto Superiore Prevenzione e Sicurezza del Lavoro (ISPESL), Roma - Italia.

∞ Unité de Prévention du risque Chimique CNRS, Gif sur Yvette - France.

Δ Azienda Ospedaliera San Martino di Genova e Cliniche Universitarie Convenzionate, Genova - Italia

° Consorzio Interuniversitario per la Biologia Molecolare delle Piante (CIBMP), Genova - Italia

‡ Azienda USL 3 Genovese, Genova – Italia

ÍNDICE

PREFACIO	7
EVALUACIÓN DEL RIESGO	9
<i>Dimitri Sossai, Ubaldo Leoncini, Paola Bet, Mariangela Miele</i>	
RIESGO BIOLÓGICO	15
AGENTES BIOLÓGICOS	15
<i>Mariangela Miele, Paola Bet, Dimitri Sossai</i>	
VALORACIÓN DEL RIESGO BIOLÓGICO	23
<i>Paola Bet, Mariangela Miele, Bernardetta Ledda, Dimitri Sossai</i>	
PREVENCIÓN DEL RIESGO BIOLÓGICO	31
<i>Paola Bet, Mariangela Miele, Modesto Román, Rosa Montero, Dimitri Sossai</i>	
PLAN DE EMERGENCIA	43
<i>Mariangela Miele, Dimitri Sossai, Silvia Franchello, Paola Bet, Rosa Montero, Modesto Román</i>	
EMPAQUETADO DE MATERIAL BIOLÓGICO POTENCIALMENTE INFECCIOSO	46
<i>Paola Bet, Silvia Franchello</i>	
ACTIVIDADES CON ANIMALES	49
<i>Modesto Román, Rosa Montero</i>	

RIESGO QUÍMICO 67

**MANEJO DE SUSTANCIAS QUÍMICAS
EN EL LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA 67**

Andre Picot

**MANEJO DE COMPUESTOS CARCINÓGENOS,
MUTAGÉNICOS Y TÓXICOS PARA LA REPRODUCCIÓN 100**

Marcel Castegnaro

**CONTAMINACIÓN ACCIDENTAL
POR SUSTANCIAS CANCERÍGENAS 112**

Marcel Castegnaro

RIESGO RADIOLÓGICO116

Marcel Castegnaro

VIGILANCIA DE LA SALUD DE LOS TRABAJADORES141

Bruno Papaleo, Stefano Signorini, Nicoletta Vonesch, Cinzia Lucia Ursini, Paola Tomao

**PRECAUCIONES PARA EL USO DE AGENTES
BIOLÓGICOS Y QUÍMICOS 155**

Mariangela Miele, Bernardetta Ledda, Francesca Cavalli, Dimitri Sossai

ANEXOS

ANEXO I: (Lista de agentes biológicos) 167

ANEXO II: (Directivas Europeas)179

PREFACIO

La mejora de la seguridad en el lugar de trabajo debe ser una prioridad en cualquier país, y más si tiene un alto desarrollo industrial, lo que incluye a la mayoría de Europa. En la historia reciente, el fracaso en la introducción o el cumplimiento de las medidas de seguridad ha derivado en graves consecuencias sociales. Baste mencionar, por ejemplo, los miles de accidentes mortales que han ocurrido durante la construcción de puentes, líneas de tren y túneles; los miles de trabajadores industriales que han muerto de silicosis en la primera mitad del siglo XX; los innumerables desastres en minas por todo el mundo. Uno debe estar tentado de borrar estos ejemplos de la historia reciente; pero estamos forzados a recordar tragedias como el accidente por dioxina en Seveso, Italia (1976), o por metildiisocianato en Bhopla, India (1984).

En comparación, la seguridad en los laboratorios biológicos parece tener consecuencias mínimas. Pero es al revés, tiene unas consecuencias importantes por diversas razones. Primera, la industria de la biotecnología es muy joven comparada con la industria química o mecánica, como resultado, nuestro conocimiento en las medidas de seguridad está basado en una menor experiencia, lo que nos debe inducir a una mayor precaución. En segundo lugar, los riesgos asociados a la biotecnología son cuantitativamente diferentes a los de la industria tradicional. Con más de 25 años de antigüedad, podemos estar seguros que las tan temidas bombas de tiempo biológicas no han explotado. Además, el hecho de la manipulación del genoma de cualquier organismo genera un respeto que no puede ignorarse. De igual manera el bioterrorismo, es a la microbiología, como las armas nucleares a la física, pero el público lo percibe como una mayor amenaza.

Para los laboratorios de investigación, hay un tercer punto muy importante. En teoría son los científicos investigadores los que pueden causar problemas: ¿Quién vigilará a las personas que vigilan? Es por tanto su deber tener una gran concienciación en la protección de la población, así como de ellos mismos durante los experimentos. La primera declaración explícita sobre este tema proviene del año 1976, cuando se publicó en U.S.A., un documento patrón, tras la famosa conferencia de Asilomar, con el espíritu de establecer los estándares en bioseguridad, por el cual los científicos demostraban su deseo de regular su propio trabajo.

Por todas estas razones, este libro es importante y ha llegado a tiempo. El libro es el resultado de la colaboración de investigadores de biotecnología y de profesionales relacionados con la seguridad y la salud a todos los niveles. Teniendo en cuenta la reciente legislación europea en bioseguridad, este volumen trata de ser una guía útil para la seguridad química, física y biológica en laboratorios de investigación en el campo de la

biotecnología y en cualquier laboratorio donde se manipulen microorganismos genéticamente modificados.

Los autores han desarrollado su experiencia profesional en importantes centros europeos de investigación y terapia como el Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro (IST-Genova, Italia), la International Agency for Cancer Research (IARC-Lyon, Francia), el Istituto Superiore per la Sicurezza del Lavoro (ISPESL-Roma, Italia), l'Azienda Ospedaliera Ospedale San Martino e Cliniche Universitarie Convenzionate di Genova (Génova, Italia), el Centre Nationale pour la Recherche Scientifique et Technique (CNRS-Gif sur Yvette, France), el Centro de Seguridad e Higiene en el Trabajo, Junta de Andalucía (Córdoba, España) y el Consorcio Interuniversitario Biología Molecolare Piante (CIBMP-Génova, Italia).

Estoy satisfecho de que el libro se haya elaborado aquí, y espero sinceramente que sea una herramienta útil en el interés de la seguridad y salud de los trabajadores, así como de la calidad del trabajo y del ambiente que le rodea.

*Prof. Lucio Luzzatto
Director Científico
Istituto Nacional de la Investigación contra el Cáncer- Génova, Italia*

EVALUACIÓN DEL RIESGO

Dimitri Sossai, Ubaldo Leoncini, Paola Bet, Mariangela Miele

Los trabajadores de los laboratorios de investigación están expuestos a riesgos profesionales que con frecuencia son subestimados por los afectados, a menudo, sólo se dan cuenta de la existencia de tales riesgos cuando ocurren incidentes serios, los riesgos del laboratorio son generalmente "invisibles", y por lo tanto más peligrosos que en otras actividades. Se sabe que la peligrosidad de los agentes, la suficiencia de dispositivos de protección y las condiciones de los equipos no deberían ser evaluadas separadamente, sino como integrantes de un procedimiento único. Las sustancias, equipos y condiciones peligrosas no deben pensarse como aislados, sino formando parte de un procedimiento, cuyos componentes deben ser todos valorados. Si en el procedimiento se detecta algún riesgo significativo, además de los habituales, el procedimiento de operación estándar debe ser definido, y todos aquellos que trabajan con estos materiales, equipos, etc., deben acoplarse a las nuevas directrices (procedimientos, operaciones de almacenamiento y residuos) debiendo identificar, y tener en cuenta la posibilidad de la presencia de más de un peligro en procedimientos que conlleven riesgo.

Riesgo es definido como la probabilidad que una sustancia, un objeto o una situación pueda producir daño en condiciones específicas.

Peligro es una condición intrínseca o una situación que puede causar daño potencial a la salud, al ambiente o ambos.

El riesgo generalmente es considerado como la combinación de dos factores:

- la probabilidad de que un efecto adverso pueda ocurrir
- la consecuencia del incidente

Incidente significa un acontecimiento imprevisto que tiene el potencial para producir daño a la salud, al ambiente o a ambos.

El riesgo es definido según fórmula siguiente:

$$\mathbf{R} \text{ (riesgo)} = \mathbf{P} \text{ (probabilidad)} \times \mathbf{D} \text{ (daño)}$$

La evaluación de riesgos es el proceso complejo de estimación del grado de riesgo, para determinar, si realmente un riesgo es tolerable o aceptable.

Para la evaluación de R debemos considerar los siguientes factores:

- las características del peligro y/o de su fuente
- la identificación de la situación y de su importancia
- la naturaleza del daño
- la vulnerabilidad del sujeto
- las condiciones de transmisión del peligro desde la fuente

La evaluación de riesgo objetivo, por lo tanto, consiste en el proceso de reconocimiento del tipo de peligro existente, la cuantificación de la severidad del daño producido y de la probabilidad de que un acontecimiento perjudicial pueda ocurrir. La metodología para la identificación de un peligro existente y la definición de sus características es la valoración del riesgo. El proceso de reconocimiento del peligro y, por consiguiente, la evaluación de riesgo no son acciones simples. La aplicación de la matriz de riesgo se sugiere como el instrumento de precisión desarrollado para el análisis de riesgo. (Ozog, 1985; Code of Federal Regulation, 1986). La matriz de riesgo es considerada un instrumento ideal para evaluar de forma cualitativa los riesgos correspondientes a los peligros individuales detectados, según la importancia relativa entre ellos. La matriz de riesgo es una simplificación directa de la curva ISO, donde la probabilidad y daño no son coordenadas numéricas que individualicen a un punto, sino que sus juicios definen el nivel de la situación a examen. En dos zonas de la matriz propuesta, se encuentran tres niveles de probabilidad y daño, respectivamente.

El análisis de los accidentes industriales se caracteriza, normalmente, de la siguiente forma:

- Origen proveniente de un error, mal funcionamiento o deficiencia en un sistema inviable.
- Un fenómeno de poca duración (no ha de tener consecuencias necesariamente).
- Elevación con respecto a los niveles normales o dosis (energía, materiales,...), en un corto período de tiempo (exposición aguda).

En investigación científica y en salud ambiental la situación es normalmente la contraria:

- El daño a la salud es producido tras tiempo de cierta exposición y se acepta su relación, sin ninguna duda.
- La duración del fenómeno de la exposición puede producirse durante el trabajo en el caso de los trabajadores, o durante un experimento en el caso de los investigadores.
- La exposición puede ser de tipo continuo y a muy bajos niveles de dosis.
- La exposición puede ser a incontables microcantidades de diferentes reactivos.

Las diferencias entre los accidentes industriales en general, con el ambiente en investigación biotecnológica y clínica se basan esencialmente en factores probabilísticos; no hay diferencias particulares en la forma de clasificar los daños y los niveles de severidad.

El principal problema reside en definir los criterios de evaluación de la probabilidad.

Tabla I. Criterios de evaluación de la probabilidad.

Probabilidad	Frecuencia de los accidentes	Aspectos relacionados con la seguridad y gestión de la organización	Deficiencias con referencia a la salud
Improbable	<ul style="list-style-type: none"> No apuntar episodios sucedidos o verificados muy rara vez. La aparición del daño podría descubrir grandes sorpresas. El daño puede generar por sí mismo la concomitancia de dos sucesos independientes e improbables. 	<ul style="list-style-type: none"> Equipos: según la nueva legislación, estabilidad mecánica (anclaje, balance,...). Seguridad eléctrica: conexiones, puesta a tierra, lejanía del agua,... Fuego: precauciones generales, corriente de los equipos con instalación adecuada y mantenimiento, aislamiento del agua, ejercicios de evacuación, procedimientos y rutas de escape. Reactivos químicos: los que no reaccionan con agua, ni reaccionan con los disolventes. 	<ul style="list-style-type: none"> Reactivos químicos: exposición ocasional. Radiación no ionizante: exposición irregular a bajas dosis. Agentes biológicos: baja o desconocida transmisión al hombre. Identificación de material almacenado biopeligroso o radiactivo. Radiación ionizante: exposición irregular a bajas dosis.
Posible	<ul style="list-style-type: none"> Algunos episodios en los que un incidente ha ocurrido La presencia de un incidente causa sorpresa moderada 	<ul style="list-style-type: none"> Presencia de calor que generado por el equipo, aplicaciones que necesitan descontaminación, solventes usados y almacenados de manera inadecuada, sustancias inflamables en congeladores. Compuestos químicos: presencia de corrosivos, irritantes, reacciones de efervescencia con agua, generación de calor, reacción con solventes volátiles, posibilidad de intoxicación 	<ul style="list-style-type: none"> Agentes químicos: cancerígeno, teratogéno, mutagénico: polioxposición discontinua a niveles cerca del TLV - TWA, posibilidad de diseminación de polvos y aerosoles. No ionización por exposición habitual a radiación. Ionización por exposición habitual de radiación a dosis controlada. Agentes Biológicos: transmisibilidad media, especificidad de huésped, e infectividad mediante vectores. <p>Agentes alérgicos con exposición habitual.</p>

Probable	<ul style="list-style-type: none"> • Los incidentes ya han ocurrido. • La presencia de un incidente no causa ninguna sorpresa. 	<ul style="list-style-type: none"> • Presencia de equipo viejo sin mantenimiento regular, carencia de protección de las partes eléctricas de agua. • Agentes químicos: reacción con solventes y generación de mezclas explosivas. 	<ul style="list-style-type: none"> • Agentes químicos: poliexposición habitual a concentraciones normalmente más altas que el TLV - TWA. • No ionización por exposición habitual a altas dosis • Ionización por radiación: posibilidad de inhalación, diseminación. • Agentes biológicos: transmisibilidad elevada, estabilidad.
-----------------	--	---	--

* TLV: Valor Límite Umbral, valor de la exposición está basado en 8 horas de trabajo, 5 días a la semana. TWA: Tiempo Promedio Ponderado, valor de la exposición referido a 8 horas de trabajo, 5 días a la semana.

El valor de P se hace asociándolo con un Índice de Probabilidad (la PI) de la manera siguiente:

Probable	PI=3
Posible	PI=2
Improbable	PI=1

Si existe duda sobre la asignación del número que debe asociarse con P, se sugiere que se escoja el valor alto.

La tabla II, sirva como ejemplo, para identificar la severidad del daño según la duración y el efecto de la exposición.

Tabla II. Valor del daño asociado con el efecto y la duración de la exposición

DAÑO	EFEECTO EXPOSICIÓN (DURACIÓN)
Leve	<ul style="list-style-type: none"> - exposición aguda con invalidez temporal (unos días) - exposición crónica con resultados de alteraciones homeostáticas (estrés psicofísico) - accidente con incapacidad temporal
Grave	<ul style="list-style-type: none"> - exposición aguda con resultados severos - exposición crónica con resultados reversibles y/o incapacidad parcial - accidentes con invalidez permanente
Muy Grave	<ul style="list-style-type: none"> - exposición aguda mortal o con resultados severamente incapacitantes - exposición crónica con resultados irreversibles

La asignación del valor correspondiente a la severidad del daño se hace asociándola con un Índice de Daño (DI) de la manera siguiente:

Leve	DI=1
Grave	DI=2
Muy grave	DI=3

El análisis de la Probabilidad y el Daño mediante sus índices puede conducir al cálculo del **Índice Crítico**.

El Índice Crítico puede ser calculado para cada tipo de riesgo y permite la definición de las medidas de prevención que deberían aplicarse para reducir, o en cualquier caso, controlar el riesgo.

El Índice Crítico puede ser calculado mediante la fórmula siguiente:

$$\text{Índice Crítico} = \text{Índice de Probabilidad} + \text{Índice de Daño}$$

En la figura siguiente, se presenta la matriz propuesta por Sossai y Leoncini (comunicación personal, 2000), las coordenadas están representadas por la Probabilidad y el Índice de Daño. La parte superior derecha del cuadro corresponde a la máxima probabilidad y al mayor daño para investigadores en el trabajo de laboratorios de biotecnología, mientras que descender hacia la izquierda del cuadrado se corresponde con el mínimo de probabilidad y bajo daño.

ÍNDICE DE PROBABILIDAD	3	4	5	6
	2	3	4	5
	1	2	3	4
		1	2	3
		ÍNDICE DE DAÑO		

Figura 1. Matriz de riesgo

Sobre la base del resultado obtenido (el Índice Crítico), son valoradas las intervenciones necesarias para reducir al mínimo el riesgo asociado con una operación determinada, como se muestra en la tabla III.

Tabla III. Intervenciones necesarias sobre la base del Índice Crítico

ÍNDICE CRÍTICO	INTERVENCIÓN NECESARIA
2	Deben ser evaluadas intervenciones específicas en la fase de programación; no están previstas intervenciones urgentes Í

3	Controlar los riesgos evaluados mediante intervenciones de mejora en la fase de programación.
4	Es necesario, constantemente los riesgos, evaluando la necesidad de intervenciones de mejora
5	Es necesario intervenir urgentemente, individualizando y realizando las intervenciones necesarias para la prevención y la protección al reducir el riesgo.
6	Es necesario intervenir inmediatamente para eliminar / reducir el peligro

Es importante considerar:

- La influencia para estas evaluaciones de una buena formación del personal y el uso en el trabajo de equipos de protección adecuados.
- Las circunstancias especiales de los trabajadores como: embarazo y los riesgos del feto; inmunodeficiencias; cortes y abrasiones que aumentan el riesgo de absorción; alergias a polvos; detergentes; guantes de látex, etc.

Referencias bibliográficas

- Ozog, H. Análisis de identificación de riesgo y control. Chem. Ing., 2: 161-170 (1985).
- Code of Federal Regulation, 21 CFR 820 (1986).

RIESGO BIOLÓGICO

AGENTES BIOLÓGICOS

Mariangela Miele, Paola Bet, Dimitri Sossai

Con frecuencia en los laboratorios se realiza el procesado de muestras biológicas, materia orgánica, vegetales y animales, así como cultivos celulares y microorganismos manipulados genéticamente (MMG), especialmente desarrolladas para el diagnóstico y control de enfermedades infecciosas, aplicaciones de las facultades de los microorganismos en beneficio del ser humano, investigaciones sobre la fisiopatología de lesiones, análisis de las características cualitativas y cuantitativas de alimentos, especímenes, etc.. En todas estas actividades, el trabajador entra en contacto con múltiples agentes biológicos que pueden constituir un riesgo para su salud.

El aumento de la incidencia de contagios en el ámbito laboral, por la exposición y manipulación de muestras con agentes biológicos ha impulsado la investigación en este campo, donde el contacto con múltiples contaminantes biológicos en algunas actividades, se correlaciona con un mayor porcentaje de infecciones, aunque se desconozca en un elevado porcentaje su causa. Estamos frente a un “problema de seguridad” cuya resolución radica en controlar los efectos nocivos ocupacionales por medidas intervencionistas concretas y eficaces debido a sus especiales características:

- Exposición de colectivos profesionales bien delimitados.
- Mecanismos de transmisión conocidos.

Es evidente el alto grado de conocimientos que sobre los contaminantes químicos y físicos se han ido acumulando a lo largo del tiempo, no pudiéndose afirmar lo mismo al hablar de contaminantes biológicos ya que, aunque muchos de ellos están perfectamente definidos, la gran variabilidad de factores que condicionan su presencia, supervivencia y actuación sobre el hombre, hacen difícil abordar los posibles problemas planteados por su presencia en el ambiente laboral.

La diversidad de combinaciones y estructuras que puede adoptar la materia orgánica ha creado entre los científicos de todos los tiempos una gran dificultad para precisar y definir lo que es la vida, así como los organismos que cumplen las condiciones elementales para ser considerados como seres vivos. A las dificultades de definición, hay que añadir los distintos derivados biológicos, en cuanto a su consideración como materia viva o únicamente estructura inerte desprendida de un organismo.

En un sentido más amplio se pueden considerar los contaminantes biológicos como todos aquellos seres vivos, ya sean de origen animal o vegetal y todas aquellas sustancias derivadas de los mismos, presentes en el puesto de trabajo, y que pueden ser susceptibles de provocar efectos negativos en la salud de los trabajadores.

De la presencia de dichos agentes en el medio laboral y del contacto de los trabajadores con los mismos se puede derivar una situación de riesgo biológico. El riesgo no existe, si la exposición a la sustancia o situación de peligro, no ocurre.

Los peligros biológicos vienen definidos por los agentes infecciosos o el material biológico derivado que presentan un peligro o riesgo potencial para la salud de los humanos y animales, directamente a través de las infecciones o indirectamente a través de un daño al ambiente. Los agentes biológicos tienen la capacidad de multiplicarse y generar grandes poblaciones en la naturaleza, cuando están en pequeñas cantidades todavía puede ser controlada la situación.

El peligro biológico es una propiedad intrínseca de los organismos que puede ser identificada mediante examen de situaciones particulares pudiendo causar daño o peligro y valorarse el daño a la comunidad y las consecuencias derivadas.

El riesgo biológico es un riesgo difícil de percibir, similar al riesgo de la radiación o por sustancias genotóxicas que provocan el daño con el paso del tiempo, siendo difícil asociar a una exposición en particular.

Los agentes biológicos son agentes infecciosos, que incluyen a: bacterias, rickettsias, virus, hongos, parásitos uni o pluricelulares y priones. Cada especie de agente infeccioso puede tener subtipos, familias y variedades que se diferencian en relación a su potencial patógeno, por la especificidad, la capacidad de transmisión, la sensibilidad frente a agentes antimicrobianos, etc. Además, los laboratorios de investigaciones biotecnológicas producen una gran variedad de vectores nuevos, con el objetivo de aumentar la probabilidad de transferencia genética en las relaciones entre especies. Los nuevos fragmentos de ADN pueden combinarse de nuevo y dar lugar a riesgos por productos peligrosos.

Para concluir, aunque los agentes biológicos estén bien definidos según las divisiones normales de clasificación, es difícil realizar una evaluación completa de los riesgos asociados con su manipulación. Numerosos factores como la diversidad biológica, la complejidad química de las moléculas, la multiplicidad de las vías de difusión y la especificidad de interacción con el huésped, así como la posible elaboración de una nueva codificación, deben considerarse para evaluar el efecto de estos organismos sobre la salud y el ambiente.

Un **agente biológico** es definido, según la clasificación actual como, “cualquier microorganismo, con inclusión de los genéticamente modificados, los cultivos celulares o endoparásitos humanos, susceptibles de originar cualquier tipo de infección, alergia o toxicidad” en trabajadores expuestos.

Un microorganismo es definido como una entidad microbiológica celular o no celular, capaz de reproducirse o de transferir material genético.

Los agentes biológicos han sido clasificados en cuatro grupos dependiendo del nivel de riesgo de infección (2000/54/CE)

Grupo 1	Agente biológico que presenta poca probabilidad que cause enfermedad en el hombre.
Grupo 2	Agente biológico que puede causar una enfermedad en el hombre y puede suponer un peligro para los trabajadores; es poco probable que se propague a la colectividad; existen, generalmente, profilaxis y/o tratamientos eficaces.
Grupo 3	Agente biológico que puede causar una enfermedad grave en el hombre y presenta un serio peligro para los trabajadores; existe el riesgo que se propague a la colectividad; pero existen, generalmente, profilaxis o tratamientos eficaces.
Grupo 4	Agente biológico que causa una enfermedad grave en el hombre y presenta un serio peligro para los trabajadores; existen muchas posibilidades de que se propague a la colectividad; no existe, generalmente, profilaxis o tratamientos eficaces.

La clasificación de agentes biológicos es mostrada en el Anexo I. Esta clasificación refleja los conocimientos actuales, y debe ser puesta al día en cuanto haya avances técnicos sobre esta materia.

La lista de agentes biológicos sólo incluye a los agentes que pueden provocar enfermedad en el ser humano; no están incluidos, los agentes patógenos para animales y plantas, cuyos efectos en el hombre son desconocidos actualmente.

Microorganismos modificados genéticamente

Un **microorganismo modificado genéticamente** (MMG), según la Directiva 98/81/CEE, es “un microorganismo capaz de replicarse o de transferir el material genético, incluyendo virus, viroides, animales y cultivos celulares de plantas, en el que el material genético ha sido alterado de una forma no natural por acoplamiento y/o recombinación”.

Técnicas consideradas que no ocurren de forma natural, son:

- Técnicas de recombinación del ácido nucleico que incluyen la formación de nuevas combinaciones de material genético por la inserción de moléculas de ácido nucleico obtenidas fuera del organismo por cualquier medio, en un virus, un plásmido bacteriano u otro sistema vector y su incorporación a un organismo hospedador, en el que no se encuentren de forma natural, pero en el que pueden seguir reproduciéndose de una manera continuada.
- Técnicas que conllevan la introducción directa en un microorganismo de material hereditario preparado fuera del mismo, mediante microinyección, macroinyección y microencapsulación.
- Técnicas de hibridación o fusión celular en las que se forman células vivas con nuevas combinaciones de material genético hereditario, mediante la fusión de dos o más células utilizando métodos que no ocurren naturalmente.

La fertilización in vitro, la transducción, la transformación, la inducción poliploide y la conjugación, no pueden ser consideradas como técnicas que originen modificaciones genéticas.

Teóricamente un MMG es separable en: organismo hospedador, en el que la información genética es insertada; el organismo donante, del cual la información genética ha sido obtenida; el vector que transfiere la información entre estos organismos; el insertante que contiene uno o más genes capaces de desarrollar la actividad biológica.

Es útil considerar cada uno de ellos y en conjunto para obtener una evaluación de riesgo exacta y apropiada.

Los vectores son, por definición, plásmidos, bacteriófagos, virus y otros elementos de ADN con capacidad para replicarse autónomamente, en la que un fragmento de ADN externo (insertante) es introducido dentro. Un vector contiene uno o más puntos de réplica y genes que confieren unos caracteres fenotípicos a las células que los contienen (p.ej. resistencia a antibiótico). El vector puede o no integrarse en el ADN del huésped.

Los vectores usados en laboratorios de investigación biotecnológica son numerosos, cualquier lista, por lo tanto, sería incompleta. Por consiguiente, sólo consideraremos los relacionados con vectores empleados para la experimentación en terapia génica y para la producción de plantas transgénicas, ya que representan los usos recientes más útiles de la tecnología del ADN recombinante.

Terapia Génica. La terapia con genes de término define una serie de intervenciones dirigidas hacia la modificación intencionada del material genético con el objetivo de la prevención, el diagnóstico o la curación de una enfermedad.

La modificación sirve para corregir un defecto genético, por la ausencia o la alteración de una proteína, o para agregar la información genética que modifica las características de la célula.

La modificación genética puede ser obtenida en células “in vitro”, o directamente “in vivo”, por el empleo de vectores capaces de transferir genes, y por lo tanto, modificar las características genéticas de las células objetivo (Jones et al., 1995).

Entre los productos de terapia génica se incluyen:

- ácidos o complejos nucleicos liberados
- células genéticamente modificadas
- vectores virales

Los vectores con presencia viral aparecen como el método más eficiente para la transferencia génica. Ellos actúan después de "la infección" verdadera de la célula objetivo, transfiriendo el gen terapéutico que proporciona sus mecanismos biológicos naturales (Kay et al., 2001).

El vector utilizado en la terapia génica es, predominantemente, una réplica defectuosa, o sea, sólo pueden infectar una vez, y no pueden multiplicarse dentro de la célula objetivo, a no ser que se produzca un accidente en “la nueva combinación genética”.

Además de la incapacidad para reproducirse, estos vectores no tienen ninguna actividad lítica.

Los vectores virales usados en la terapia génica son obtenidos de retrovirus, adenovirus, parvovirus, herpesvirus y poxvirus.

El vector más frecuentemente usado proviene de retrovirus aviano y murino (Miller et al., 1990). Las características principales de los retrovirus son:

- simplicidad genética relativa
- la capacidad de infectar una gran variedad de tipos de celulares con alta eficacia
- el material genético está compuesto sólo de ARN

El ARN contenido dentro del retrovirus, se integra en el genoma de la célula huésped, en forma del ADN (ADN proviral). La transformación de ARN en el ADN ocurre debido a una polimerasa específica inversa llamada transcriptasa. La forma proviral de un retrovirus tiene un genoma compuesto de dos secuencias " largas repeticiones terminales " (LTR) y tres genes importantes, que codifican las proteínas principales (copian el gen), las proteínas de la pericápside (envuelven el gen) y lo invierten la transcriptasa/integrasa/proteasas (polimerización del gen). Integrado el provirus puede ser considerado, a todos los efectos, de la misma manera que cualquier gen celular: su réplica coincide con el proceso de transcripción, que es realizado por las polimerasas celulares y regulado por los factores de transcripción celulares que unen la LTR en el extremo 5' del provirus.

El **lentivirus** es un subgrupo de retrovirus capaces de infectar células que no se dividen o están en fase terminal, como son las neuronas (Naldini et al., 1996). Los principales vectores lentivirus se obtienen del virus de inmunodeficiencia felina, el virus de la anemia equina infecciosa, el virus de la inmunodeficiencia de los monos y de los humanos, entre ellos, el VIH.

El **adenovirus** es usado en la terapia génica (Berkner, 1992) cuando es necesario, durante períodos breves, un nivel de expresión elevado del gen transferido, en el momento que la inmunogenicidad fuerte de las proteínas adenovirus estructurales, después de la infección inicial, inducen una respuesta inmune potente, se limita la eficacia de la transferencia del gen. Los adenovirus son virus infecciosos humanos, que a menudo causan enfermedades respiratorias leves, sin embargo, en raras ocasiones, puede ocurrir una enfermedad grave. Requiere una atención particular, el empleo de vectores obtenidos de enfermos, debido al hecho de que puedan transmitirse por el aire.

En terapia génica son utilizados un subgrupo de parvovirus, el adeno-asociado virus (AAV). Son pequeños virus que se duplican en asociación con el adenovirus defectuoso, y por lo tanto, son completamente dependientes del adenovirus. Los AAV son pequeños virus de ADN; en el cultivo de células, el ADN del AAV se integra con mucha frecuencia en el genoma de la célula huésped y se duplica (Berna et al., 1995).

El **herpesvirus** incluye, tanto virus infecciosos humanos, como virus de herpes simple tipo-1 (HSV-1), que es el más comúnmente usado como sistema vector. El HSV-1 es muy común entre la población general, pero en ocasiones, puede causar encefalitis;

su utilidad, como un sistema vector deriva de su amplia gama de células huésped, su capacidad de transformar neuronas, y su capacidad para recibir injertos grandes.

El **poxvirus**, es sumamente estable, e incluye el virus aviar (avipox) que no causa infecciones en las personas, así como el virus de mamíferos, el virus vacuno, que modificado puede infectar al hombre. Gracias a su inmunogenicidad elevada, los vectores virales han sido usados satisfactoriamente en protocolos de terapia inmunogenética, permitiendo la activación de respuestas inmunes contra informaciones de tumor transportadas en dendritas celulares.

El trabajador de laboratorio que usa el vector descrito, está expuesto al riesgo durante el tiempo en el que los dispositivos de protección individuales o colectivos no son usados suficientemente, o cuando los procedimientos de trabajo dirigidos hacia la protección frente al contacto del operador con estos microorganismos no son seguidos.

Los problemas ligados a la seguridad durante el empleo y la manipulación de vectores virales son, obviamente importantes, durante este momento en el que el virus es capaz de infectar células humanas, mientras es usado.

Sin embargo, la peligrosidad de un agente patógeno, dotado con capacidad replicativa y lítica, también depende del estado de la capacidad inmunológica del huésped.

Plantas Transgénicas. El método elegido para la producción de plantas genéticamente modificadas es la transformación utilizando una **agrobacteria**. Las agrobacterias son habitantes Gram-negativos comunes en el suelo, capaces de infectar un número elevado de especies de plantas. *Agrobacterium tumefaciens* y *A. rhizogenes* son las especies más usadas, y por lo tanto, las más estudiadas: causan tumores de cuello y una enfermedad de la raíz, respectivamente. Los efectos patógenos son causados por Ti (inducción de tumor) o Ri (inducción de raíz) del plásmido bacteriano, cuyas dimensiones son relativamente grandes, entre 140 y 235 Kb (Melchers y Hooymaas, 1987). La importancia del agrobacterium está ligada a su capacidad para transferir una sección de ADN plásmido al cromosoma celular de la planta huésped. La región transferida (T- ADN) de Ti y Ri plásmido es integrada y expresada por el genoma de planta; la expresión de estos genes induce el desarrollo de tumores de cuello o la patología de raíz, respectivamente. El T-ADN también induce la producción y la secreción de opines, derivados de aminoácido que el agrobacterium utiliza como una fuente de alimentos.

El T-ADN es una región que tiene entre 14-42 Kb de longitud y está conservada junto a secuencias de 25 bp: margen izquierda (LB) y margen derecho (RB). Todas las secuencias que incluyen la LB y RB se integran en los cromosomas de la célula de plantas. Otro grupo de genes situados dentro del plásmido no son transferidos, pero son necesarios para la producción de proteínas transregulatorias, esenciales para la transformación. Los genes vir son encontrados entre éstos, que producen proteínas responsables de la supresión, la transferencia y la integración del T-ADN en el genoma celular de la planta y los genes responsables del catabolismo de opines, lo que permite al agrobacterium utilizar el opine secretado en tumores y raíces. En la fig. 2 se representa la estructura esquemática del Ti plásmido (Draper et al., 1988).

Otro grupo de genes indirectamente implicados en la transformación está presente en el cromosoma bacteriano, y es responsable de la relación entre la bacteria y las células de la planta. Los genes de virulencia son activados en el agrobacterium por sustancias fenólicas (entre ellas, la acetosiringona) producidas por células de planta dañadas. Ti patógeno y Ri plásmido son genes no necesarios para el proceso de transformación, por lo tanto pueden ser quitados y sustituidos con los genes que deben ser insertados en planta. El Ti y Ri plásmidos son muy grandes y no son recomendables como vectores primarios. Los genes externos, por lo tanto, son insertados en estos vectores, principalmente mediante el sistema binario del vector (Fraley et al., 1986; Klee et al., 1987).

Otros sistemas disponibles para la producción de las plantas genéticamente modificadas que usan virus como vectores son la electroporación y el bombardeo de micropartículas, son idénticos a los usados para la transformación de células animales.

La agrobacteria, como otros fitopatógenos, no está incluida en la lista europea de agentes biológicos (Anexo I); los investigadores que trabajan en este campo están, tal vez, en menos riesgo, pero tienen mayor dificultad en el trazado de la información sobre la clasificación de los agentes biológicos usada.

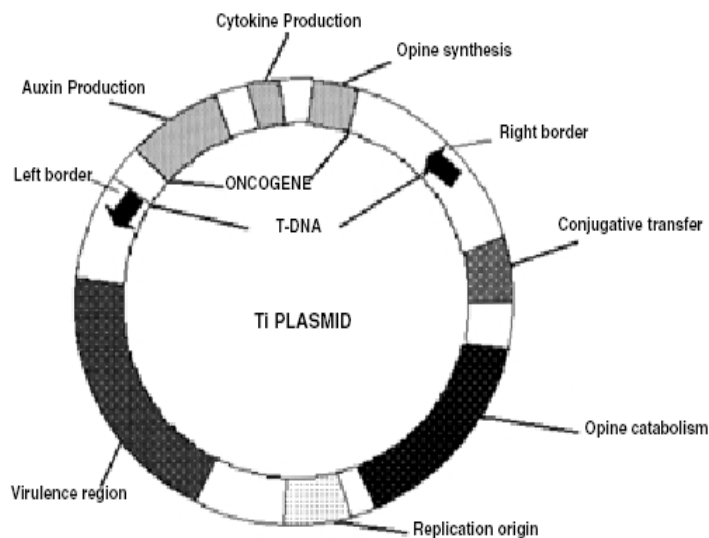


Figura 2. Estructura del Ti plásmido del agrobacterium tumefaciens

Referencias bibliográficas

- Berkner K.L. Expression of heterologous sequences in adenoviral vectors. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 158:39-66 (1992).
- Bern KI., Linden R.M. The cryptic life style of adeno-associated virus. *Bioessays*, 17:237-45 (1995).
- Draper J., Scott R., Armitage P., Walden R., *Plant Genetic Transformation and Gene Expression*. Eds. Draper J., Scott R., Armitage P., Blackwell Scientific Publications (1988).
- Fraley R.T., Rogers, S.G. & Horsch, R.B. Genetic transformation in higher plants. *CRC Critical Reviews in Plant Sciences* 4: 1-46 (1986).
- Jones L.K., Tuddenhan E.G. Gene therapy for the haemophilias. *Gene Ther.*, 2:

699-701 (1995).

- Kay M.A., Glorioso J.C. and Naldini L., Viral vectors for gene therapy: the art of turning infectious agents into vehicles of therapeutics". *Nature Medicine* 7: 33-40 (2001).
- Klee H., Horsch R. & Rogers, S. Agrobacterium-mediated plant transformation and its further applications to plant biology. *Annual Review of Plant Physiology* 38: 467-86 (1987).
- Melchers L.S. and Hooykaas P.J.J. Virulence of Agrobacterium. *Oxford Surveys of Plant Molecular and Cell Biology* 4, 167-220 (1987).
- Miller D.G., Adam M.A. and Miller A.D. Gene transfer by retrovirus vectors occurs only in cells that are actively replicating at the time of infection. *Mol. Cell. Biol.*, 10: 4239-4242 (1990).
- Naldini L., Blomer U., Gallay P., Ory D., Mulligan R., Gare F.H., Verma I.M. and Trono D In vivo gene delivery and stable transduction of nondividing cells by a lentiviral vector. *Science*, 272: 263-7 (1996).

Biological risk

VALORACIÓN DEL RIESGO BIOLÓGICO

Paola Bet, Mariangela Miele, Bernardetta Ledda, Dimitri Sossai

Los procedimientos a seguir para la evaluación correcta de riesgos durante el empleo de agentes biológicos están definidos según la Directiva 2000/54/CE.

La Directiva 98/81/CE, que modifica la Directiva 90/219/CEE, en cambio regula el empleo contenido de Microorganismos Genéticamente Modificados (MMGs).

El **empleo contenido** quiere decir “cualquier actividad en la que estén involucrados los microorganismos genéticamente modificados o en la que los MMGs son cultivados, almacenados, transportados, destruidos, manipulados o utilizados de cualquier otra forma, para los cuales las medidas de contención son empleadas para limitar el contacto con la población en general o el medio ambiente”.

La evaluación de riesgos es un proceso complejo que requiere la identificación de muchos factores. Cualquier actividad específica, puede conducir al riesgo de exposición a agentes biológicos, debiendo ser determinada la naturaleza del riesgo, el grado de exposición y la duración de ésta. Debe ser capaz de evaluar el riesgo para la salud o la seguridad de los trabajadores, y determinar las medidas a adoptar.

Los riesgos ligados a la manipulación de agentes biológicos generalmente están asociados al posible contacto entre el operador, o la comunidad general, y el microorganismo. Por lo tanto, los parámetros siguientes deben ser tenidos en cuenta:

- las características de riesgo del microorganismo
- el riesgo de la actividad

Para el riesgo característico de cada microorganismo, en primer lugar, tenemos la clasificación de los agentes biológicos, recogida en el listado del Anexo I, debiendo considerarse, posteriormente, sus peligros específicos, que están condicionados por numerosos factores, entre ellos:

- El poder patógeno, que es la capacidad de un agente para causar la enfermedad, puede variar según el subtipo, la organización o la resistencia del agente biológico; por ejemplo, el Virus Ebola es considerado muy peligroso, y por ello, se le clasifica en el grupo 4. Sin embargo, la variedad peligrosa es el Ebola Zaire, mientras que el Ebola Reston no parece causar la enfermedad en el hombre. Escherichia Coli es saprofito, habitualmente está en la flora intestinal; aunque la variedad 0157H7 es mortal para el hombre.
- La virulencia representa el grado de patogenicidad. Depende de la infectividad y la gravedad de la enfermedad producida por el agente biológico y viene influenciada por el mecanismo de transmisión de la infección. Por ejemplo, las esporas del bacilo de ántrax pueden causar una neumonía fatal cuando son inhaladas, pero si se introducen por la piel, causan lesiones cutáneas. Antes de saber la virulencia de una variedad aislada, se debe considerar tal variedad como patógena y virulenta.
- La dosis infectiva. Las muestras generalmente diluidas de los agentes infecciosos son menos peligrosas que las muestras concentradas, pudiendo los agentes altamente contagiosos causar la enfermedad a dosis bajas.

- La severidad de la enfermedad y la disponibilidad de tratamiento terapéutico eficaz. Por ejemplo, el estafilococo aureus, que forma parte de la flora habitual de la piel humana y que puede causar una gran variedad de enfermedades generalmente curables con antibióticos, es clasificado, como agente biológico, dentro del grupo 2; el bacilo del ántrax, aunque es mortal por la inhalación, pertenece al grupo 3, al ser sensible a antibióticos; los virus capaces de causar enfermedades serias como el VIH Y VHC están en el grupo 3, por no transmitirse por el aire.
- La vía de transmisión del agente infeccioso. El mecanismo de transmisión de un agente dado puede ser único o múltiple.

Además, hay otros factores que participan en el proceso infeccioso, entre ellos están: la resistencia o la sensibilidad del huésped, el mecanismo de exposición y la dosis infecciosa del agente. La susceptibilidad del sujeto expuesto es determinada por muchos factores: la edad, la raza, el sexo, el estado de salud, las vacunaciones previas y la existencia de embarazo.

Para microorganismos no evaluados, si conocemos la familia a la que pertenecen, se le asigna y trata en el grupo de riesgo donde se haya incluido otra especie conocida de la familia. Cuando no podemos relacionarlo con una familia, previamente valorada, la evaluación debe basarse en la valoración de las características del trabajo, la posibilidad de encontrar la especie patógena en el sustrato usado, considerando el riesgo inicial como el correspondiente al patógeno conocido.

La evaluación de riesgo para MMGs debe tener en cuenta la peligrosidad del organismo receptor, del donante, del insertante y del constructo final.

El riesgo de la actividad está relacionado con el tipo de manipulaciones realizadas con el microorganismo. Los trabajadores manejan diferentes tipos de muestras (fluidos biológicos, orina, sangre, suero, tejidos) que pueden estar contaminados con agentes biológicos, cultivos de células, líquidos bacterianos o cultivos agar y virus. El nivel de riesgo al que los trabajadores están expuestos, depende de la naturaleza de la muestra. La sangre, el suero o las muestras de tejidos, probablemente, contienen una concentración baja de agente infeccioso, y por consiguiente, representan un riesgo pequeño. Los cultivos de bacterias purificados, o los concentrados de células con virus en soluciones líquidas, tienen un riesgo mucho más alto.

Dentro del laboratorio puede darse la contaminación debido a la formación de aerosoles, la ingestión, la exposición de las membranas mucosas o la inoculación accidental. Los aerosoles son considerados el modo de transmisión más peligroso de un agente infeccioso. Los aerosoles pueden generarse por la manipulación de líquidos, la fragmentación de tejidos, la preparación de placas con bacterias o el empleo inapropiado de los equipos de laboratorio, que incluye a las centrifugadoras, o rotura de tubos con cultivos celulares (Collins, 1983).

Otros mecanismos por los que un trabajador puede ponerse en contacto con un agente biológico, pueden ser por:

- inoculación accidental, por ejemplo, pinchándose o cortándose en la piel con instrumentos infectados o con objetos punzantes como: agujas, escalpelos o cristales rotos.
- ingestión accidental, por ejemplo, pipeteando con la boca, por comer o beber dentro del laboratorio.
- contacto directo con las partes expuestas del cuerpo (cara, ojos), por ejemplo, salpicaduras generadas por agitación violenta, empleo de jeringuillas o muestras líquidas.

En el caso de cualquier actividad en la que los trabajadores están potencialmente expuestos a riesgos por agentes biológicos, el nivel y duración de la exposición de los trabajadores debe ser determinado con el fin de valorar cualquier riesgo para la salud o seguridad de los trabajadores y aplicar las medidas de acuerdo a la Directiva 2000/54/CE.

En el caso de actividades en las que la exposición sea a diversos grupos de agentes biológicos, el riesgo debe valorarse en función de los grupos más peligrosos. La valoración debe repetirse regularmente, y cada vez que haya algún cambio en las condiciones de trabajo.

El empresario deberá suministrar a las autoridades competentes, siempre que se lo requieran, la información utilizada en la evaluación de riesgos y toda la información adicional:

- a) Clasificación de los agentes biológicos.
- b) Recomendaciones de la autoridad competente que indican si el agente biológico debe ser controlado con el fin de proteger la salud de los trabajadores cuando los trabajadores están o pueden estar expuestos a dicho agente como consecuencia de su trabajo.
- c) Información de las enfermedades que pueden ser contraídas como resultado de su trabajo.
- d) Potenciales efectos alérgicos o tóxicos resultado de su trabajo.
- e) Conocimiento de las enfermedades que han sufrido los trabajadores y cuales han tenido una relación directa con el trabajo.

Donde los resultados de la valoración revelen riesgos para la seguridad y salud de los trabajadores, el empresario deberá suministrar a las autoridades competentes, siempre que se lo requieran, la información adecuada sobre:

- a) Resultado de la valoración.
- b) Actividades en las cuales los trabajadores hayan estado expuestos o puedan estar expuestos a un agente biológico.
- c) El número de trabajadores expuestos.
- d) El nombre y capacitación de la persona encargada de la seguridad y salud de los trabajadores.
- e) Las medidas de prevención y protección tomadas, incluyendo los métodos y procedimientos de trabajo.
- f) Los planes de emergencia para la protección de los trabajadores frente a la exposición con agentes clasificados en el grupo 3 y 4, tras la pérdida de las medidas de contención.

El empresario deberá informar a las autoridades competentes de cualquier accidente o incidente con agentes biológicos que pueda derivar en una infección grave o enfermedad en humanos.

También debe realizarse la evaluación de riesgos para actividades de manipulación genética de agentes biológicos, como la transferencia de genes exógenos en animales, plantas o el hombre, debiendo ser considerados la producción de gran variedad de ácidos nucleicos (constructos).

Estos constructos, generalmente, contienen genes marcadores de resistencia a antibióticos y, según la circunstancia, una cantidad elevada de genes extraídos de la bacteria patógena, virus y otros parásitos pertenecientes a todos los reinos de organismos vivos (Ho et al., 1998). La mayoría de constructos que se han producido, nunca han existido en la naturaleza, y por lo tanto pueden ser causas potenciales de daño (Traavik, 1999) al ambiente y a la salud.

Durante mucho tiempo se pensaba que el ADN se degradaba rápidamente en el ambiente externo, y por lo tanto, no era capaz de ser absorbido por la piel o el tubo digestivo. Estas suposiciones han sido descartadas por los estudios experimentales, que han comprobado que el ADN persiste en todos los ambientes, siendo fácilmente absorbido por las células de todos los organismos. De hecho, las concentraciones altas de ADN desnudo han sido encontradas en todos los ambientes naturales: en el suelo, en sedimentos marítimos y de agua dulce, en la interfaz de agua y aire, conservando la capacidad para transformar microorganismos (Lorenz y Wackernagel, 1994; Ho, 1998; Ho et al., 1998). El ADN también persiste en la boca (Mercer et al., 1999) y en la vía digestiva de mamíferos (Schubbert et al., 1994), donde puede ser absorbido e incorporado por la población microbiana y por las células del huésped. Mercer ha publicado que el ADN plásmido, parcialmente degradado, es capaz de transformar al *Streptococcus gordonii*, que normalmente vive en la boca humana y la faringe, ya que contiene los factores que aumentan la capacidad de la bacteria para ser transformada (Mercer et al. 1999).

Se conoce la capacidad de ADN para penetrar por la piel intacta desde 1990, cuando unos investigadores demostraron que al aplicar ADN clonado de oncogen humano a un ratón, le indujeron el desarrollo de tejido tumoral (Brown, 1990).

Finalmente, estudios recientes han puesto de manifiesto, como los ácidos nucleicos pueden entrar fácilmente en todos los tejidos humanos y células de mamífero. De hecho los ácidos nucleicos pueden ser administrados en aerosoles de forma satisfactoria (Yei et al., 1994), por aplicaciones tópicas en el ojo (Noisakran et al., 1999) por el oído interno (Yamasoba et al., 1999), vía folículos de cuero cabelludo (Hoffman, 2000), por inyección directa intramuscular (Budker et al., 1998), por la piel (Khavari et al., 1997), o por la boca (During et al., 1998).

Los estudios relatados antes, se refieren a la manipulación genética de microorganismos usados para la transformación de células u organismos animales, o bien, en terapia génica. En cuanto a la manipulación genética de plantas, los riesgos que principalmente deben tenerse en cuenta son los relacionados con el ambiente y la transferencia en horizontal de genes que confieren la resistencia a antibióticos al fragmentar la microflora. Como se ha visto anteriormente, el empleo de agrobacteria, es

el sistema elegido para la transformación genética de plantas, no siendo considerado un riesgo para el trabajador, ya que la opinión generalizada, es que el proceso causa primero la supresión, y se da la integración de ADN del plásmido, sólo en células de plantas. Un estudio reciente tiene, en cambio recogido, que el agrobacterium, en ciertas condiciones experimentales, es también capaz de transferir su propio ADN plásmido a células de animales y humanas (Kunik et al., 2001). Son necesarias más investigaciones para confirmar con eficacia, si realmente el riesgo existe para los trabajadores que usan agrobacterias, mientras tanto, se sugiere el empleo de estos microorganismos en laboratorios con niveles de contención adecuados, aunque no estén incluidos en la lista europea de agentes biológicos (Anexo I).

El proceso de evaluación del riesgo biológico, necesariamente debe tener en cuenta todo lo que antes se ha referido. Tiene el objetivo de reducir al mínimo, el riesgo de exposición durante la manipulación de agentes biológicos, por el empleo de medidas de contención específicas. Por esta razón las actividades que implican el empleo de agentes biológicos, en particular MMGS, son separadas en 4 clases:

Clase 1	Actividades que no presentan, o el riesgo es insignificante, son actividades para las que el nivel 1 de contención resulta adecuado para proteger la salud humana y el ambiente.
Clase 2	Actividades de riesgo bajo, son actividades para las que el nivel 2 de contención es adecuado para proteger la salud humana y el ambiente.
Clase 3	Actividades que presentan un riesgo moderado, es decir, son actividades para las que el nivel 3 de contención es adecuado para proteger la salud humana y el ambiente.
Clase 4	Actividades de riesgo alto, es decir, son actividades para las que el nivel 4 de contención es adecuado para proteger la salud humana y el ambiente.

Cuando existe la duda sobre si la clase aplicada es la idónea por el empleo contenido, no deberían ser aplicadas medidas protectoras más rigurosas, a no ser que haya evidencia suficiente, acordando con la autoridad competente, la aplicación de medidas menos rigurosas de forma justificada.

Los procedimientos para ejecutar la valoración del riesgo en la manipulación de MMGs se describen en las Directivas 98/81/CE y 2000/68/CE. Deben considerarse los elementos que requieren consideración por los efectos potencialmente dañinos que pueden producir en humanos y en el ambiente.

Los efectos potencialmente dañinos se definen como aquellos que pueden aumentar la enfermedades, disminuir la profilaxis y los tratamientos infectivos, promover la expansión al ambiente, lo cual aumenta los efectos dañinos en organismos o poblaciones y aumenta los efectos dañinos por transferencia genética a otros organismos.

La valoración requiere que los riesgos de los efectos potencialmente dañinos sean considerados en cada actividad y asignados a una clase, teniendo en cuenta en ambos la naturaleza y escala de las operaciones, para determinar los niveles de contención requeridos (ver tabla 1). El nivel de riesgo proveniente de la manipulación de los organismos genéticamente manipulados (MMG) y su constructo, viene determinado por la consideración de la severidad de los efectos potencialmente dañinos,

a la salud humana y al ambiente, y por la posibilidad de que dichos efectos tengan lugar. La valoración del riesgo considera la exposición de los humanos y del ambiente a los MMGs durante las operaciones de manipulación.

El proceso total de valoración del riesgo consiste en dos procedimientos.

Procedimiento 1

- a) Identificación de las propiedades dañinas (peligros) de los MMG, deben considerarse los organismos receptores, organismos donantes, características y localización del material genético insertado, vectores y MMG resultantes (teniendo en cuenta las consideraciones sobre la salud humana y el medioambiente).
- b) Incluir el MMG en una clase inicial (clase 1 a 4) teniendo en cuenta la severidad de los efectos potencialmente dañinos.

Procedimiento 2

- a) Determinar la clasificación final y las medidas de contención.
- b) Confirmar la clasificación final y medidas de contención y verificar si son adecuadas revisando el procedimiento 2.

La clasificación, medidas de control y contaminación identificadas en la valoración del riesgo como requiere una adecuada manipulación de los MMGs durante las operaciones, permiten una clasificación de las actividades en las clases de 1 a 4. Las medidas de control y contaminación para cada tipo de manipulación se indican en las tablas.

Si hay alguna incertidumbre en la clasificación final y en las medidas de contención, se deberá contactar con la autoridad competente.

Notificación a la Autoridad Competente

La notificación es la presentación de la información requerida a la autoridad competente de un Estado miembro, esto está previsto para agentes biológicos, así como para microorganismos genéticamente modificados.

Notificación para el empleo de agentes biológicos

- Los que tienen la intención de trabajar, por primera vez, con un agente biológico
- del grupo 2
 - del grupo 3
 - del grupo 4

deben enviar el aviso a la Autoridad Competente del Estado miembro, dentro de los límites previstos según la Directiva 2000/54/CE (art. 13).

La notificación debe ser hecha, al menos, 30 días antes del inicio de los trabajos (o en una manera diferente a la Directiva europea, conforme a la adaptación en cada país).

Se efectuará una nueva notificación en aquellos casos en que se produzcan cambios sustanciales de los procesos y/o procedimientos con repercusiones sobre la seguridad y la salud en el lugar de trabajo, que hagan obsoleta la anterior notificación.

Notificación para el empleo de GMM

Los que tienen la intención de emplear por primera vez en un local dado MMGs, deben realizar comunicación a la autoridad competente del Estado miembro, antes del comienzo del empleo, en forma de notificación dentro de los límites previstos según la Directiva 98/81/CE (Accesorio V, parte A).

Clase 1:

Notificación previa obligatoria.

Tras la notificación previa, la manipulación se realizará sin posteriores notificaciones.

Clase 2:

Notificación previa obligatoria.

La primera y posteriores manipulaciones se realizarán con notificaciones obligatorias.

Clase 3:

Notificación previa obligatoria.

La primera y posteriores manipulaciones se realizarán con notificaciones obligatorias.

Clase 4:

Notificación previa obligatoria.

La primera y posteriores manipulaciones se realizarán con notificaciones obligatorias.

La manipulación de agentes de la clase 3 o superior deben ir precedidas del consentimiento de la autoridad competente que deberá comunicarlo por escrito:

- a) Al menos 45 días después de recibir la notificación en el caso de permisos que hayan estado sujetos a notificación previa por ser manipulaciones de agentes del grupo 3 o superior y donde cualquier consecuencia asociada haya sido satisfecha en el mismo nivel o superior del organismo que se maneje.
- b) Al menos 90 días después de recibir la notificación, en los otros casos.

Las autoridades competentes examinarán la conformidad de la notificación, con respecto a los requerimientos de la Directiva, la precisión y detalle de la información dada, la correcta inclusión de los Organismos manipulados en una clase y la adecuación de las medidas de contención y protección, la gestión de los residuos y las emergencias.

Para toda la duración de la manipulación de MMG de uso confinado, es responsabilidad del empresario asegurar: la correcta inclusión de los organismos manipulados en una clase, la adecuación de las medidas de contención y protección, la gestión de los residuos y las emergencias, así como la custodia de los registros y la documentación de las evaluaciones de riesgo periódicas que se realicen.

Referencias bibliográficas

- Brown, P. Naked DNA raises cancer fears for researchers. *New Scientist* 6 October, 17 (1990).
- Budker, V., Zhang, G., Danko, I., Williams P. and Wolff, J. The efficient expression of intravascularly delivered DNA in rat muscle. *Gene Therapy*, 5: 272-6 (1998).
- Collins, C.H. *Laboratory acquired infections: History, incidence, causes and prevention*. Butter-worths, and Co. Ltd: Oxford, England (1983).
- Doring, M.J., Xu, R., Young, D., Kaplitt, M.G., Sherwin, R.S., Leone, P. Peroral gene therapy of lactose intolerance using an adeno-associated virus vector. *Nat. Med.*, 4: 1131-5 (1998).
- Ho, M.W. *Genetic Engineering Dream or Nightmare? The Brave New World of Bad Science and Big Business*, Gateway Books, Bath 2nd ed., Gateway, Gill & Macmillan, Dublin (1998, 1999).
- Ho, M.W., Traavik, T., Olsvik, R., Tappeser, B., Howard, V., von Weizsacker, C. and McGavin, G. *Gene Technology and Gene Ecology of Infectious Diseases. Microbial Ecology in Health and Disease*, 10: 33-59 (1998b).
- Hoffman, R.M. The hair follicle as a gene therapy target. *Nature Biotechnology*, 18: 20-1 (2000).
- Khavari, P.A. Cutaneous gene therapy. *Advances in Clinical Research*, 15: 27-35 (1997).
- Kunik, T., Tzfira, T., Kapulnik, Y., Gafni, Y., Dingwall, C., Citowsky, V. Genetic transformation of HeLa cells by *Agrobacterium*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98:1871-1876 (2001).
- Lorenz, M.G., Wackernagel, W. Bacterial gene transfer by natural genetic transformation in the environment. *Microbiol. Rev.*, 58: 563-602 (1994).
- Mercer, D.K., Scott, K.P., Bruce-Johnson, W.A. Glover, L.A., Flint, H.J. Fate of free DNA and transformation of the oral bacterium *Streptococcus gordonii* DL1 by plasmid DNA in human saliva. *Applied and Environmental Microbiology* 65,6-10 (1999).
- Noisakran, S., Campbel, I.L., Carr D.J. Ecotopic expression of DNA encoding IFN-alpha 1 in the cornea protects mice from herpes simplex virus type 1-induced encephalitis. *J Immunol*, 162: 4184-90 (1999).
- Schubert, R., Lettmann, C., Doerfler, W. Ingested foreign (phage M13) DNA survives transiently in the gastrointestinal tract and enters the bloodstream of mice. *Molecular and General Genetics*, 242: 495-504 (1994).
- Traavik, T. Too early may be too late: Ecological risks associated with the use of naked DNA as a biological tool for research, production and therapy. Reported to the Directorate of Nature Management, Norway: 29-31 (1999).
- Yamasoba, T., Yagl, M., Roessler, B.J., Miller, J.M., Rapheal, Y. Inner ear transgene expression after adenoviral vector inoculation in the endolymphatic sac. *Hum Gene Ther*, 10: 744-69 (1999).
- Yei, S., Mittereder, N., Wert, S., Whitsett, J.A., Wilmott, R.W., Trapnell, B.C. In vivo evaluation of the safety of adenovirus-mediated transfer of the human cystic fibrosis transmembrane conductance regulator cDNA to the lung. *Hum. Gene Ther.*, 15: 731-744 (1994).

PREVENCIÓN DEL RIESGO BIOLÓGICO

Paola Bet, Mariangela Miele, Rosa Montero Simó, Modesto Román Delgado, Dimitri Sossai.

La valoración del riesgo biológico tiene como fin analizar los riesgos asociados a la manipulación de agentes biológicos en el trabajo para reducirlos a un nivel aceptable de contaminación para los trabajadores, el ambiente y la comunidad en general (Rodricks, 1994). El control del riesgo se lleva a cabo mediante la adopción de medidas de prevención adecuadas, tales como:

- Medidas de confinamiento adecuadas.
- Equipos adecuados.
- Reglas de conducta en el laboratorio adecuadas.
- Medidas de protección general y personal adecuadas.

Además, para reducir o eliminar el riesgo de contaminación son de vital importancia la profesionalidad, el entrenamiento, la experiencia y el sentido común; por tanto la formación y puesta al día del personal, así como la elaboración de un manual de procedimientos con las indicaciones a seguir durante un incidente o accidente durante el proceso, forman parte indispensable del programa de prevención. El manual de bioseguridad debe estar presente en el lugar de trabajo, y ser entregado a los trabajadores, al inicio de su actividad con agentes biológicos.

Niveles de Contención del Laboratorio

Los niveles de contención representan los requerimientos necesarios para realizar una protección adecuada del personal que trabaja con agentes biológicos, para prevenir la contaminación ambiental.

Para ello deberán seguirse las pautas siguientes:

- El laboratorio debe contar con el suficiente espacio para trabajar sin que exista la posibilidad de chocar con los equipos o las personas.
- Las superficies de paredes, techos y suelos deben ser impermeables y de fácil limpieza. Se recomiendan paredes de PVC unidas mediante soldadura eléctrica.
- Los tubos y tuberías exteriores deben evitarse, y si se encuentran presentes, deben separarse de las paredes.
- Las mesas de trabajo serán impermeables y resistentes a ácidos, álcalis, disolventes orgánicos y calor moderado.
- El mobiliario será robusto y los espacios entre mesas, armarios, estanterías, cabinas y otros equipos serán lo suficientemente amplios para permitir su limpieza correcta.
- Los armarios deben contener objetos de uso inmediato y se debe tratar de evitar el desorden en los bancos de trabajo y áreas de paso.
- Deberá disponerse de un almacén adecuado para el material de laboratorio, situado fuera del área de trabajo.

- Se dispondrá de ducha de accionamiento por pedal o el codo, preferentemente situada en la zona de salida.
- Se dispondrá de lavajos en una zona fácilmente accesible.
- Las puertas deben ser resistentes al fuego, de autocierre y con paneles transparentes.
- Se dispondrá de un autoclave para descontaminar los residuos que genere el laboratorio.
- La ropa del personal debe guardarse en áreas separadas de la de trabajo.

Teniendo en cuenta los trabajos realizados en un laboratorio se distinguen cuatro niveles de contención:

Nivel de contención 1:

El nivel de contención 1 está indicado cuando se realizan operaciones que no presentan riesgo para la salud o el medioambiente. Se deben aplicar medidas de contención y protección mínimas. El lugar de trabajo debe estar separado por puertas que deben permanecer cerradas durante el trabajo. Se recomienda la existencia en el lugar de trabajo de lavabos.

Nivel de contención 2:

El nivel de contención 2 está indicado cuando se realizan operaciones que presentan un riesgo muy bajo para la salud o el medioambiente.

En este nivel de contención se prevé la presencia de agentes biológicos del Grupo 1 ó 2 y persigue proteger al trabajador de la formación de aerosoles. Debe disponerse de una señal de peligro biológico en la puerta del laboratorio. Deberá haber un autoclave en el laboratorio o en el edificio para inactivar los desechos o residuos.

Nivel de contención 3:

El nivel de contención 3 está indicado cuando se realizan operaciones que presentan un riesgo moderado para la salud o el medioambiente.

El acceso al laboratorio debe ser restringido y es necesaria la presencia de cabinas de seguridad biológica tipo I o II. Debe disponerse de una señal de peligro biológico en la puerta del laboratorio. Deberá haber un autoclave en el laboratorio o en el edificio para inactivar los desechos o residuos. El suministro de materiales se hará a través de un autoclave de doble puerta, esclusa o cámara de descontaminación superficial. El acceso al laboratorio se realizará a través de una zona de aire filtrado y con ambiente separado del laboratorio. El lado externo de la zona filtrada y libre de contaminación debe estar separado de la zona de acceso restringido por una habitación para el cambio de la ropa y ducha, preferentemente con puertas de cierre automático. La presión en el interior del laboratorio debe ser negativa. El aire extraído del laboratorio debe filtrarse a través de filtros HEPA antes de expulsarlo al exterior. La zona de trabajo debe ser impermeable con el fin de permitir la fumigación. En la fig.3 se representa un nivel de contención 3 (Richmond, 1999; Richmond, 2000).

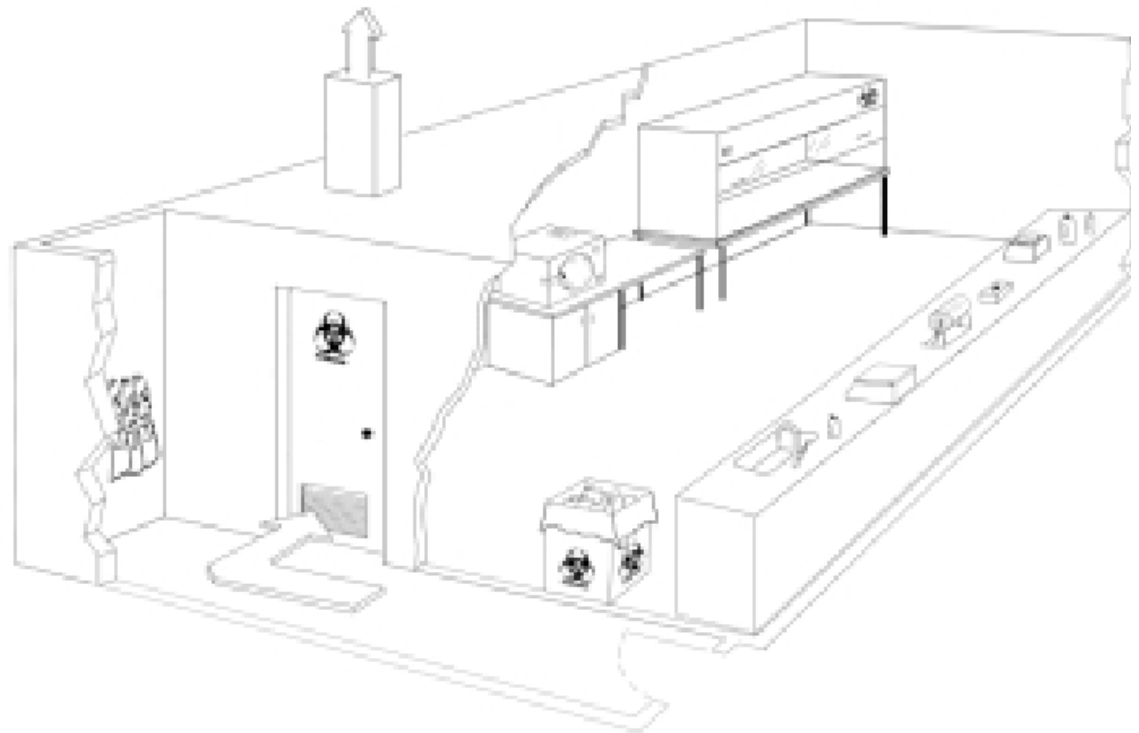


Figura 3. Nivel de contención 3

Nivel de contención 4:

El nivel de contención 4 está indicado cuando se realizan operaciones que presentan alto riesgo para la salud o el medioambiente.

El laboratorio debe encontrarse separado de otras zonas del edificio, o incluso debe ubicarse en otro edificio.

El acceso al laboratorio debe ser restringido y es necesaria la presencia de cabinas de seguridad biológico tipo I, II o III. El suministro de materiales será a través de un autoclave de doble puerta, esclusa o cámara de descontaminación superficial. El acceso al laboratorio se realizará a través de una zona de aire filtrado y con ambiente separado del laboratorio. El lado externo de la zona filtrada y libre de contaminación debe estar separado de la zona de acceso restringido por una habitación para la muda de la ropa y ducha, preferentemente con puertas de cierre automático. La presión en el interior del laboratorio debe ser negativa. El aire introducido y extraído del laboratorio debe ser filtrado a través de filtros HEPA.

Las medidas de contención y de prevención para la actividad en el laboratorio están descritas en la tabla 1 de la Directiva Europea 98/81/CE.

Instrumentación del laboratorio y procedimientos para su uso

El instrumental del laboratorio debe contar con el marcado CE y con el manual de uso escrito en el idioma del Estado miembro, con la información recogida con claridad, también debe garantizarse la facilidad de manipulación, mantenimiento y acceso para su limpieza y descontaminación.

Cabinas de seguridad biológica

Las cabinas de seguridad biológica son un sistema de contención primario, ya que impiden la difusión del material biológico potencialmente peligroso. Las cabinas se clasifican en tres categorías de acuerdo al nivel de protección garantizado para el operario y el ambiente. La elección de una cabina de seguridad biológica viene determinada por el riesgo asociado al agente biológico o al MMG manipulado.

Las cabinas de flujo horizontal laminar, se utilizan principalmente en los laboratorios de biotecnología vegetal, y no son consideradas cabinas de seguridad biológica, ya que protegen la muestra de una eventual contaminación, pero no protegen al trabajador.

La instrumentación presente en el área de trabajo o cercana a la cabina, si genera fuentes de calor o corrientes de aire puede alterar el funcionamiento de la cabina disminuyendo la protección. Si tiene lámparas UV, éstas deben limpiarse semanalmente, para eliminar el polvo o la suciedad que disminuyen el efecto germicida de los rayos UV. Las lámparas deben estar apagadas durante la actividad, encenderse 15 minutos antes de iniciarla y 15 min. después de acabar. La eficiencia de las lámparas debe examinarse periódicamente.

Cabinas de seguridad biológica. Clase I. Se emplean con agentes biológicos de bajo riesgo; protegen al trabajador y al ambiente de contaminaciones eventuales, pero no a la muestra. El aire externo es aspirado dentro de la cabina y se expulsa al exterior tras ser filtrado por un filtro HEPA, y si se emplean disolventes orgánicos, a través de un filtro de carbón activo.

Cabinas de seguridad biológica. Clase II. Se emplean con agentes biológicos de riesgo moderado; protegen al trabajador, al ambiente y a la muestra de una contaminación eventual. El aire exterior es aspirado y transportado a la zona de trabajo tras ser purificado por un filtro HEPA. El aire extraído también es filtrado por un filtro HEPA antes de ser expulsado al exterior.

Cabinas de seguridad biológica. Clase III. Se emplean con agentes biológicos de alto riesgo; están herméticamente selladas y el ambiente interno es mantenido bajo presión negativa. Todas las operaciones en el área de trabajo de la cabina son realizadas a través de unos guantes frontales. Este tipo de cabinas garantizan la protección casi total del trabajador, el ambiente y la muestra. El aire que entra pasa a través de un filtro HEPA, cruza la superficie de trabajo y pasa a través de dos filtros HEPA o a través de un filtro HEPA y un incinerador, antes de ser expulsado al exterior. Las cabinas de Clase III se encuentran normalmente en laboratorios con muestras de alto nivel de contaminación y de acceso estrictamente controlado.

Para un buen uso de las cabinas de seguridad biológica se recomienda seguir estos procedimientos:

- Encender la cabina y la lámpara UV 15 min. antes de comenzar las operaciones.
- Si tienen una trampilla, asegurarse de que no abre más de 20 cm, aunque se den diferentes indicaciones por el fabricante.
- Guardar un mínimo de reactivos e instrumentos en la cabina.
- Colocar pequeños contenedores de residuos biológicos en el interior de la cabina y transferirlos perfectamente sellados a contenedores mayores.
- No utilizar mecheros Bunsen o de otro tipo en las cabinas de Clase II o III, ya que el aire caliente puede generar corrientes y alterar el flujo de aire de la cabina, causando contaminación en la zona de trabajo o en el ambiente exterior, además pueden dañar a los filtros HEPA.
- Limpiar siempre la superficie de trabajo con cuidado y con desinfectante al final de cada sesión de trabajo (ej. alcohol 70°).

Para mayor información sobre cabinas de seguridad biológica consultar la publicación CDC-NIH (Contención primaria de biopeligrosos: selección, instalación y uso de cabinas de seguridad biológica).

Centrífugas

Para realizar un buen centrifugado es necesario seguir estas indicaciones:

- Colocarla de forma que sea accesible a todo el personal.
- Seguir las instrucciones del manual de instrucciones y realizar un mantenimiento periódico.
- Equilibrar los recipientes y los accesorios de la centrífuga con líquidos no corrosivos.
- Utilizar tubos de centrífuga de cristal grueso o de plástico, si los agentes biológicos que han de ser centrifugados presentan un riesgo de contaminación alto o moderado se recomienda el uso de tubos cerrados y con código de barras.
- Sellar los tubos adecuadamente para impedir la difusión eventual de aerosoles contaminantes.
- Utilizar centrifugas con rotores anti-aerosol y con sellado apropiado anti-aerosol, en el caso de que se trabaje con agentes biológicos de los Grupos 2, 3 y 4.
- Centrifugar las muestras con agentes de los grupos 3 y 4 separadas de otros materiales y abrir o cerrar los tubos en cabinas de bioseguridad.
- Inspeccionar los rotores y recipientes de la centrífuga después de cada uso para verificar la ausencia de corrosión o roturas y colocarlos de forma que se eviten condensaciones.

Neveras, congeladores y contenedores de nitrógeno líquido

Las neveras, congeladores y contenedores de nitrógeno líquido se utilizan para el almacenamiento de muestras biológicas, reactivos y soluciones, etc. Para su correcto uso deben seguirse las siguientes indicaciones:

- No abrirlos con frecuencia, salvo que sea necesario.

- Instalar las neveras y congeladores a distancia de las fuentes de calor y separados de las paredes.
- Utilizar contenedores apropiados para bajas temperaturas de almacenamiento.
- No llenar excesivamente los contenedores del material que vaya a congelarse para evitar su derrame.
- Etiquetar claramente todos los contenedores con la información del contenido, trabajador y fecha.
- Además de utilizar guantes de protección frente a agentes biológicos también deben usarse guantes contra las bajas temperaturas para la extracción de muestras a -80°C y en nitrógeno líquido, máscara facial y delantal para evitar quemaduras por el frío. Además los contenedores de nitrógeno líquido deben guardarse en un ambiente bien ventilado, con el fin de prevenir posibles incidentes de asfixia.
- Los productos peligrosos deben guardarse en una nevera o congelador con llave y ésta ser guardada por una sola persona.
- Los líquidos inflamables deben almacenarse en neveras y congeladores sin luz interna.
- Indicar en el exterior de la nevera o congelador el nombre de la empresa o persona encargada de su reparación en caso de avería.
- Limpiar periódicamente las neveras o congeladores asegurándose previamente que están desenchufados de la corriente. Durante la operación el trabajador deberá llevar mascarilla y guantes de goma; el material sin etiquetar deberá ser eliminado tras su esterilización.
- Utilizar pinzas para transportar contenedores rotos o fragmentos de vidrio o plástico.
- Desinfectar las superficies internas de las neveras o congeladores con etanol al 70%.

Incubadoras

Las incubadoras por vía húmeda son una gran fuente de contaminación para muestras biológicas, así como para el ambiente. Deben limpiarse con regularidad. Antes de limpiarlas hay que vaciar todos sus contenidos (bandejas, matraces, gradillas, etc.), entonces se limpia la parte interna con un detergente no tóxico y se eliminan los restos de detergente con alcohol al 70%, volviendo a colocar el material en su interior. Si los matraces contienen material peligroso, deberán colocarse en contenedores de plástico “cajas tipo sandwich” con las juntas herméticas, los contenedores deben abrirse en el interior de una cabina. Si por casualidad un cultivo celular se vuelca en la incubadora el agua de su interior debe ser eliminada tras pasar por el autoclave.

Para operaciones en las que se manipulan agentes del grupo 3 ó 4, se recomiendan incubadoras con sistemas de aspiración de aire o situar la incubadora en una campana con sistema de aspiración y filtros tipo HEPA.

Baños de agua termostáticos

Los baños de agua termostáticos son recipientes de agua calentada por elementos eléctricos. Para mantener la temperatura homogénea del agua se utiliza un sistema de agitación, y sólo han de introducirse los contenedores en soportes adecuados, bien cerrados para evitar sprays o descargas accidentales de la muestra. El uso de baños termostáticos con

tapadera inclinada es preferible con el fin de evitar gotas de vapor condensado sobre los contenedores. Nunca se debe colocar la tapa cerca de cables, enchufes o aparatos eléctricos. Además es recomendable:

- Instalar el baño termostático a distancia de los dispositivos eléctricos (cables, enchufes o aparatos eléctricos).
- Llenar el baño termostático con agua destilada y añadirle un antimicrobiano (no utilizar azida sódica, puede formar un compuesto explosivo con cobre, latón o plomo).
- Cambiar el agua, al menos, cada 15 días; si la muestra se derrama, deshacerse del agua como si fuera un residuo biológico.
- Periódicamente proceder a la limpieza del baño con guantes.
- Evitar introducir las manos desnudas en el baño.
- Comprobar siempre que los contenedores de la muestra son resistentes al calor, para evitar el derrame de la misma.

En el caso de que las operaciones con agentes biológicos, células o tejidos de origen humano o animal en el equipo puedan generar aerosoles (ej. homogenización, agitación del cultivo celular, liofilización, ultrasonidos) se recomienda trabajar en cabinas de bioseguridad; cuando esto no sea posible utilizar equipos de protección individual apropiados y abrir los contenedores en la cabina tras esperar 10 min., para permitir que el aerosol se deposite. Los contenedores deben ser de plástico o vidrio grueso, y deberá verificarse su buen estado. Cuando se empleen ultrasonidos se deberán utilizar protectores auditivos.

Reglas para trabajar en el laboratorio

La mayor parte de la contaminación debida a los agentes infecciosos ocurre como consecuencia de los errores humanos. Para eliminar o limitar el riesgo de contaminación se van a definir una serie de reglas de trabajo e higiene que tienen en cuenta todos los aspectos de este trabajo, desde la organización del laboratorio a la conducta que debe adoptar cada trabajador durante sus actividades (CDC y NIH guidelines, 1976; 1999; Manuale de biosicurezza in laboratorio, 1995). Como regla general de conducta para las Buenas Prácticas de Laboratorio hay una serie de normas que cada trabajador debe seguir, con el fin de eliminar o limitar el riesgo presente en el ambiente de trabajo, y garantizar la calidad de cada trabajo.

Las normas son las siguientes:

- El acceso al laboratorio (incluyendo animalario) debe estar estrictamente controlado.
- El personal recibirá una formación apropiada sobre seguridad en el laboratorio. Al personal se le informará sobre la existencia de riesgos especiales, se le pedirá que lea y observe las instrucciones sobre las prácticas y los procedimientos establecidos.
- Adoptar un manual de seguridad o de operaciones en el que se identifiquen los riesgos actuales o potenciales indicándose las prácticas o procedimientos adecuados para reducir al mínimo o eliminar tales riesgos; así como las pautas a seguir en caso de un incidente.
- Información adecuada a los trabajadores cada vez que se introduzcan nuevos riesgos.

- Mantener las puertas cerradas durante la experimentación.
- Colocar la señal de peligro biológico en la puerta de entrada del laboratorio.
- Mantener el laboratorio y las jaulas de los animales limpias, en orden y libres de cualquier objeto que no sea necesario para el trabajo.
- Cubrir las superficies de trabajo con plástico absorbente cubierto con papel.
- Descontaminar las superficies de trabajo, al menos una vez al día, y cada vez que un material potencialmente contaminante se derrame, retirar con papel absorbente y colocar en el contenedor adecuado de residuo biológico.
- No se permitirá pipetear con la boca.
- Todos los procedimientos técnicos se practicarán de forma que eviten, en lo posible, la formación de aerosoles.
- Colocar las pipetas contaminadas en un contenedor con desinfectante o directamente en el contenedor de residuos biológicos.
- En el laboratorio se utilizarán batas, uniformes y otras prendas apropiadas; no se llevará ropa de laboratorio fuera de éste; se desinfectarán las prendas contaminadas por procedimientos apropiados.
- Siempre que sea necesario proteger los ojos y la cara de salpicaduras o impactos se utilizarán gafas de seguridad, viseras o pantallas faciales y otros dispositivos de protección.
- Prohibir el uso de jeringas y agujas hipodérmicas, si no es posible seguir las instrucciones del párrafo siguiente. Las agujas hipodérmicas y jeringas no pueden utilizarse para mezclar fluidos infectados.
- Habrá que utilizar guantes de un solo uso en todos los trabajos que entrañen un contacto accidental directo con sangre, material infeccioso o animales infectados. Los guantes se deben quitar asépticamente, depositar en el contenedor de desechos biológicos y esterilizar en autoclave con los demás desechos del laboratorio antes de proceder a su eliminación.
- Desinfectar los equipos y contenedores infectados con sangre u otro agente potencialmente peligroso con hipoclorito sódico u otro agente descontaminador (ver tabla IV).
- Mantener los animales utilizados en experimentos separados de los demás.
- Prestar atención a los viales con material liofilizado, los contenedores deben estar bajo presión negativa, pues una entrada violenta de aire en el vial puede generar un aerosol. Los viales conteniendo material infeccioso nunca deben introducirse en nitrógeno líquido ya que pueden explotar cuando se muevan. Si necesitan una baja temperatura de almacenamiento, pueden guardarse en la fase gaseosa del nitrógeno líquido o en anhídrido carbónico (hielo seco). Las superficies externas de los viales almacenados deben desinfectarse cuando salgan de su almacenamiento.
- Llevar equipos de protección de manos y ojos cuando se retiren los viales del almacenamiento refrigerado.
- Usar cabinas de seguridad biológica cuando se trabaje con agentes infecciosos, cultivos celulares o tejidos potencialmente contaminados con agentes biológicos o cancerígenos.
- Todos los derramamientos, accidentes y exposiciones actuales o potenciales a material infeccioso, se notificarán inmediatamente al jefe de área. Habrá de llevarse un protocolo escrito de estos episodios y prever una evaluación, una vigilancia y un tratamiento médico indicado por la organización.
- Aplicar la “regla de trabajo en parejas”, nadie debe quedarse en el laboratorio trabajando solo con agentes biológicos.

Reglas higiénicas

- Llevar la ropa o equipos de protección individual antes de entrar en el laboratorio.
- En la zona de trabajo del laboratorio no se permitirá al personal comer, beber, fumar, guardar alimentos, ni aplicar cosméticos, llevar anillos o pulseras, ni ponerse lentes de contacto, tampoco se mojará con la lengua etiquetas de laboratorio
- Utilizar guantes cuando se trabaje con material patógeno o contaminado con sustancias tóxicas, cancerígenas o mutagénicas.
- No vestir ropa de laboratorio en las áreas de descanso o comida y fuera del laboratorio.
- Los miembros del personal se lavarán las manos, al menos, durante 20 seg., con jabón neutro después de haber manipulado material y animales infecciosos, cada vez que se quiten los guantes, así como antes de abandonar el laboratorio.
- La ropa de trabajo y los equipos de protección se guardarán en lugares separados de la ropa personal.
- La ropa de trabajo contaminada se lavará de forma separada de la no contaminada.

Reglas para el uso correcto de las cabinas de seguridad biológica

- Encender la lámpara UV o fluorescente, si existe, y el flujo de aire, al menos durante 15 min., antes de empezar a trabajar en la cabina.
- Ajustar el pestillo, si existe, en relación con el peso.
- Lavarse las manos con jabón neutro y llevar los guantes adecuados.
- Desinfectar las superficies interiores y colocar un contenedor de residuos de forma que no interfiera en el flujo laminar.
- Situar los objetos de forma que se cree una zona “limpia” y una zona “contaminada”.
- Siempre moverse de la zona “limpia” a la zona “contaminada” y esperar unos minutos antes de reiniciar la actividad, con el fin de estabilizar el flujo.
- Transferir los desechos a los contenedores de residuos adecuados y desinfectar la superficie interior al final de cada operación.

Reglas de control para la formación de aerosoles

- Usar centrífugas con tapaderas de bioseguridad.
- Utilizar jeringuillas y agujas retráctiles o autoprotegidas.
- Rellenar lentamente las jeringas con el fin de reducir la formación de burbujas de aire y espuma en el fluido inoculado.
- No mezclar fluidos infecciosos en una jeringa; comprobar que la aguja está dentro del fluido en el contenedor; no aplicar excesiva fuerza al elevar el émbolo y rellenar la jeringa.
- Destapar la aguja y el sistema de bloqueo con un algodón empapado en un desinfectante adecuado, antes de quitarle el capuchón a la aguja.
- Desechar el exceso de líquido y las burbujas de aire en un algodón empapado en un desinfectante adecuado o en un pequeño contenedor conteniendo algodón estéril y manteniendo la jeringa en posición vertical.

- Preparar las placas de cultivos en la cabina; durante dicha actividad pueden crearse aerosoles peligrosos, en particular cuando se manipulan agentes patógenos transmisibles por vía aérea.

Equipos de protección individual

Los equipos de protección individual (EPI) están definidos en la Directiva 89/686/CEE como “cualquier equipo destinado a ser llevado o sujetado por el trabajador para que le proteja de uno o varios riesgos que puedan amenazar su seguridad o su salud, así como cualquier complemento o accesorio destinado a tal fin”.

La selección del EPI más adecuado debe hacerse analizando las actividades a llevar a cabo, los riesgos asociados y el grado de protección necesario.

Todos los EPIs deben ponerse antes de comenzar la actividad con riesgo, para evitar la contaminación del trabajador y deben quitarse al final de cada sesión.

Es importante puntualizar, que el trabajador cuando utilice dichos equipos debe saber cómo usarlos y entender la necesidad de utilizarlos para mantener su integridad física.

Todos los EPIs deben llevar el marcado CE, así como la norma EN que los regula en un lugar visible del equipo, estará acompañado de un manual en el que se indique la forma de colocarse y los límites de protección; algunos EPIs tienen fecha de caducidad, por lo que es necesario comprobarla antes de usarlos.

Guantes

Los guantes sirven para la protección del trabajador frente a una gran variedad de peligros: sustancias químicas, altas y bajas temperaturas, microorganismos, toxinas, material radiactivo, mordeduras y arañazos de animales. Deben utilizarse los guantes adecuados para el tipo de riesgo y el nivel de protección individual según indican las normas de referencia europea.

Para riesgos biológicos se emplean guantes de látex verificados con el microorganismo de referencia phix174 y siguiendo la norma EN 374 para el control de permeabilidad a los agentes biológicos.

Es importante hacer notar que no existen guantes capaces de ofrecer una protección absoluta.

Consideraciones sobre los guantes de un solo uso para riesgos biológicos:

- Debe aparecer marcado EN 374 en aquellos guantes que se utilizan en exposición a agentes biológicos.
- No deben ser llevados durante períodos superiores a 30 minutos.
- Ser eliminados, si presentan defectos visibles.
- Siempre deben quitarse cuando se salga del lugar de trabajo o cuando se toquen objetos “limpios”.

- Nunca deben ser lavados o reutilizados.

Los guantes estériles deben utilizarse en los casos estrictamente necesarios. Recordar que el nivel de protección de los mismos disminuye por un uso prolongado, de hecho los guantes pierden sus propiedades elásticas y el efecto de sudoración de las manos favorece la permeabilidad de los mismos. Con el fin de prevenir posibles alergias, siempre que sea posible, se recomienda el uso de guantes de vinilo o nitrilo, y evitar los de látex.

Para operaciones de limpieza se recomienda usar guantes de goma gruesa o dos pares de guantes de un solo uso.

Los guantes de látex cubiertos con guantes específicos para bajas temperaturas deben ser utilizados durante la manipulación de tubos congelados en contenedores de nitrógeno líquido.

Ropa de protección

La ropa de protección (bata) protege al trabajador de la contaminación y debe ser llevada en actividades con agentes infecciosos, sangre u otros líquidos orgánicos, o material biológico. Debe colocarse siempre antes de entrar en el laboratorio y quitarse antes de salir. Debe cumplir las siguientes características:

- Ser suficientemente aireada.
- Tener la parte de atrás abierta y con puños elásticos para garantizar una adecuada protección.
- Ser de algodón para poder esterilizarla.
- Cambiarla diariamente cuando se trabaja con microorganismos peligrosos.
- Utilizar cobertores de los zapatos, gorros, máscaras y gafas de un solo uso, comprobados con phix174, cuando se realicen operaciones en el laboratorio con niveles de contención 3.

Equipos de protección individual para la cara, ojos y tracto respiratorio

Los EPI para la cara, ojos y tracto respiratorio deben:

- Limitar lo menos posible el campo de visión del usuario.
- Los sistemas ópticos de estos EPIs deben tener un nivel de neutralidad óptica compatible con la naturaleza de la actividad más o menos minuciosa y prolongada del usuario. Si es necesario, deben tener un tratamiento que evite la formación de vapor por el sudor.
- Las gafas con protección lateral o máscaras faciales deben utilizarse en las operaciones en las que se generen sprays, como por ejemplo: en la apertura de contenedores, centrifugas, operaciones de aspiración forzada, etc.
- Los EPIs para la protección de la cara y ojos deben estar marcados con la norma EN166.
- En el caso de sprays accidentales deben utilizarse los lavaojos rápidamente para eliminar el agente peligroso.

- Los filtros para las mascarillas faciales serán FFP3. Son los más idóneos para la protección frente a microorganismos, ya que retienen partículas de hasta 0.20 micras. Deben cumplir con la norma EN143.

BIBLIOGRAFÍA

- Manuale di biosicurezza in laboratorio, II Ed., Annali dell'Istituto Superiore di Sanità. Istituto Superiore di Sanità, (1995).
- CDC – NIH BioSafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. US Department of Health and Human Services Public Health Service 4th Edition. Eds. Richmond Y. and McKinney R. W. (1999).
- CDC - NIH Guidelines for research on Recombinant DNA Molecules (1976).
- CDC – NIH. Primary Containment for Biohazards: Selection, installation and Use of Biological Safety Cabinets 2nd Edition. Richmond Y. and McKinney R. W. (2000).
- Rodricks J.V. Calculated risks Cambridge University Press, Cambridge (1994).
- Richmond Y. Anthology of Biosafety. II. Facility Design Considerations. American Biological Safety Association, Richmond Y., PhD, Ed. (2000).
- Richmond Y. Anthology of Biosafety. I. Perspectives on Laboratory Design. American Biological Safety Association, Richmond Y., PhD, Ed. (1999).

PLAN DE EMERGENCIA

*Mariangela Miele, Dimitri Sossai, Silvia Franchelo, Paola Bet, Rosa Montero Simó,
Modesto Román Delgado*

En todos los laboratorios debe haber establecido un plan de emergencias que se activará en caso de accidentes e incidentes (Campi et al., 1998).

Cada laboratorio debe definir las reglas de seguridad a adoptar según sus necesidades, de esta manera se diseñará el plan de emergencia convirtiéndolo en operativo, tal y como prevé la legislación vigente. El plan de emergencia debe ser conocido por todos los empleados, debiéndose programar simulacros y cursos de entrenamiento. El plan de emergencia debe contener información sobre:

- Valoración del riesgo.
- Localización de las áreas de riesgo.
- Identificación precisa de los agentes químicos, físicos y biológicos peligrosos.
- Procedimientos de emergencia a adoptar en el caso de exposiciones accidentales o descontaminaciones.
- Identificación del personal en riesgo.
- Identificación de los responsables de las diferentes secciones.
- Números de teléfono de emergencias.
- Listas de equipos de emergencia, equipos de protección, desinfectantes y equipos de descontaminación.
- Tratamiento médico de emergencia, en el caso de contaminación o daño a las personas.
- Vigilancia médica de las personas contaminadas.

Procedimientos de emergencia en el caso de exposición accidental a agentes biológicos

En el caso de que se produzcan aerosoles potencialmente peligrosos desde una cabina de seguridad biológica, se deberán adoptar las siguientes precauciones:

- Todas las personas deben inmediatamente evacuar el área contaminada.
- El responsable del laboratorio debe ser informado inmediatamente.
- Se deben activar los procedimientos previstos por la empresa.
- Cerrar la habitación y colocar las señales de zona contaminada en la entrada. Las puertas deben bloquearse.
- No entrar en la habitación hasta una hora más tarde, para permitir que el aerosol se deposite.
- Colocarse los equipos de protección de cuerpo entero y vías respiratorias y proceder a la descontaminación bajo la supervisión del responsable de bioseguridad.
- Consultar al médico si es necesario.

En el caso de un derrame accidental de material líquido con agentes biológicos deberán adoptarse los siguientes procedimientos:

- Ponerse dos pares de guantes.
- Cubrir el derrame con tela o papel absorbente, verter un desinfectante y parar el trabajo, al menos, durante 30 minutos.
- Retirar la tela o papel y el material dañado con un recogedor y eliminarlos en el contenedor de material biológico adecuado.
- Coger los fragmentos de cristal con pinzas.
- Limpiar y desinfectar las superficies contaminadas.
- Desinfectar el material en autoclave o mantenerlo sumergido en desinfectante durante 24 horas.
- Si se contaminan documentos, deben copiarse y las hojas contaminadas verterse en el contenedor de residuos biológicos.

En el caso de rotura o sospecha de rotura de tubos conteniendo material potencialmente peligroso durante la centrifugación, se adoptarán las siguientes medidas:

- Parar la centrífuga y mantenerla cerrada al menos durante 30 minutos.
- Colocarse guantes, a ser posible de goma gruesa.
- Abrir los contenedores sellados en cabinas de bioseguridad.
- Recuperar los fragmentos de cristal o plástico con pinzas.
- Desinfectar el material: todos los tubos rotos, fragmentos de cristal, contenedores, accesorios y rotor, en autoclave o mantenerlo sumergido en desinfectante durante 24 horas. No utilizar como desinfectante una solución de hipoclorito, ya que corroe el metal.
- Limpiar el interior de la centrífuga y llenarla de desinfectante, dejando que actúe toda la noche, posteriormente retirarlo con agua y jabón.
- Tratar todo el material contaminado como residuo biológico.

En el caso de inyección, cortes o abrasiones accidentales, deberán adoptarse los siguientes procedimientos:

- Quitarse los guantes y ropa protectora.
- Lavarse las manos y parte afectada con abundante agua.
- Aplicar una crema desinfectante.
- Acudir al médico indicando la causa de la herida y el agente microbiano involucrado.

En el caso de ingestión accidental de un material potencialmente peligroso se debe:

- Quitarse los guantes y ropa protectora.
- Acudir al médico informando sobre el material ingerido.

En el caso de incidentes con agentes biológicos peligrosos transmisibles por vía aérea, además de los equipos de protección personal habituales, debe protegerse el tracto respiratorio mediante una mascarilla con filtro FFP3, la cual protege frente a aerosoles sólidos y líquidos. Cuando se utilizan máscaras faciales se deben seguir las siguientes normas:

- Sostener la máscara en la palma de mano dejando que el arnés cuelgue libre.
- Colocarse la máscara bajo la barbilla con la parte que cubre la nariz hacia fuera.
- Pasar el arnés inferior sobre la cabeza y colocarlo debajo de las orejas.
- Colocarse la máscara en la cara con una mano y colocar el otro arnés sobre la cabeza, por encima de las orejas.
- Regular los arneses mientras se mantiene la máscara en su posición.
- Ajustar la zona de la nariz a la cara, con la pinza que lleva, pasando los dedos sobre ambos lados de la máscara.

También deben considerarse las siguientes instrucciones:

- Comprobar la estanqueidad de la máscara antes de iniciar el trabajo.
- Llevar la máscara puesta todo el tiempo que duren las operaciones de exposición al contaminante.
- Eliminar la máscara o cambiar los filtros cuando aparezca sensación de ahogo o dificultad al respirar, también si la máscara ha sufrido algún daño o presenta signos de suciedad.
- Utilizar la máscara sólo cuando esté indicada.
- No utilizarla en atmósferas con escasez de oxígeno.
- Las personas con barba no satisfacen los requerimientos de estanqueidad de la máscara.
- Las máscaras pueden utilizarse durante toda la jornada de trabajo, al finalizar deben guardarse en contenedores estancos, separados de la zona contaminada.
- La máscara deberá estar identificada con el nombre de su dueño. Puede escribirse en la zona de caucho.
- Debajo del nombre se hará una marca cada vez que se utilice 30 minutos, tras 15 marcas deberá desecharse.

Todos los incidentes que ocurran deben ser registrados de forma apropiada, siguiendo las instrucciones del empresario.

Bibliografía

- Campi M. G., Bet P, Ruzzon T.,Doria Miglietta G., Sossai D. Guida al corretto utilizzo degli agenti biologici ed. EPC Libri (1998)

EMPAQUETADO DE MATERIAL BIOLÓGICO POTENCIALMENTE INFECCIOSO O DETERIORADO

Paola Bet, Sivia Franchello

La actividad conectada con el transporte y envío de material biológico, muestras de diagnóstico y sustancias infectadas justifica la preocupación de los sujetos interesados, desde investigadores hasta analistas, y de todo el personal del laboratorio que se le asigna el transporte y servicio postal.

Las organizaciones internacionales involucradas en la problemática relativa a la manipulación y transporte de material biológico y sustancias peligrosas (ONU Comité de expertos de sustancias peligrosas, WHO, IOCA, IATA, Universal Postal Union) han preparado directivas en las que por una parte se garantiza el transporte rápido de muestras biológicas y sustancias infectadas, y por otra el propósito de proteger no sólo a la población en general, sino también a sus trabajadores expuestos.

Estas organizaciones tienen un acuerdo en común para las definiciones y exigencias del empaquetado y etiquetado.

Definiciones en uso desde 1991

- Sustancias infectadas: sustancias que contienen microorganismos viables, como: bacterias, virus, rickettsias, parásitos, hongos, o híbridos recombinados u organismos genéticamente modificados, los cuales son conocidos o razonablemente sospechosos de causar enfermedades en el hombre o en animales. Las toxinas no se incluyen en este grupo.
- Muestras de diagnóstico: material humano o animal, por ejemplo: excreciones, secreciones, sangre y sus componentes, tejidos y fluidos de los tejidos, que son transportados con propósito de diagnóstico. Los animales vivos infectados no forman parte de esta categoría.
- Productos biológicos: pueden ser productos biológicos terminado, preparados para uso humano o veterinario, producidos de acuerdo a la legislación nacional competente, que viajan con permiso o licencia especial de esta autoridad, o productos biológicos terminados antes de obtener la licencia con fines de estudio o investigación. Los productos biológicos sin terminar preparados de acuerdo a los procedimientos legislados forman parte de este grupo. Los animales vivos y las vacunas para humanos se consideran productos biológicos y no sustancias infectadas.

Preparación de paquetes para el envío de agentes biológicos

Para las sustancias infectadas y material de diagnóstico probablemente infectadas, deben empaquetarse en una caja, ésta debe ser introducida dentro de otra, y por último, a su vez en otra tercera, de acuerdo con las recomendaciones de la ONU, IATA y IOCA.

Además la preparación de los paquetes debe seguir el siguiente procedimiento:

- Las sustancias infectadas y material de diagnóstico deben estar envueltos con tres capas: la primera en un recipiente hermético que contenga la muestra, la segunda en un contenedor también hermético, y relleno de material absorbente, en cantidad suficiente para retener el líquido presente en la muestra, si se produjera la rotura del primer contenedor, y una tercera envoltura resistente al agua para evitar la propagación de la muestra en el agua o en el aire.
- En la parte exterior del segundo contenedor debe existir una carta con la información del contenido; una copia de esta carta debe ser enviada al laboratorio de destino, mientras que una tercera copia debe ser entregada a la empresa de transporte. De esta forma el transportista asignado y la empresa que reciba el material podrán adoptar las medidas necesarias.
- Una etiqueta con el símbolo de riesgo biológico debe ser colocada en la parte exterior del paquete que contenga sustancias infecciosas o potencialmente infecciosas.
- En la preparación de los paquetes debe preverse la presencia de material, como nitrógeno líquido o hielo seco, debiendo seleccionarse contenedores para muy baja temperatura; además el primer y segundo contenedor deben tener una diferencia de presión de, al menos, 95 KPa.
- Si la sustancia se puede deteriorar debe ser señalado en los documentos que la acompañan.

Envío de los paquetes

Con el fin de ser eficientes, el envío de la sustancia infectada requiere una buena coordinación entre el laboratorio que la envía, el transportista y el laboratorio de destino.

Las sustancias infectadas no deben ser enviadas sin acuerdos preliminares entre las tres partes afectadas, antes de consignarlas se ha de tener la autorización de la autoridad nacional para importar sustancias legalmente y que no haya retrasos en la entrega del envío a su destino.

Para enviar muestras debe seguirse el siguiente procedimiento:

1. Firmar acuerdos con los transportistas y el consignatario para asegurar que la muestra será recibida y analizada rápidamente.
2. Preparar los documentos de envío.
3. Comprobar la ruta del envío.
4. Enviar una comunicación al receptor con toda la información del envío.

Es responsabilidad del receptor:

1. Obtener autorización de las autoridades para importar las sustancias.
2. Enviar al remitente los permisos de importación, carta de autorización u otros documentos exigidos por la autoridad nacional del país de origen de la muestra.
3. Notificar inmediatamente al remitente que la muestra ha sido recibida.

Bibliografía

- Guidelines for the Safe Transport of Infectious Substances and Diagnostic Specimens, The World Health Organisation (WHO) (1997)

ACTIVIDADES CON ANIMALES

Modesto Román Delgado, Rosa Montero Simó

El trabajo con animales implica el contacto con vertebrados a los que se les haya inoculado intencionadamente microorganismos o material sospechoso de contenerlos, durante actividades de diagnóstico e investigación, además de estudiar el proceso patológico que sufre un determinado animal para detectar al agente causal del cuadro y aplicar el tratamiento correspondiente.

El animalario constituye el local de trabajo imprescindible para cualquier ensayo o experimentación, anexo al laboratorio, pero normalmente con un personal y unas condiciones ambientales diferentes.

Los cuidadores o auxiliares deben recibir la información suficiente, así como el entrenamiento e instrucciones para el trabajo seguro con animales, debiendo contar con las medidas y niveles de contención adecuados para el grupo de agente biológico conocido o presumible.

La protección frente a infecciones persistentes o latentes en las especies animales constituye una medida obligatoria frente al riesgo biológico. Igualmente el contacto con el pelo, anejos cutáneos y excreciones de reconocida capacidad sensibilizante constituye un riesgo adicional que ha de ser tenido en cuenta durante las actividades en el animalario.

Se puede definir un animalario (estabulario o bioterio) “como el conjunto de instalaciones destinadas al mantenimiento y/o producción de animales, destinados a servir de reactivos biológicos”. Actualmente existe la tendencia a denominarlos centros de producción y/o experimentación animal.

Dada la gran diversidad de especies utilizadas en experimentación animal, los recintos y sus condiciones deben adaptarse a cada una de ellas, debiéndose diferenciar tres tipos de establecimientos, según la Decisión del Consejo 1999/575/CE de 23 de marzo de 1998 relativa al Convenio Europeo sobre protección de los animales vertebrados utilizados para experimentación y otros fines científicos (DOCE 24 de agosto de 1999), como son:

- Productores o criadores, dedicados a la producción de animales de laboratorio para su utilización en procedimientos.
- Proveedores, no crían pero desarrollan su mantenimiento para abastecer a centros de investigación.
- Usuarios o utilizadores, desarrollan la fase experimental con animales.

La relación no exhaustiva de especies animales utilizadas en experimentación abarcaría a:

- Ratón (Mus musculus)
- Rata (Rattus norvegicus)
- Cobaya (Cavia porcellus)

- Hámster dorado (Mesocricetus auratus)
- Conejo (Oryctolagus cuniculus)
- Codorniz (Coturnix coturnix)
- Cerdo (Sus escrofa familiaris), con preferencia la clase: pig mic
- Perro (Canis familiaris), especialmente la raza beagle
- Gato (Felis catus)
- Primate no humano, incluye a grupos muy variados: chimpancé, mandril o papión, rhesus, mono verde africano, mangabey, mono capuchino, mono ardilla, mono araña, mono titi, etc.

El conocimiento de las peculiaridades anatómicas, fisiológicas y necesidades del entorno, así como sus diferentes razas y las características para su utilización en los diversos modelos experimentales constituyen el instrumento de arranque para diseñar los procedimientos de investigación en el laboratorio en condiciones idóneas y con las medidas necesarias para su desarrollo.

Tanto los Técnicos como el Personal Auxiliar, deben conocer los riesgos que existen en su medio de trabajo y las pautas y normas a seguir para evitarlos, siendo éste el objetivo fundamental de la formación sanitaria y de prevención de lesiones profesionales.

La etiología de los accidentes laborales en un estabulario tiene su origen en:

- 1.- El animal, como:
 - hospedador de material biológico experimental
 - causante de agresiones
 - transmisor de zoonosis
 - fuente de alérgenos
- 2.- El entorno
- 3.- Las actividades desarrolladas
- 4.- Las condiciones del personal

Es de señalar como accidentes y procesos más frecuentes en las personas que trabajan en los animalarios, los siguientes:

- ◆ Alteraciones cutáneas y mucosas producidas por formaldehído, álcalis, tóxicos, ácidos, etc.
- ◆ Lesiones auditivas originadas por ruidos excesivos
- ◆ Mordeduras, arañazos y otros accidentes originados al intentar sujetar a los animales
- ◆ Contusiones al manejar indebidamente el material
- ◆ Procesos infecciosos o parasitarios contaminados por los animales que albergan gérmenes originarios de zoonosis, incluso en forma de infecciones inaparentes
- ◆ Estado de alergia a causa del polvo, hongos, artroparásitos, etc.

La mayoría de especies animales destinadas a la experimentación pueden ser fuente potencial de microorganismos patógenos. (*Ver Anexo I*). La continua manipulación del personal relacionado con los animales, les hace especialmente receptibles a infecciones e infestaciones con el consiguiente desarrollo de cuadros patológicos diversos. El riesgo proviene del contacto estrecho con los animales en el

manejo diario, así como de las diferentes prácticas (extracción sanguínea, cirugía, necropsias), e incluso la manipulación de cultivos celulares, este es el caso de SIV (virus de Inmunodeficiencia de Simios) o del virus de la coriomeningitis linfocitaria (LCMv) responsables de procesos meningíticos entre los que manipulan estas células infectadas.

Sobre esta base, en la actualidad se considera prioritario el control sanitario de los animales de experimentación, siendo necesario detectar precozmente cualquier agente causal de enfermedades zoonóticas. En ningún caso deben estar presentes en los laboratorios y se deben tomar todas las medidas posibles de control para evitarlas.

El control sanitario de los animales pasa por la exigencia de un certificado a los proveedores, de estar exentos los animales de enfermedades como:

- a) Ratones: Virus de la Coriomeningitis
- b) Primates no humanos: Tuberculosis, Encefalitis, Enfermedad de Malburgo, Fiebre Amarilla
- c) Cápridos, Bóvidos y Suidos: Brucelosis
- d) Perros y Gatos: certificado de vacunación de la rabia, exentos de tiñas y parásitos

La distinción entre patologías transmitidas por un animal voluntariamente inoculado con un germen determinado y las zoonosis no controladas por el experimentador plantea dificultades. La presencia de infecciones subclínicas o la detección esporádica de microorganismos impide que el riesgo biológico pueda ser bien cuantificado y que definir la prevención sea difícil. Debemos recurrir al control de las variables posibles para establecer el “nivel de bioseguridad” necesario para trabajar con reactivos biológicos, seleccionando la procedencia de los animales, realizando un exhaustivo control de su salud y aplicando las medidas preventivas más acordes con la situación más desfavorable.

Para valorar el riesgo biológico por transmisión de material patógeno desde el animal de experimentación (hospedador), se deben considerar:

- Características del agente infeccioso (virulencia, patogenicidad, estabilidad biológica,...)
- Características de la enfermedad (gravedad, disponibilidad de inmunoprofilaxis y tratamiento)
- Vías de eliminación del agente infeccioso por el animal (heces, orina, saliva, aerosoles)
- Mecanismo de transmisión (aerosoles, vectores, fómites)
- Peligros potenciales en la manipulación (jeringas, cortes, contacto, aerosoles)

Las incidencias en el manejo de los animales pueden dar lugar a incidencias que determinen agresiones con lesiones en el personal, como los arañazos y los mordiscos, pudiendo prevenirse mediante:

- Sedación de los animales, si el experimento lo permite.
- Uso de jaulas con mecanismos de inmovilización para animales grandes.

- Dominio de las técnicas de sujeción e inmovilización.
- Uso de guantes protectores adecuados a cada especie.

Por otra parte, los animales pueden constituirse para determinados trabajadores en fuentes de alérgenos (pelo, escamas,...) que desencadenan cuadros de alergia constitutivos de enfermedad profesional al darse “una respuesta inmunitaria de adaptación que se produce de una forma exagerada o inapropiada ante el contacto con un antígeno y es causa de lesiones hísticas”.

El animalario como entorno donde se desarrolla la actividad con animales, precisa de un diseño adecuado para asegurar la eficacia y la economía de su funcionamiento y, consecuentemente, de mantener el adecuado cuidado y vigilancia a los animales que en él se albergan. El diseño se basa, principalmente, en la aplicación de normas de organización y de control microbiológico y ambiental para facilitar la producción, mantenimiento y/o experimentación de animales de laboratorio “definidos” o estándar.

Cada instalación debe planificarse detalladamente con sus necesidades, según el tipo de actividad (crianza, pruebas toxicológicas, investigación biomédica), aunque todas necesitan mantener los animales en un ambiente constante, libre de agentes físicos, químicos y microbiológicos. Básicamente vamos a tener áreas de servicios, áreas de animales y zonas de intercomunicación o pasillos destinados a lograr una adecuada circulación del personal, animales, material y equipo.

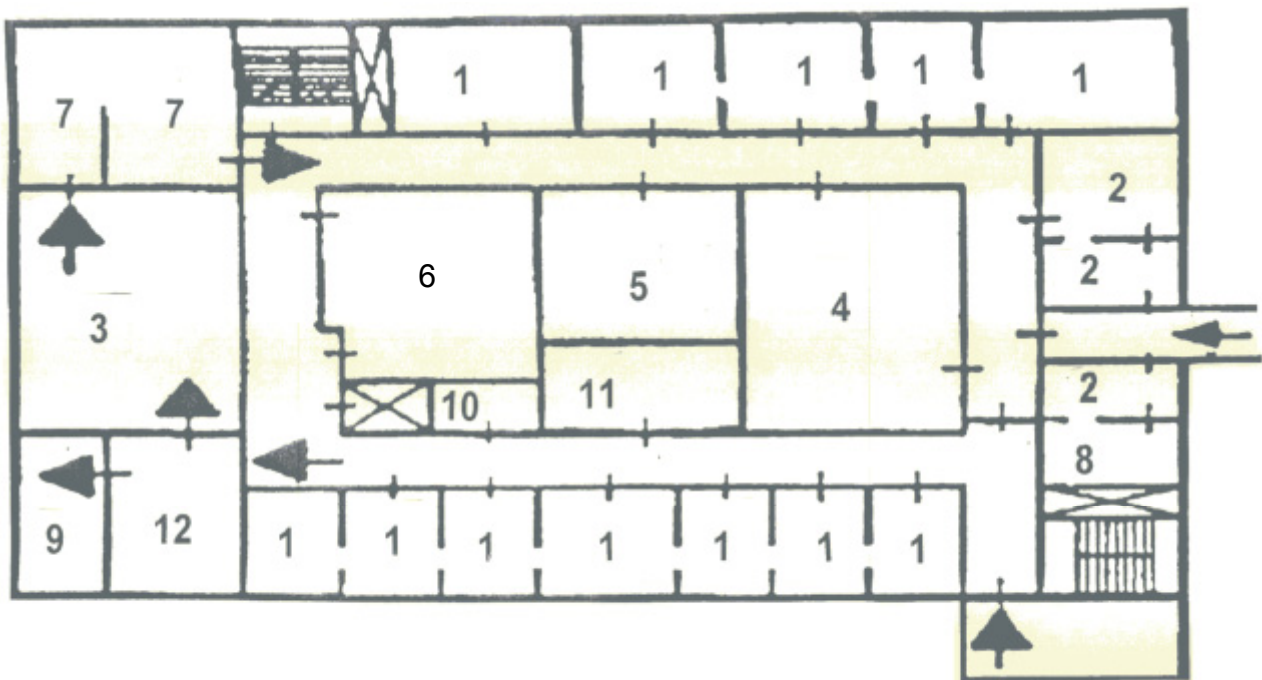
Se recomienda para cubrir las actividades normales de un centro de experimentación animal que disponga de:

- Área de animales en fase de mantenimiento y/o producción.
- Área de animales en fase de experimentación.
- Anexos para preparación de dietas, laboratorio, tratamiento, quirófano, etc.
- Áreas de recepción y/o envío de los animales, almacenes de material (alimentos, lechos, etc.) y equipos.
- Área de servicios para limpieza de jaulas y equipos, instalaciones de aseo para el personal, depósito de desechos, etc.
- Locales para administración, biblioteca, estar del personal, sala informática.
- Área de equipos de grandes dimensiones: climatización, generadores de corriente, arcones frigoríficos, crematorio.

Varios factores como la salud pública, la comodidad del personal, el cuidado de los animales y las normas de control ambiental, obligan a separar la zona de producción de las del personal. En este tipo de instalaciones se deben conjugar unas adecuadas condiciones de mantenimiento general y alojamiento de los animales (cierto grado de libertad de movimiento, alimentos, agua y cuidados, con las mínimas restricciones para sus necesidades fisiológicas, etc.) y los procedimientos a desarrollar durante la investigación, en los que se garantice la consecución final de los objetivos establecidos aplicando criterios éticos, para evitar o minimizar en los animales infligir dolor, sufrimiento, angustia o lesiones permanente sin necesidad. Además se deben aplicar criterios de organización estructural, recursos técnicos y formación del personal que faciliten su actividad dentro del establecimiento y la experimentación en marcha.

Existen múltiples formas de distribución de las áreas según las necesidades de proximidad al laboratorio y la estructura del edificio pudiendo estar el animalario centralizado en una planta o varias alrededor del ascensor de uso exclusivo; también pueden constituirse múltiples unidades autónomas con los servicios mínimos o instalaciones satélites que dependan en diferentes grados de una central, con los habitáculos para los animales dispersados por el edificio.

Figura 1. Plano de distribución del Animalario.



1. Box con animales.
2. Área de administración.
3. Área de lavado de jaulas y camas, con equipo de lavado automático.
4. Laboratorios.
5. Habitación para el examen y cuidado de los animales.
6. Habitación para la preparación de las comidas de los animales.
7. Almacén de material.
8. Área de Recepción.
9. Almacén de residuos y cadáveres.
10. Habitación de máquinas.
11. Área de trabajo y descanso del personal.
12. Almacén de útiles de limpieza.

Con independencia de estos modelos constructivos, las dependencias de un animalario para proporcionar unas buenas condiciones de trabajo del personal y de

alojamiento a los animales deben cubrir esta memoria descriptiva de materiales y elementos constructivos:

- Superficies interiores deben ser resistentes y sobre todo de fácil limpieza.
- El suelo ideal deberá ser preferentemente monolítico, resistente a las manchas y productos químicos, antideslizante incluso mojado, aunque relativamente liso, y que no requiera productos sellantes o ceras para mantener un aspecto aceptable.
- Las paredes deben tener bordes o barandillas protectoras, resistentes al choque con aparatos móviles; deberán ser lisas y resistentes a productos de limpieza, al frotado con cepillo, a los productos desinfectantes, y al impacto del agua a presión. Todas las perforaciones de las paredes deben estar selladas, al igual que las juntas con techo y suelo formando una curvatura de 15 cm.
- Los techos, deben tener iguales características que la pared. Los falsos techos con placas acopladas no son satisfactorios ya que no se limpia con facilidad y proporciona cobijo a roedores e insectos. Tampoco son convenientes las tuberías y accesorios expuestos, deben ser registrables para limpiar y desinfectar por nebulización.
Salvo requerimientos especiales, la altura no debe ser mayor de 2,70 m.
- Las puertas deben abrir hacia las dependencias, excepto si hubiera un vestíbulo. En la zona de alojamiento de los animales, no deben medir menos de 1,10 m. de ancho por 2.15 m. de alto y debe cerrar de forma hermética para evitar la entrada de insectos y roedores salvajes. Son preferibles las puertas de metal o las recubiertas de metal y se acoplarán tiras protectoras en la parte inferior y los bordes; las bisagras estarán empotradas y se equiparán con un aparato autocierre; es conveniente incorporar una mirilla pequeña para controlar el estado de la celda sin necesidad de entrar.
En el almacén, las puertas deben tener suficiente anchura para que pase un palet de transporte, recomendándose puertas automáticas anchas (1,80 m.) en zonas de tránsito frecuente (limpieza de jaulas, recepción y envío). Por razones de seguridad contra incendios, las puertas deben cerrarse automáticamente cuando se active la alarma.
- Los pasillos para facilitar el tránsito deben tener, por lo menos, 2.10 m., estar libres de objetos, debiendo protegerlo con zócalos, barandillas o parachoques y las placas de acero u otro material resistente.
- Los ascensores deben dedicarse exclusivamente a este fin, es recomendable tener, uno para jaulas sucias, y otro para limpias o suministros; con tamaño suficiente para 3-5 alturas de jaulas.
- Instalación eléctrica: cada celda o habitación dispondrá de una o más tomas de corriente, con potencia suficiente para los aparatos de limpieza y mantenimiento (> 2000 w). El área de servicios debe existir un cuadro general y preparar la red para poder conectar todo el equipamiento. Se debe disponer de un grupo electrógeno que garantice el suministro de aires, en caso de corte de fluido eléctrico.
Los portalámparas, tubos fluorescentes, etc., estarán perfectamente sellados, o bien dispuestos al menos a 10 cm. Del techo para ser registrables.
Es necesario un sistema automático de iluminación para controlar el ritmo circadiano independiente en cada habitación.

- Fontanería y desagües: En las áreas en las que se utilicen mangueras para la limpieza y desinfección rutinaria, los suelos deben tener una inclinación mínima de 0,64cm/m y en las zonas dedicadas a perros de 0,64 cm/0,3 m. Los desagües del suelo de los habitáculos no deben tener menos de 10,2 cm de diámetro: En las salas de uso frecuente, tales como la sala de limpieza de jaulas y los habitáculos de perros, se recomiendan desagües de unos 15,3 cm, que estén al ras del suelo.
Los desagües que se vayan a usar intermitentemente deben llevar tapones e ir sellados para impedir el retorno de gases de los desperdicios.
- Los sistemas de comunicación entre las diferentes dependencias, como el teléfono o la megafonía, por su volumen y tono no debe molestar a los animales.
- Seguridad. El gran valor de los animales de experimentación y los ataques de vandalismo requieren medidas de seguridad, según la distribución del animalario y su relación con las demás áreas.
La instalación debe estar aislada de modo que todos los accesos puedan cerrarse de forma automática a las horas que resulten propicias, limitándose el acceso a personal autorizado por cualquiera de los sistemas de acceso identificativo. También se recomienda la instalación de cerraduras en dependencias individuales para limitar el acceso a celdas relacionadas con la investigación, animales en cuarentena o cría.
- Control de roedores e insectos sin tener que usar agentes químicos, ya que estos productos constituyen un elemento inaceptable en el entorno del animalario, ya que muchos insecticidas son potentes inductores enzimáticos alterando la investigación.
El método de control más efectivo es el de sellar cualquier lugar por el que puedan entrar insectos o roedores salvajes (grietas, juntas, entradas de instalaciones) y eliminar escondrijos o nidos del interior (en el interior de las celdas sólo deben estar los racks de animales).

Además de las características constructivas y los materiales utilizados en el animalario, éste debe reunir unas condiciones ambientales que satisfagan las necesidades de los animales y proporcionen unas adecuadas exigencias físicas, operativas y de funcionamiento asumibles por el personal, que le permitan desarrollar su actividad dentro de unos parámetros correctos para preservar su salud, aunque sea necesario dotarse de un equipamiento individual u organizar las tareas de forma equilibrada y adaptada a los conocimientos y las aptitudes de los cuidadores. Conviene relacionar los principales aspectos a cumplir por los locales de alojamiento en cuanto a sus parámetros ambientales, como son:

- Ventilación a partir de un sistema de suministro de aire fresco y que mantenga bajo el nivel de olores, gases nocivos, polvo y agentes biológicos; permitiendo un control del calor y la humedad.
En condiciones normales, se deben hacer de 15 a 20 renovaciones de aire por hora, aunque cuando la densidad de ocupación sea baja, se podrán realizar 10 renovaciones por ventilación mecánica. Se aconseja evitar la introducción de aire no tratado y evitar las corrientes de aire.
No debe fumarse en los locales destinados al alojamiento de animales, desarrollándose una limpieza frecuente de los habitáculos para evitar olores y el correcto tratamiento del aire recirculado.

- La temperatura se debe mantener en unos rangos adecuados a las especies animales en experimentación, lo más frecuente es de 20 a 24 °C, aunque en animales jóvenes y recién nacidos debe ser algo mayor. Conejos, gatos, perros y cerdos pueden soportar adecuadamente temperaturas superiores a los 10-15 °C. El sistema de ventilación debe contar con termostato automático que permita regular la temperatura, tanto por calentamiento, como por enfriamiento del aire suministrado, cubriendo los cambios de regulación térmica que puedan sufrir los animales durante la investigación, sin provocar alteraciones en el metabolismo por este factor ambiental.
- Humedad, es una característica que puede afectar desfavorablemente a la salud y al bienestar de los animales; se recomienda que el nivel de humedad relativa esté comprendido entre el 40 y el 70 %.
- Iluminación. Es preferible que los locales carezcan de ventanas y se disponga de un sistema de iluminación artificial que permite controlar su intensidad y el ciclo de luz-oscuridad adecuado al hábito natural de la especie. También debe proporcionar un nivel de iluminación satisfactorio para el ambiente de trabajo.
- Ruido, puede constituir una fuente de molestias para los animales. Es recomendable que los locales de alojamiento y de experimentación estén aislados acústicamente para evitar ruidos fuertes de frecuencias audibles y más altas que causen trastornos de la conducta y la fisiología de los animales. Es preferible mantener un sonido continuo de intensidad moderada, como la música suave, que solapen ruidos súbitos.

La actuación del personal técnico y cuidadores necesita de un adiestramiento correcto para impedir la aparición de incidencias derivada de una mala praxis, para ello se debe desarrollar una formación adecuada sobre las tareas a desarrollar más frecuentemente en el animalario, para complementar la aptitud física y la predisposición positiva hacia los animales. Labores cotidianas como: manejo, marcaje e identificación de animales; aplicación de cuidados (alimentación, limpieza, renovación de camas,...) junto al desarrollo de las técnicas de procedimiento experimental, pueden constituirse como origen de lesiones profesionales surgidas de la interacción con los animales.

Algunas recomendaciones para prevenir accidentes durante el manejo y marcaje de animales serían:

- Adquirir habilidad en la manipulación de los animales, a partir de una amplia información sobre cada especie de la bibliografía, cursos o de trabajadores con experiencia.
- Evitar tener miedo o ansiedad en la manipulación del animal, puesto que es muy difícil trabajar en estas condiciones.
- Manejar todos los animales de forma segura, firme y suave.
- Una deficiente manipulación causa daños físicos al animal y le produce estrés, todo lo cual es indeseable para la investigación.
- No someter al animal a ningún procedimiento hasta que esté perfectamente relajado, sujetado y/o inmovilizado.
- Para manipular el ratón de laboratorio es preciso ponerse guantes de látex, evitar movimientos bruscos o ruidos inesperados, se le coge firmemente por la cola, debiendo estar el menor tiempo posible suspendido, trasladándolo sobre la palma de la mano o la rejilla de la jaula, para inmovilizarlo se le toma por la piel del cuello con el dedo índice y pulgar de forma expeditiva,

para evitar que pueda volverse y morder; para volverlo a la jaula, no dejarlo caer ya que puede provocarse lesión de columna, sino que se debe dejar suavemente sobre la cama.

- Para manejar las cepas de rata, se usan guantes de látex, introduciendo la mano dentro de la caja para ver los movimientos del animal y su carácter; hay que evitar cogerla de frente, tapándole la cabeza. Para traslados cortos se puede coger por la base de la cola, salvo cuando son de un peso superior a 450 gr. porque se corre el riesgo de producirse una rotura circular de la piel de la cola. Esta manipulación sólo debe hacerse para cambios de jaula, pesar en la balanza, sexar o cualquier manipulación rápida. Es recomendable coger la rata firmemente alrededor de los hombros y de la piel de la espalda para su posterior inmovilización, sin impedir la adecuada respiración, antes de cualquier procedimiento de inyección, administración oral, marcaje, etc. No pasar el animal de un manipulador a otro, ya que puede saltar.
- El conejo también debe manipularse con guantes, no suele morder al cuidador con sus incisivos, pero se debe tener especial cuidado con sus patas que pueden causar graves arañazos; para sacarlo de su jaula se coge firmemente por la piel del cuello y del dorso de una mano, mientras se apoya la barriga y las dos patas traseras con la otra dejando el dedo índice entre ambas; nunca debe cogerse por las orejas. Si es preciso mantenerlo cogido durante algún tiempo, colocar la cabeza del animal bajo el brazo.
- Para inmovilizaciones intensas se pueden aplicar retenedores comerciales o sistemas de sujeción donde se deja libre el abdomen y la cabeza para extracción de muestras de sangre, inyección intravenosa o inoculaciones subcutáneas.
- Los métodos de marcaje deben ser selectivos, de aplicación rápida e indolora, siendo necesario el uso de alguna técnica anestésica. Los animales sometidos a un protocolo experimental deben diferenciarse de forma precisa. La identificación se lleva a partir de registros en los que consten datos como la especie, la cepa, los progenitores, etc.

Existen diferentes métodos válidos como:

- Tarjetas identificativas colectivas en el frontal de las jaulas.
- Marcas naturales o caracteres fenotípicos fácilmente detectables anotados en los registros informativos, sólo precisa observación.
- Colorantes o tinturas temporales, como el ácido pícrico sobresaturado, violeta de metilo o de genciana, la fucsina, etc.; el marcado con colorantes sobre el pelo se puede utilizar en procedimientos de corta duración y fijando con anterioridad un código.
- Perforaciones y muescas en las orejas para identificar individualmente los animales, mediante tenazas especiales, anotando los códigos en su registro. No se recomienda el uso de la técnica de amputación de las falanges.
- Pendientes o aretes, se coloca al animal una placa plástica o metálica con su número o letras identificativas; no se recomienda en roedores.
- Tatuajes en zonas de piel no pigmentada (oreja o cola) mediante lápices eléctricos o pinzas marcadoras.
- Microchips implantables colocados subcutáneamente mediante jeringa, son de material biocompatible, mediante un lector especial se puede identificar el animal.

La aplicación de cuidados básicos de los animales como la alimentación, limpieza de jaulas o cercados y la eliminación de desechos constituyen tareas donde los cuidadores pueden sufrir accidentes o trastornos de su salud derivado de los productos utilizados y la contaminación procedente de los animales en estudio, por lo que conviene hacer referencias sobre estos procedimientos rutinarios en la actividad de un animalario:

- La producción y preparación de dietas se debe realizar con cuidado para evitar la formación de aerosoles en el ambiente; es oportuno envasar los alimentos en sacos cerrados de hasta 25 Kg.
- Se recomienda limpiar de forma regular y, en su caso, esterilizar los comederos, bebederos, biberones y demás utensilios, especialmente si se utilizan alimentos húmedos o que se contaminen fácilmente con agua, orina, heces, etc., entonces su limpieza debe ser diaria.
- Los sistemas de limpieza de cubetas y jaulas se podrán desarrollar manualmente por remojo (inmersión o manguera), lavado con detergente y cepillo, aspiración, aspersión con desinfectante y aclarado, debiendo el cuidador usar las prendas de protección personal frente a las condiciones de humedad y exposición a productos químicos (hipoclorito, fenol, amoníaco, formaldehído,...) frente a los que hay que seguir estas normas básicas:
 1. Leer las recomendaciones de uso que figuran en la etiqueta del envase.
 2. Manejar en vitrina extractora los productos volátiles.
 3. Usar guantes desechables, gafas o caretas cuando se trabaja con productos corrosivos.
 4. Tener especial precaución las personas que usen lentillas.
- La aplicación de sistemas de lavado automático mediante trenes completos, facilita esta labor disminuyendo la carga de trabajo.
- La esterilización por autoclave o sustancias químicas resulta imprescindible para acondicionar las jaulas y los accesorios a las condiciones de asepsia que el experimento requiere, siendo cada día un equipamiento más extendido y que requiere criterios técnicos adecuados para conseguir eficazmente su fin, así como recomendaciones al personal sobre las incidencias derivadas de su utilización (quemaduras, intoxicaciones, afectaciones mucocutáneas, etc.).
- Las camas de las jaulas y habitáculos se debe renovar dependiendo de la especie, densidad de animales, tipo de material y su calidad (viruta, serrín, mazorca de maíz, sepiolita), se recomienda su aspiración al presentar deyecciones y proliferación de microorganismos en su interior húmedo, con lo que se evita la dispersión de partículas en el local y su inhalación por personas y animales.
- La eliminación de desechos plantea problemas importantes, formando los cadáveres de animales parte de estos residuos. El ideal sería que el animalario-laboratorio contase con incineradora, si no es así, se deberá contar con un local especial para depositar los cadáveres en congeladores y los residuos en recipientes herméticos de donde se retirarán por empresas especializadas en su destrucción.

La formación específica del personal debe hacer hincapié en los hábitos a desarrollar y las técnicas a aplicar durante su jornada laboral proporcionando las

mejores condiciones para los animales, el mantenimiento de la instalación, el seguimiento de la investigación y la actuación del personal técnico.

La cualificación y acreditación de las personas que trabajan con animales de laboratorio se ha establecido por Resolución del Consejo de Europa del 3 de diciembre de 1993; en base a la categoría, requerimientos de formación previos y la formación específica requerida, dividiendo a este personal según su educación y entrenamiento con animales en cuatro grupos:

- Categoría A: Personas encargadas del cuidado de los animales.
- Categoría B: Personas que llevan a cabo los procedimientos.
- Categoría C: Personas responsables de la dirección y el diseño de los procedimientos.
- Categoría D: Especialistas en ciencias del animal de laboratorio.

Estas categorías se definen desde el punto de vista de las tareas a realizar con el reactivo biológico, desarrollándose la formación específica acorde con las exigencias de la legislación que le capacite para cumplir las funciones encomendadas dentro de la organización de un animalario.

No obstante resulta común para todas ellas la asunción de nociones básicas de educación sanitaria para aplicar en su ámbito de actividad, como son:

- ◆ Información de los peligros potenciales que conllevan las zoonosis.
- ◆ Información de los riesgos que supone una deficiente utilización de materiales, equipos y productos químicos.
- ◆ Adiestramiento en la manipulación de animales.
- ◆ Higiene personal:
 1. Ducha diaria después de terminar la jornada laboral.
 2. Lavado de ropa diario.
 3. Lavado frecuente de manos.
 4. Evitar las heridas y proteger las existentes.
- ◆ Ropa de trabajo:
 1. Debe ser de tejidos lavables y resistentes a la temperatura.
 2. Calzado cómodo y preferiblemente lavable.
 3. Uso de guantes desechables y mascarillas durante la limpieza de lechos de jaulas y bandejas, y operaciones que puedan crear aerosoles.
- ◆ No comer, ni beber en el recinto del animalario o bien destinar una habitación aislada del resto de las dependencias.
- ◆ No tocarse cara o nariz durante el trabajo con las manos.
- ◆ Adquirir nociones sobre la utilización del botiquín de primeros auxilios, situado en un lugar de fácil acceso y bien señalizado, que deberá contener: jabón, suero fisiológico, agujas y jeringas estériles, agua oxigenada, solución yodada, algodón, esparadrapo, vendas y gasas estériles, analgésicos, crema para quemaduras, tijeras, pinzas y bisturí.
- ◆ Tratamiento básico de las heridas:
 1. Lavar con agua a chorro fuerte, si está sucia emplear jabón.

2. Irrigar con suero fisiológico y con las pinzas, tijeras o bisturí eliminar cuerpos extraños.
3. Aplicar antiséptico.
4. Proteger adecuadamente.

La valoración del riesgo profesional en una unidad de experimentación animal debe considerarse la aptitud psicofísica del trabajador mediante la correspondiente vigilancia de su salud realizada por un Médico del Trabajo para:

- Detectar los individuos sensibles al riesgo biológico: inmunodeprimidos, embarazadas, con patologías susceptibles de favorecer una contaminación (lesiones cutáneas, p.e.) o desarrollar una infección. También los alérgicos a productos animales, como los asmáticos o con rinitis nasal.
- Proteger los animales de los gérmenes de origen animal, descartar sujetos con micosis, los portadores de salmonelas o de amebas, los tuberculosos, etc., para no introducir ninguna zoonosis en el animalario.
- Determinar la aptitud psicológica de los trabajadores que están en contacto con los animales como perros, gatos y primates, ya que un sujeto con temor, comportamiento nervioso o agresividad hacia los animales tiene mayor riesgo de sufrir accidentes. Se debe evaluar el componente afectivo hacia los animales, ya que una elevada sensibilidad resultará un obstáculo para algunas tareas.
- Comprobar anualmente que no ha sido contagiado por ninguna zoonosis procedente de los animales con los que se trabaja.

En la práctica, el examen de salud para la determinación de la aptitud debe abarcar, como mínimo:

- Conocer los antecedentes del sujeto y si toma tratamiento (corticoides, etc.).
- Exploración somática completa, en particular cutánea para detectar micosis.
- Una evaluación psicológica del sujeto referida a su puesto de trabajo.
- Análisis biológicos básico: hemograma -recuento y fórmula-, bioquímica – función renal y hepática-, orina.
- Serología y coprocultivo de salmonella, shigella, ameba, brucella y otros parásitos.
- Radiografía pulmonar y espirometría.

Además de las vacunaciones recomendadas para la población general (difteria-tétanos-polio), para el personal de animalarios se deben complementar con otros tipos según los animales manipulados:

- La BCG parece justificada con las especies que sean portadoras.
- La vacunación antirrábica es indispensable para los sujetos que manipulan animales salvajes o perros y gatos de procedencia indeterminada.
- La vacunación reciente frente a hepatitis A es útil trabajando con simios.
- La vacunación antitifoidea está en discusión, prefiriéndose la TAB que protege contra la salmonella typhi.
- La vacunación antibrucelósica debe aplicarse al trabajar con rumiantes o cerdos.

- La vacunación antileptopirosis hemorrágica es interesante para los sujetos que cuidan roedores y también perros, gatos y rumiantes.
- La vacunación antivariólica podría ser beneficiosa para los que trabajan con monos africanos, al proteger contra el monkeypox virus.

Conviene incrementar la información del personal sobre la conducta a seguir en casos de mordedura, arañazo u otros accidentes provocados por animales durante los procedimientos de experimentación o cuidados, que básicamente debe trasladar conductas de atención inmediata de las heridas como:

- ❖ Hacer un lavado inmediato de la zona con agua y jabón, aplicando un desinfectante de la piel (producto yodado, derivado mercurial, etc.).
- ❖ Apreciar la importancia de la herida y sus consecuencias mecánicas a fin de valorar la necesidad de intervención quirúrgica urgente.
- ❖ Declarar el accidente al responsable del área, para llevar el registro adecuado de las incidencias surgidas.
- ❖ El seguimiento médico vendrá en función de los riesgos potenciales según el tipo de animal y su procedencia; se verificará el calendario vacunal, no siendo necesario el tratamiento con antibióticos, salvo en heridas muy anfractuadas o revisadas tardíamente. La presencia de supuración o eritema con vesículas alrededor o cerca de la herida, la existencia de adenopatías, edema o linfangitis, así como la aparición de fiebre o septicemia son signos particularmente importantes y hacen precisa una intervención médica activa.
- ❖ Informar al veterinario del accidente, para que pueda controlar la evolución del animal y realice serología del mismo.

De una manera general, es indispensable establecer protocolos de actuación en caso de accidentes con posible fuente de contaminación y revisar los principales cuadros patológicos según el animal, su procedencia, estado de salud o inclusión en una investigación determinada. Conviene concertar los servicios competentes para realizar serologías de los trabajadores y los animales sospechosos o causantes de heridas.

El riesgo infeccioso ligado a la manipulación de animales de laboratorio presenta unas características particulares, que le diferencian del riesgo físico y químico, al tratarse a menudo de un riesgo potencial, ya que la contaminación de un animal dado no puede conocerse si no se investiga específicamente, siendo muchos los agentes biológicos que no provocan signos o patologías en los animales. Las condiciones de transmisión de un germen infeccioso son poco o mal conocidas; no existe relación dosis-efecto, prevaleciendo la ley del todo o nada (un individuo está contaminado o no lo está). Las formas de expresión clínica de una patología infecciosa no son previsibles, dependen de cada individuo. Por último, estos agentes, especialmente los virus, son susceptibles de mutar, cambiando su especificidad y su patogenicidad.

No obstante, se puede racionalizar la actuación con animales de laboratorio durante su manipulación y la aplicación de procedimientos introduciendo criterios de bioseguridad y protección de la salud de los trabajadores expuestos.

Las medidas preventivas aplicables ante la exposición a agentes biológicos, representan las pautas generales de seguridad, estructuradas en diferentes niveles de contención, y las precauciones específicas según el tipo de operación a desarrollar.

Debiendo abarcar, al menos, en locales para trabajos con animales, los siguientes aspectos:

1) Diseño de las instalaciones

- El acceso al animalario debería poder restringirse y rotularse con la señalización específica.
- Superficies lisas, impermeables y fáciles de limpiar. Resistentes a disolventes, detergentes y desinfectantes.
- Con buena ventilación. Si es de tipo mecánico, el aire debería ser enviado a la atmósfera, manteniendo un flujo de aire interno, regular y continuo, sin turbulencias.
- Con medidas para el control de vectores (p.e. insectos y roedores).
- Las trampillas de los desagües en el suelo deben contener agua y ser regularmente limpiadas y desinfectadas.
- Separación de zonas contaminadas, de aislamiento, de residuos, con respecto a zonas limpias, de descanso o administrativas.

2) Procedimientos operativos

- Minimizar la producción de aerosoles.
- Disponer de procedimientos especificados de desinfección.
- Descontaminar todo el material de desecho antes de su eliminación.
- Usar autoclave para el material contaminado u horno incinerador para eliminar animales muertos.
- Tratamiento adecuado de las jaulas antes de su reutilización (fumigación, tratamiento con calor).
- Recoger por el responsable las comunicaciones de los accidentes o incidentes, incluidos mordeduras y arañazos.

3) Higiene personal y protección individual

- Utilizar ropa de trabajo y calzado adecuados en el animalario, cambiándose al salir del mismo.
- No fumar, beber, comer, mascar chicle, aplicarse cosméticos.
- Después de cada contacto las manos deben desinfectarse con jabón bactericida, en la pila o lavabo del animalario.
- En trabajos húmedos utilizar zapatos de caucho y delantal impermeable.
- El equipo de protección personal debe ser almacenado en un lugar específico, limpiado a intervalos regulares y reemplazado antes de usarlo.
- Al finalizar la jornada o antes de las comidas, lavarse concienzudamente y cambiarse de ropa.

4) Programas médicos

- Reconocimientos preventivos para comprobar el estado de salud, detectar a las personas susceptibles a agentes alergizantes y valorar la resistencia natural.
- Administrar las vacunaciones reglamentarias, así como la inmunización pasiva tras accidentes y quimioprofilaxis específica.

5) Formación del personal

- Informar a los trabajadores sobre los riesgos y promover hábitos de comportamiento positivos.
- Elaborar un plan de seguridad que abarque las incidencias más frecuentes y la forma de actuación.

Bibliografía

1. HOSPITAL GENERAL DE VALENCIA, Animales de laboratorio más utilizados. Características fundamentales, *Research in Surgery*, sup.1, 1989, 3-19.
2. HOSPITAL GENERAL DE VALENCIA, Líneas directrices relativas al alojamiento y a los cuidados de animales, *Research in Surgery*, sup.1, 1989, 25-36.
3. Manual de Bioseguridad en el Laboratorio, 2ª Edición, O.M.S., Ginebra, 1994, 149 p.
4. MARTÍ, M.C. et al., Prevención de Riesgos Biológicos en el Laboratorio, I.N.S.H.T., 1997, 169 p.
5. BLANCHIN, N., ABADÍA, G., LEPRINCE, A., Risques infectieux liés à la matenance et à la manipulation des animaux de laboratoire pour le personnel travaillant dans les animaleries, *Documents pour le medicine du travail, INRS*, 53, 1998, 3-23.
6. COSTELA, C., Manejo, marcaje e identificación de animales, *II Curso de formación avanzada en protección y experimentación animal*, Córdoba, 2000.
7. LUQUE, I., Los roedores en experimentación animal: enfermedades infecciosas y zoonosis transmisibles, *II Curso de formación avanzada en protección y experimentación animal*, Córdoba, 2000.
8. MARTÍN, J., Unidades de producción y/o experimentación. Construcción-distribución de locales y áreas funcionales. Tipo de establecimientos., *II Curso de formación avanzada en protección y experimentación animal*, Córdoba, 2000.
9. TARRADAS, C. et al., Zoonosis transmitidas por animales de experimentación. I parte, *Información Veterinaria*, 7, 2000, 39-47.
10. BRUN, A., MONTERO, R., PÉREZ, J.A., ROMÁN, M., Manual de Higiene del Trabajo para Técnicos en Prevención de Riesgos Laborales, IDEOR, Córdoba, 2001, 308 p.
11. <http://www.uco.es/organiza/servicios/apoyo/experimentacion/>

ANEXO I: Tablas con principales zoonosis transmitidas por animales de experimentación

TABLA 1.- Principales zoonosis transmitidas por primates no humanos

ENFERMEDAD	ETIOLOGÍA	RESERVORIO PRINCIPAL	TRANSMISIÓN HOMBRE
SHIGELOSIS	Shigella dysenteriae (3) T.	Primates no humanos / Hombre	Contacto con material infectado (feco-oral)
MELIOIDOSIS	Pseudomona pseudomallei (3)	Primates / Roedores / Ovejas / Cabras Aguas superficiales y suelo arcilloso	Contaminación de heridas con tierra o agua
TÉTANOS	Clostridium tetani (2) T. V.	Primates / Equidos / Suelo	Heridas
TUBERCULOSIS	Mycobacterium bovis (3) V M. Tuberculosis (3) V.	Monos y otros primates no humanos Perro / Gato y otros animales domésticos	Ingestión / Inhalación Contacto con animales infectados
HERPES SIMIO	Herpesvirus simiae (virus B) (3)	Mono Rhesus	Mordeduras / Abrasion / Heridas
HEPATITIS INFECCIOSA	Virus Hepatitis A (2) V.	Chimpancés	Exposición por contacto
FIEBRE HEMORRÁGICA	Virus Ébola (4)	Primates no humanos	Transmisión Yatrogénica
ENFERMEDAD MONO VERDE	Virus Marburg (4)	Mono Verde Africano (Cercopithecus aethiops)	Contacto con tejidos infectados
CORIOMENINGITIS LINFOCITARIA	Arenaviridae (3)	Monos / Perros / Ratones / Cobayas	Mordedura / Excreciones y secreciones del hospedador
VIRUELA SIMIA	Poxviridae (3) V.	Primates no humanos	Contacto estrecho con animales
FIEBRE AMARILLA	Flaviviridae grupo B (3) V.	Monos	Mosquitos Aedes, Haemogogus
TIÑA	Dermatofitos (2)	Primates / Perro / Gato / Roedores	Contacto con animales infectados

(nº) = Clasificación del agente biológico según la Directiva 2000/54/CE.

T = Producción de toxinas.

V = Vacuna eficaz disponible.

TABLA 2.- Principales zoonosis transmitidas por roedores, conejos y cobayas

ENFERMEDAD	ETIOLOGÍA	RESERVORIO PRINCIPAL	TRANSMISIÓN HOMBRE
PESTE DE LA RATA, SEUDOTUBERCULOSIS O RODENTIOSIS	Yersinia pseudotuberculosis (2)	Ratas / Ratones / Cobayas	Pulgas (Xenopsylla cheopis)
TULAREMIA	Francisella tularensis (3)	Ratas / Ratones / Conejos	Contacto / Garrapatas
MELIOIDOSIS	Pseudomona Pseudomallei (3)	Ratas / Ratones / Cobayas / Conejos	Contaminación de heridas con tierra o agua
FIEBRE POR MORDEDURA DE RATAS	Spirillum minus, Actinobacillus moniliformis (2)	Ratas	Contacto
LEPTOSPIROSIS	Leptospira interrogans (2)	Ratas	Orina
CAMPILOBACTERIOSIS	Campylobacter jejuni (2)	Cobayas / Conejos	Heces
DERMATOFITOSIS	Dermetothyton, Microsporum Trchophyton (2) A.	Ratas / Ratones / Cobayas / Conejos	Contacto / Aerógena
CORIOMENINGITIS LINFOCITARIA	Arenaviridae (3)	Ratones / Ratas / Cobayas	Mordedura / Excreciones y secreciones del hospedador
FIEBRE DE LASSA	Arenaviridae (4)	Ratones	Excreciones y secreciones del hospedador
HANTAVIROSIS	Hantavirus (2)	Ratones	Aerosoles / Mordedura

(nº) = Clasificación del agente biológico según la Directiva 2000/54/CE.

A = Posibles efectos alérgicos.

TABLA 3.- Principales zoonosis específicas transmitidas por cerdos.

ENFERMEDAD	ETIOLOGÍA	RESERVORIO PRINCIPAL	TRANSMISIÓN HOMBRE
ESTREPTOCOCIA	<i>Stertococcus suis</i> (2)	Cerdos	Manipulación de animales / abrasiones en la piel
ERISPELOIDE	<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> (2)	Cerdos / Aves / Peces / Mamíferos marinos	Infección de heridas / manipulación de animales
FIEBRE AFTOSA	Picornavirus (2)	Cerdos / Rumiantes	Contacto con animales infectados
ENFERMEDAD AUJESZKY	Herpevirus (3)	Cerdos / Rumiantes / Carnívoros	Contacto con animales o material infectado
ENCEFALITIS B JAPONESA	Flavivirus (3) V.	Cerdos / Aves silvestres	Picadura de mosquitos

(nº) = Clasificación del agente biológico según la Directiva 2000/54/CE.
V = Vacuna eficaz disponible.

TABLA 4.- Principales zoonosis específicas transmitidas por perros y gatos.

ENFERMEDAD	ETIOLOGÍA	RESERVORIO PRINCIPAL	TRANSMISIÓN HOMBRE
RABIA	<i>Lyssavirus Rhabdoviridae</i> (3) V.	Carnívoros / Murciélagos	Mordedura / Inhalación
ENFERMEDAD DE LYME	<i>Borrelia burgdorferi</i> (2)	Perros / Caballos / Roedores silvestres	Picaduras garrapatas / Contacto con sangre, orina, sinovial
RICKETTSIOSIS	<i>Rickettsia rickettsii</i> (3) <i>Ehrlichia canis</i>	Perros / Pequeños mamíferos	Picaduras Garrapatas
ARAÑAZO DEL GATO	No determinada	Gatos	Arañazos y heridas con las uñas
MORDEDURAS	<i>Capnocytophaga canimorsus</i>	Perros / Gatos	Mordedura
TIÑA	Dermatofitos (2)	Perros / Gatos	Contacto con animales infectados

(nº) = Clasificación del agente biológico según la Directiva 2000/54/CE.
V = Vacuna eficaz disponible.

RIESGO QUÍMICO

MANEJO DE SUSTANCIAS QUÍMICAS EN EL LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA

André Picot

Introducción

Los productos químicos no son un privilegio de los químicos, otros profesionales, como los biólogos, los manejan continuamente en trabajos de biología fundamental o en campos aplicados como la biotecnología.

Las sustancias químicas son una fuente de RIESGO, por lo que éstos han de ser controlados.

En el trabajo de laboratorio debemos mejorar su control con el fin de mejorar la calidad y seguridad de los experimentos.

Seguridad se encuentra asociada con calidad en el trabajo. Es importante conocer con precisión los riesgos asociados a los productos químicos que deben ser manipulados en un laboratorio.

Tanto en biología, como en química y física, cualquier trabajo con sustancias químicas debe estar precedido por una evaluación del riesgo y medidas de prevención, los riesgos a los que están sometidos son de naturaleza físico-química, química o toxicológica.

En cuanto a los riesgos químicos el lenguaje es muy importante, por lo que vamos a llevar a cabo una breve revisión de los términos más importantes.

I. ¿Cómo se define una sustancia química?

En química, la unidad individual más pequeña es el átomo. Los átomos se asocian en estructuras más complejas: las moléculas.

El medio biológico es principalmente agua (75% en humanos), por tanto los átomos actúan como iones cargados negativa o positivamente con la correspondiente ganancia o pérdida de uno o varios electrones.

Los cationes son iones cargados positivamente y los aniones son iones cargados negativamente, tal y como puede verse en el diagrama 1.

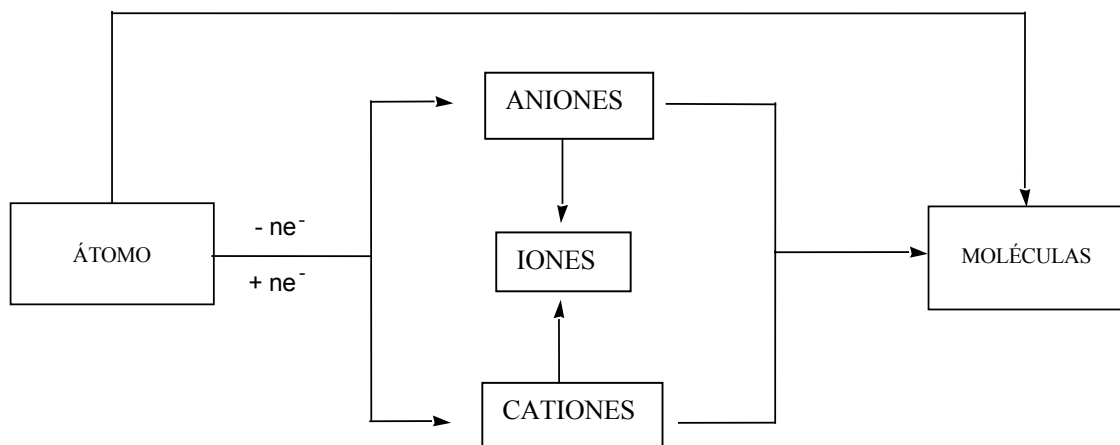


Diagrama 1: De átomos e iones a moléculas

Desde Lavoisier (1743-1794), uno de los fundadores de la química, distinguimos entre compuestos minerales y orgánicos. Los compuestos orgánicos se basan en los átomos de carbono; estos átomos enlazan consigo mismo (C-C) o con hidrógeno (C-H), como en los hidrocarburos, la familia más simple de los compuestos orgánicos.

Las sustancias químicas (átomos, iones o moléculas) presentan diferente reactividad química, la cual habrá de ser tenida en cuenta.

El ácido nítrico concentrado es altamente nitrante (capaz de contener uno o varios grupos nitro en una molécula) y fuertemente oxidante (capaz de transformar una molécula por oxidación). Como ejemplo, calentar un producto mineral como ácido nítrico concentrado con una sustancia orgánica fácilmente oxidable, como el alcohol (metanol, etanol, glicerol, etc.) puede ser peligroso y derivar en una explosión y posterior incendio.

Se debe tener un especial cuidado con el almacenamiento de los productos químicos; ha de evitarse colocar juntos productos incompatibles o muy reactivos.

Más de 21 millones de sustancias y productos químicos están catalogados en la lista del Chemical Abstract (CAS, Junio 2001), de las cuales son de uso corriente unas 100.000, que también se encuentran clasificadas y etiquetadas por la Unión Europea (EINECs ó ELINCS).

Obviamente, la mayoría de los productos químicos puros o en mezclas, empleados en trabajos de biotecnología se encuadran en esta clasificación (CAS), aunque se debe ser cuidadoso con los reactivos, de los cuales no conocemos su comportamiento real y su impacto sobre la salud de las personas.

II. Los productos químicos. Propiedades y riesgos.

En un experimento de laboratorio la seguridad depende del uso de un equipo adecuado, de la naturaleza de los productos químicos y de las condiciones de manejo.

Con el fin de evaluar los riesgos deben tenerse en cuenta diversos parámetros: propiedades físico-químicas, reactividad, daño a la salud a personas o animales, o al medio ambiente. Diagrama 2.

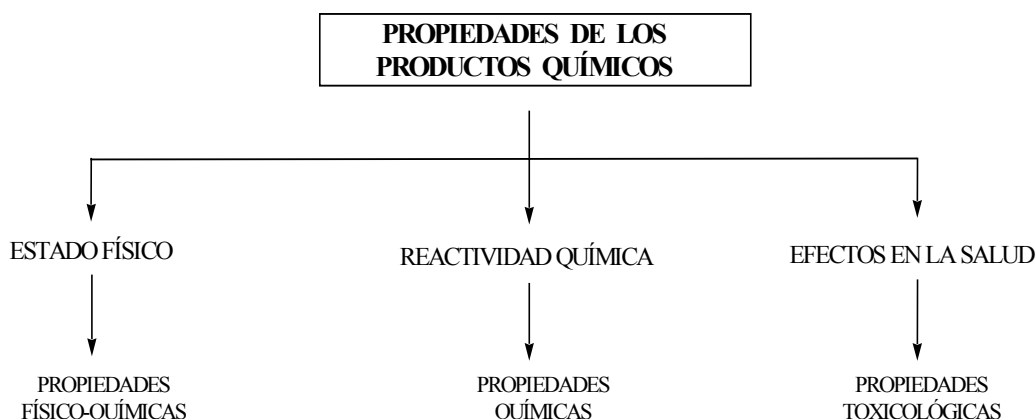


Diagrama 2: Principales propiedades de los productos químicos

A. PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS Y RIESGOS ASOCIADOS.

Las propiedades físico-químicas dependen de la forma física del producto: gaseosa (o en fase de vapor), líquido o sólido.

Las formas particulares como los aerosoles (sólidos o líquidos en suspensión en el aire) deben ser consideradas porque penetran en el organismo, a través de las vías respiratorias, muy rápidamente. El empleo de reactivos en forma de spray presenta un riesgo considerable en función de la naturaleza del producto pulverizado. El ácido sulfúrico concentrado en forma de spray es un cancerígeno bronco-pulmonar para humanos.

Los riesgos físico-químicos dependen por un lado de propiedades físico-químicas como: estabilidad, inflamabilidad y volatilidad, junto a la reactividad química o de su capacidad para reaccionar consigo mismo o con otros productos.

El riesgo de explosión, fuego y algunos efectos toxicológicos (relacionados con si la reactividad es suficiente para permitir su interacción con elementos biológicos) dependen de las propiedades físico-químicas como se muestra en el diagrama 3.

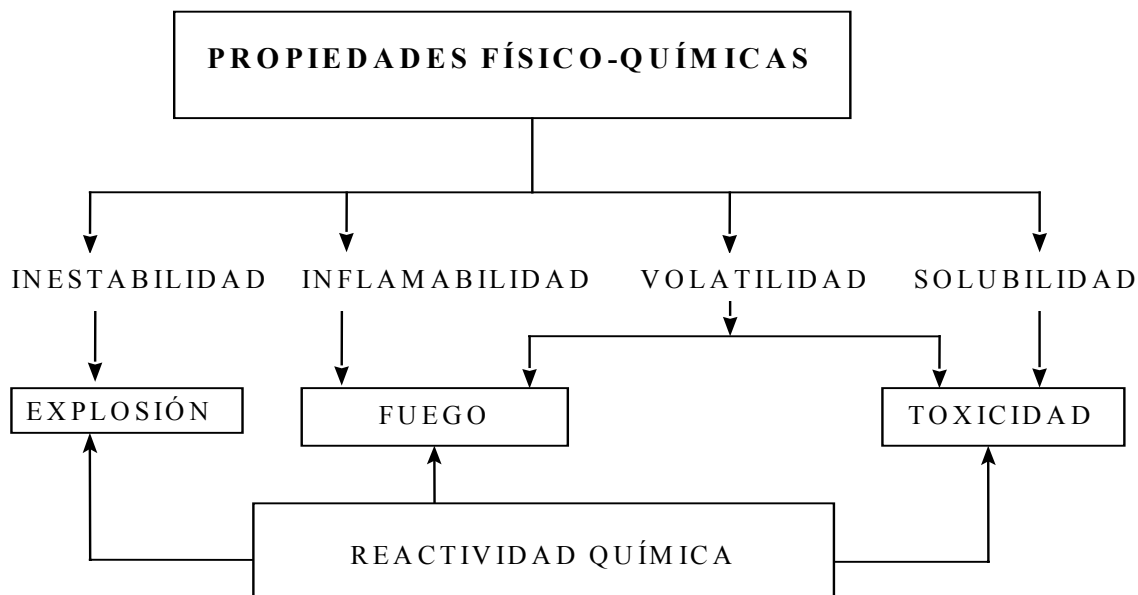


Diagrama 3: principales riesgos asociados a los productos químicos

1. Riesgos relacionados con la inestabilidad química

La inestabilidad de una sustancia pura o la mezcla de varias puede derivar en dos tipos de accidente:

- Explosión
- Fuego

La explosión y el fuego son dos grandes riesgos que conllevan la destrucción de estructuras y materiales así como la pérdida de vidas o daños en los trabajadores.

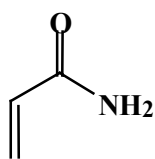
Los riesgos por explosión dependen básicamente de tres parámetros:

- Estabilidad de los compuestos.
- Reactividad de los mismos.
- El rango de explosividad, situado entre el límite inferior (LEL) y el límite superior de explosividad (UEL). Ambos límites para sustancias concretas vienen reflejados en diversas tablas.

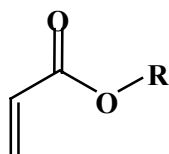
En química los focos de explosividad son múltiples, en un laboratorio de biotecnología, estos focos se limitan al uso sin precauciones de productos o mezclas inestables, además de operaciones peligrosas como polimerizaciones descontroladas de monómeros, las cuales se utilizan para realizar inclusiones, geles, etc.

Además algunas sustancias químicas pueden reaccionar por sí mismas: es el caso de algunos monómeros orgánicos, cuya polimerización es muy descontrolada. Por lo tanto, es mejor no trabajar en demasiados puntos del laboratorio con sustancias como la

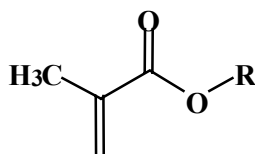
acrilamina (empleada en la formación de geles de poliacrilamida), acrilatos o metacrilatos, epóxidos, etc., utilizados en la preparación de resinas.



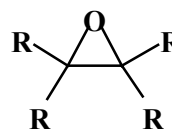
Acrilamida



Acrilatos



Metacrilatos



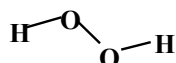
Epóxidos

Algunos monómeros como la acrilamina o el estireno polimerizan con reacciones muy exotérmicas cuando se calientan, pero habitualmente, esta polimerización es iniciada por la presencia de trazas como impurezas (ácidos, bases, peróxidos, metales, etc.).

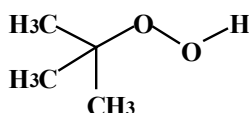
Los monómeros deben ser guardados en pequeñas cantidades después de su estabilización con un antioxidante (fenol, aminas, etc.)

Las familias de compuestos especialmente inestables o explosivos son:

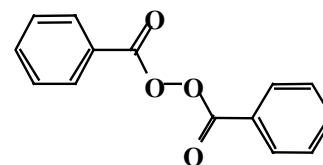
- Peróxido de Hidrógeno y derivados como Hidroperóxidos (Terbutil hidroperóxido...)
- Peróxidos (peróxido de benzoilo...)
- Perácidos (ácido peracético...)
- Persales (persulfato amónico...)



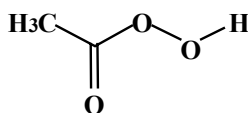
Peróxido de Hidrogeno



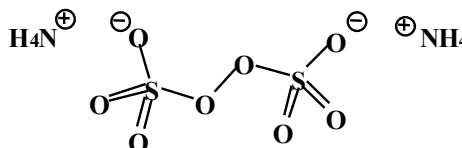
Terbutil hidroperóxido



Peróxido de Benzoilo



Acido Peracético

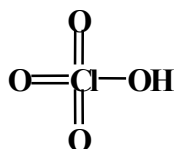


Persulfato Amónico

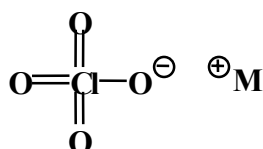
Se debe tener mucho cuidado con la formación de compuestos peróxidos por auto-oxidación en el aire a partir de algunos monómeros (acrilatos, metacrilatos, estireno...) o con algunos disolventes como el eteróxido (dietil eteróxido, 1-4, dioxano...) porque estos peróxiderivados son térmicamente muy inestables.

Los hidroperóxidos pueden ser detectados en estos productos mediante una solución acuosa ligeramente acidificada de yoduro potásico (KI) o con tiras de papel impregnadas de yoduro.

- Derivados del ácido perclórico (HClO_4) o percloratos (ClO_4^-): la mayoría son inestables y pueden explotar por un calentamiento brusco o rascado con una espátula metálica.



Acido perclórico



Perclorato (metal Monovalente)

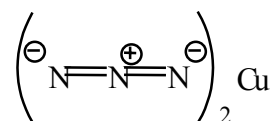
- Los derivados del ácido azotídico (HN_3) y azidas (N_3^-) son muy inestables. Las soluciones acuosas de azida sódica (NaN_3), empleadas como bactericida, no deben almacenarse en contenedores metálicos (excepto un tipo especial de cobre), porque pueden formarse azidas explosivas como la azida cúprica ($(\text{N}_3)_2\text{Cu}$).



Acido Azotídico



Azida (de un Metal monovalente)



Azida cúprica

Algunas veces los biólogos son químicos inestables. Ellos no conocen los riesgos por la dificultad de acceder a la información. La lectura de la etiqueta y de la Ficha de Seguridad son imprescindibles.

Como ejemplo, se almacena el dietil policarbonato (DEPC) en una nevera sin recirculación de aire. Un lento incremento de la temperatura producirá la descomposición del DEPC por hidrólisis con un escape descontrolado de dióxido de carbono (CO_2), lo cual provocará la explosión del contenedor. Diagrama 4

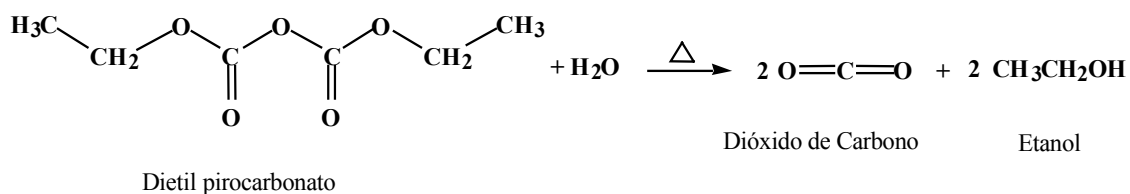


Diagrama 4: Hidrólisis del dietil policarbonato (DEPC)

Se recomienda una búsqueda bibliográfica antes de utilizar una sustancia química inestable o de estabilidad desconocida, o antes de preparar una mezcla inestable. Esta búsqueda a veces resulta complicada por la dispersión de los datos.

2. Riesgos relacionados con la inflamabilidad química

Una característica importante de una mezcla de sustancias químicas es su inflamabilidad, cuyo riesgo está en su punto de ignición y la propagación del fuego.

Son necesarios tres elementos:

- Un combustible
- Un oxidante, generalmente oxígeno (21% en el aire)
- Una fuente de ignición para iniciar la reacción de combustión. Puede ser una chispa, una llama, exceso de calor, etc.

Han de tenerse en cuenta diversos parámetros fisico-químicos para la evaluación del riesgo por inflamabilidad. Tres de ellos son esenciales:

- Límites de inflamabilidad
- Punto de ignición
- Temperatura de autoignición

También se ha de considerar la volatilidad y la presión de vapor máxima para evaluar los riesgos de inflamabilidad y toxicidad de las sustancias químicas.

Estos dos parámetros dan información de la cantidad de vapor emitida y del nivel de evaporación.

Los productos químicos inflamables pueden ser gaseosos, vapores de líquidos volátiles, o sólidos, metales sólidos finamente divididos (cinc, magnesio, níquel...).

a) PRESIÓN DE VAPOR

Un parámetro importante en seguridad es la presión de vapor de un líquido, que corresponde a la presión ejercida sobre el líquido por su vapor. A esta presión se consigue un equilibrio dinámico entre el líquido y la fase gaseosa.

Desde la presión de vapor hasta el equilibrio, el operador puede deducir si hay riesgo de ignición o intoxicación.

La concentración (en volumen), indicada en porcentaje nos señala el riesgo de ignición, e indicada en partes por millón (ppm), nos señala el riesgo de intoxicación.

$$1\% = 10.000 \text{ ppm}$$

b) INDICE DE EVAPORACIÓN

El índice de evaporación puede ser cuantificado comparando la velocidad de evaporación del líquido con el eteróxido dietílico (éter ordinario), el cual es considerado el solvente más volátil ($v = 1$).

$$\text{Volatilidad} = \frac{\text{Velocidad de evaporación}}{\text{Velocidad de evaporación del eteróxido dietílico}}$$

c) LÍMITE DE INFLAMABILIDAD

Para que se produzca la ignición y propagación del fuego con un gas o vapor (proveniente de un líquido volátil), la sustancia química volátil (combustible) debe encontrarse mezclada con el aire (oxidante) en un determinado porcentaje.

La concentración debe encontrarse entre dos límites:

- Límite superior de inflamabilidad (LSI o UFL)
- Límite inferior de inflamabilidad (LII o LFL)

Los valores de los límites de inflamabilidad (LI o FL) y explosividad (LE o EL) se cuantifican en porcentaje del gas o vapor en el aire. Diagrama 5.

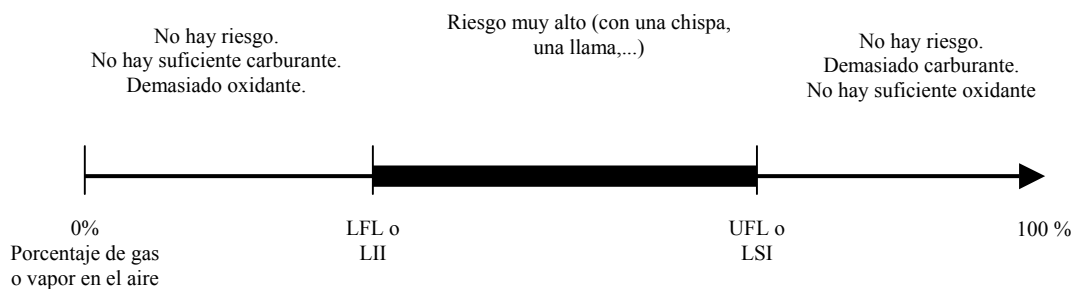


Diagrama 5: Rangos de inflamabilidad y explosividad

En mezclas gaseosas son muy similares los límites de inflamabilidad y explosividad.

d) PUNTO DE IGNICIÓN

El punto de ignición es un parámetro experimental. Representa la temperatura a la que la emisión de vapor es lo suficiente como para alcanzar la composición que corresponde al límite de inflamabilidad inferior.

A esta concentración correspondiente al LII, una chispa puede provocar la explosión.

La temperatura medida en una copela abierta es entre 5 y 10 °C superior que la temperatura obtenida en una copela cerrada.

El punto de ignición es un parámetro esencial para determinar el riesgo de incendio.

En el rango de riesgo (Diagrama 5), una chispa mecánica o eléctrica o la electricidad estática, son especialmente peligrosas.

Cuanto más bajo es el punto de ignición, más inflamable es el líquido y más peligro existe.

<i>PUNTO DE IGNICIÓN</i>	<i>CARACTERÍSTICAS DE INFLAMABILIDAD</i>
Menor de 0 °C	Extremadamente inflamable
Entre 0 °C y 25 °C	Fácilmente inflamable
Entre 25 °C y 55 °C	Inflamable

El punto de ignición del isopentano (disolvente empleado en biología y líquido para crioscopia) es de -49 °C, lo cual lo convierte en una sustancia química extremadamente inflamable, incluso más que el éter etílico, con un punto de ignición de -44 °C.

e) TEMPERATURA DE AUTOIGNICIÓN

En una mezcla de gas/aire cuyo porcentaje esté cercano al Límite de Inflamabilidad, la ignición puede comenzar por una llama o una chispa pero también por un aumento de la temperatura.

Un producto químico puede comenzar a arder sin ninguna fuente de ignición, tan solo con alcanzar la temperatura de autoignición.

Por ejemplo, el disulfuro de carbono (CS₂), muy empleado en la extracción de lípidos, empieza a arder espontáneamente cuando la temperatura es superior a 90 °C, mientras que el éter dietílico lo hace alrededor de lo 160 °C.

f) RECOMENDACIONES PARA EL MANEJO Y ALMACENAMIENTO DE LOS PRODUCTOS QUÍMICOS

En un laboratorio donde se manipulan productos químicos inflamables el riesgo de incendio ha de tenerse muy en cuenta. Una serie de principios básicos deben ser aplicados:

- *No manipular sustancias inflamables cerca de la llama o un punto de calor.* Utilizar un secador de pelo no evita este peligro. Las sustancias químicas muy inflamables deben ser manejadas en muy pequeñas cantidades y si es posible en campanas de gases.
- *No almacenar contenedores de disolventes inflamables en estanterías o sobre los equipos de trabajo.* Deben almacenarse en armarios ventilados o en cabinas convenientemente emplazadas lejos de las salidas de emergencia.
- *No almacenar grandes cantidades de productos químicos en el laboratorio.* El stock de productos químicos no deberá ser superior a las necesidades de consumo de 1 ó 2 días, para reducir el riesgo en caso de incendio.
- *No almacenar líquidos volátiles inflamables en la nevera.* Todas las neveras del laboratorio deben contar con termostato externo y no deben tener ninguna bombilla en su interior (neveras de seguridad).

En caso de incendio deben emplearse extintores adecuados. Es necesario conocer su localización y el tipo de extintor a emplear (de acuerdo al producto químico en llamas).

Es importante organizar ejercicios de emergencias para tener conocimiento de cómo utilizar los extintores.

B. PROPIEDADES QUÍMICAS Y RIESGOS ASOCIADOS.

Las reacciones químicas llamadas reacciones peligrosas son fuente de accidentes por la reactividad química que conllevan (polimerización violenta de monómeros, mezclas de sustancias químicas incompatibles...).

Algunos productos químicos pueden reaccionar violentamente con agua u oxígeno, sustancias que se encuentran presentes en el ambiente. Otras sustancias reaccionan de manera incontrolada y a menudo de forma violenta.

El Diagrama 6 resume las posibles reacciones incompatibles entre dos o varios compuestos químicos.

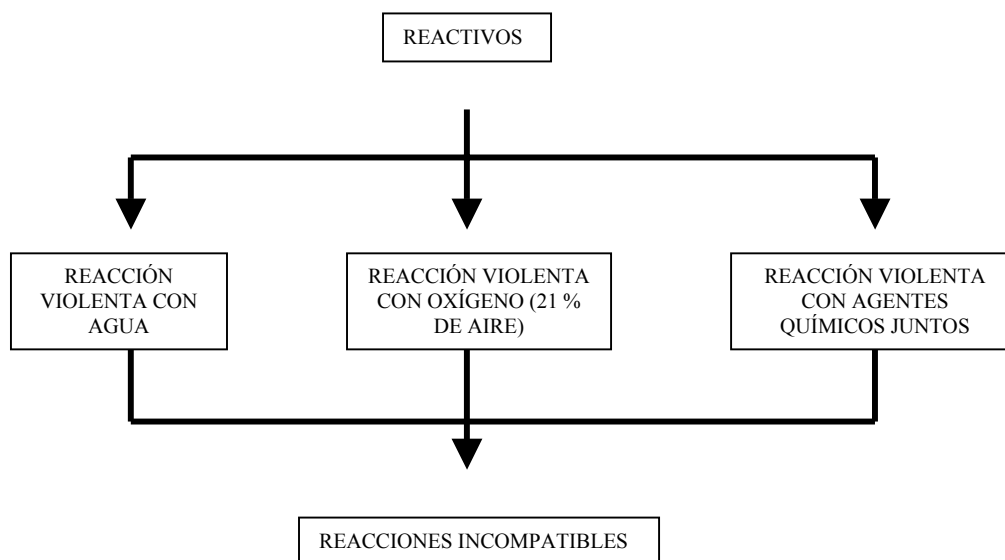


Diagrama 6: Principales tipos de reacciones incompatibles.

En el laboratorio debe evitarse colocar juntas sustancias incompatibles. Tan solo deben emplearse pequeñas cantidades para reforzar la seguridad del procedimiento.

El almacenamiento de estas sustancias debe ser seguro y bien organizado, teniendo en cuenta las compatibilidades químicas de las diferentes sustancias y del espacio que disponemos.

1. REACCIONES CON AGUA

Algunos reactivos químicos pueden reaccionar violentamente con el agua provocando una hidrólisis. Durante la hidrólisis se desprende una cantidad mayor o menor de calor y algunas veces se produce gas inflamable (H_2). Este hidrógeno puede arder en algunos casos. La hidrólisis de algunas sustancias puede derivar en la producción de sustancias corrosivas, llamadas Hidroácidos (ej. Ácido clorhídrico).

El dimetildiclorosilano se emplea como tratamiento anti-adhesivo para vidrio de laboratorio (tubos de hemólisis) o como agente repelente del agua. Con el agua tiene lugar una hidrólisis en la que se genera ácido clorhídrico, derivados orgánicos del silicio oxigenados (dimetilsilanol) y polímeros (metil o dimetilsiloxano). Diagrama 7.



Diagrama 7: Hidrólisis del dimetildiclorosilano

Algunos compuestos inestables pueden reaccionar con agua generando sustancias muy tóxicas. También con agua, algunos agentes alquilantes empleados en biología molecular pueden generar sustancias muy reactivas.

En el caso de que estas sustancias penetren en el organismo, el agua que forma parte del mismo (un 75% en el caso de humanos), hidrolizará estas moléculas, lo que implica la formación de agentes intermedios reactivos.

A escala celular estos agentes pueden unirse con proteínas y ácidos nucleicos como ADN. En el caso de que se produzcan estas uniones con el ADN, puede tener lugar una mutación irreversible que de lugar a un proceso de iniciación de un tumor.

En el caso del dimetilsulfato (DMS, reactivo empleado en la identificación de secuencias interactivas como proteínas del ADN en la técnica del ensayo del cambio de movilidad), hay dos reacciones posibles: una reacción de metilación que puede afectar al ADN y por otro lado una hidrólisis. Diagrama 8.

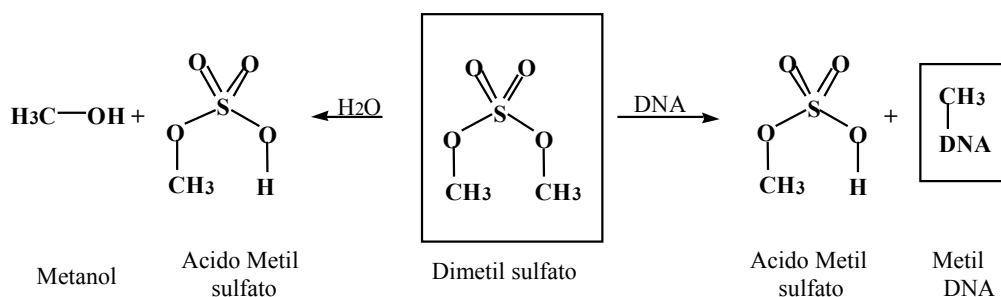


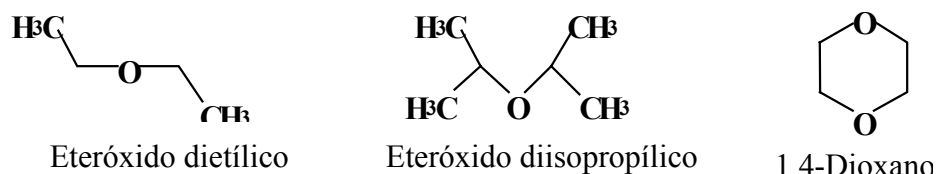
Diagrama 8: Reacción del dimetilsulfato con ADN o agua

2. RECCIONES CON OXÍGENO

Hay dos clases de reacciones con oxígeno (O₂): reacciones brutales, que pueden derivar en una explosión o incendio, o reacciones lentas de auto-oxidación.

Las reacciones explosivas son muy raras en los laboratorios de biotecnología. Normalmente tienen lugar con derivados del ácido perclórico (HClO₄, ClO₄⁻,...) derivados del ácido azotídico (NH₃, N₃⁻,...) y derivados del peróxido de hidrógeno (H₂O₂, ⁻O-O⁻, R-O-OH, R-O-O-R,...), como se ha explicado anteriormente.

Las reacciones de auto-oxidación cuyo mecanismo es de tipo radical (solamente se transfiere un electrón cada vez) son mucho más frecuentes y también pueden generar explosiones. Por ejemplo los solventes de eteróxidos como el eteróxido dietílico (éter ordinario), el éter diisopropílico (iso éter), el 1,4-dioxano (eteróxido cíclico presente en algunos líquidos centelleantes), pueden ser peligrosos. Si se almacenan sin protección a la luz o el aire, se puede producir una peroxidación de los productos peróxidos más o menos complejos (hidroperóxidos, peróxidos, polímeros...). Estos productos son muy inestables y pueden explotar durante la purificación de un solvente por destilación (el peligro de explosión se produce al final de la manipulación, cuando los derivados peróxidos inestables se encuentran concentrados).



El eteróxido diisopropílico es un solvente muy peroxidable. La primera auto-oxidación del compuesto es bastante estable. Posteriormente, de forma lenta se va transformando en peróxidos cíclicos de acetona (dímeros y trímeros) y en polímeros extremadamente inestables. Estos polímeros son los responsables de las explosiones durante la manipulación de los eteróxidos. Diagrama 9.

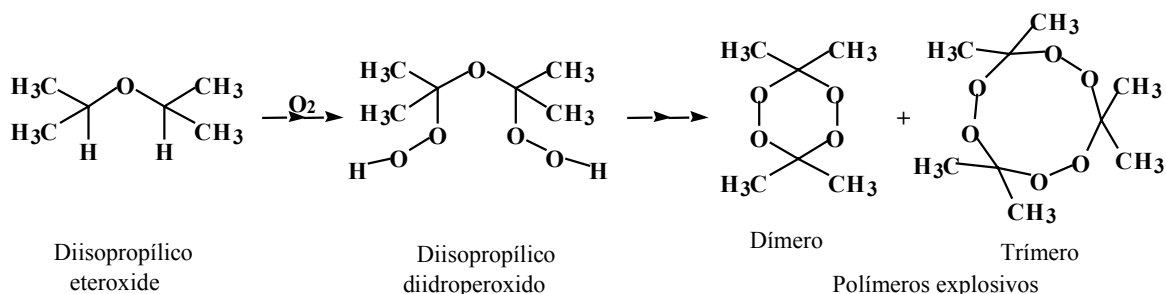
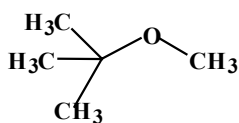


Diagrama 9: auto-oxidación del eteróxido diisopropílico en compuestos peróxidos inestables.

Los eteróxidos peroxidables pueden ser sustituidos por el metilterbutiléter (MBTE), el cual es mucho menos sensible a la reacción con oxígeno.



Metilterbutiléter (MTBE)

3. REACCIONES PELIGROSAS. MEZCLAS DE SUSTANCIAS QUÍMICAS INCOMPATIBLES.

Las sustancias químicas son incompatibles cuando su mezcla induce a reacciones violentas e incontrolables.

Como se ha indicado anteriormente hay cuatro clases de reacciones que pueden derivar en mezclas especialmente peligrosas:

- Reacciones con agua
- Potentes oxidaciones
- Potentes reducciones
- Monómeros fácilmente polimerizables.

a) Reacciones violentas con agua

Este tipo de reacciones exotérmicas son muy comunes en los laboratorios y a menudo fuente de proyecciones de sustancias corrosivas sobre la piel o los ojos.

Una adición de gran cantidad de agua sobre ácidos fuertes concentrados (H_2SO_4 ...) o sobre bases fuertes (NaOH , KOH ...) es peligroso y provoca proyecciones violentas.

Con el fin de evitar este problema se recomienda verter lentamente el ácido o la base concentrada sobre el agua, nunca de manera inversa, y agitar la mezcla a la vez con el fin de hacerla más homogénea.

Es a menudo peligrosa la disolución en agua de minerales anhidros (fosfórico anhidro) u orgánicos (acético anhidro) y también halogenoides (cianógeno bromídico...), ésteres inorgánicos (dimetilsulfato, metasulfonatos...). Diagrama 10.

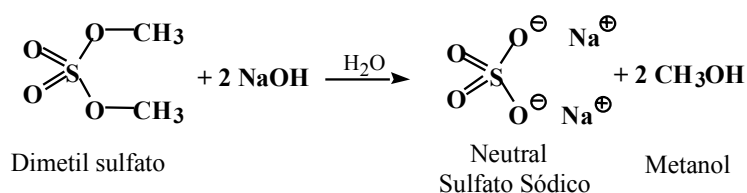


Diagrama 10: Destrucción del dimetilsulfonato por hidrólisis alcalina

Para realizar este tipo de reacciones se debe trabajar con pequeñas cantidades y verterlas sobre agua fría. Es recomendable el realizar las operaciones bajo campana con el equipo de protección individual necesario (gafas de protección con cobertura por los laterales, guantes apropiados...).

b) Reacciones de oxidación violentas

Especialmente cuando son sólidos y se encuentran finamente divididos los oxidantes químicos son oxidantes muy fuertes cuando se ponen en contacto con agentes reductores, como hidrocarburos.

Es igual para los compuestos de cromo hexavalente (ácido crómico, cromatos, dicromatos...) o permanganato potásico (KMnO₄).

Los compuestos de cromo hexavalente son agentes carcinógenos y mutágenos en humanos muy poderosos. En comparación el permanganato potásico, empleado como agente de limpieza aún con el riesgo que conlleva, es moderadamente tóxico.

Sin embargo, adicionar ácido sulfúrico concentrado a una solución de permanganato potásico concentrado (los cristales son más peligrosos) puede desencadenar una violenta explosión. De hecho hay una forma transitoria del permanganato ácido (HMnO₄) y del óxido de manganeso anhídrido (Mn₂O₇) que son especialmente inestables. Diagrama 11.

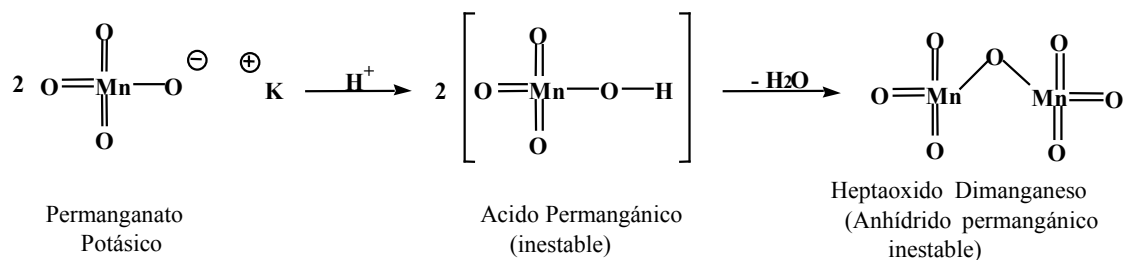


Diagrama 11: formación de anhídrido permangánico con permanganato potásico en un medio fuertemente ácido

c) Reacciones de reducción violentas

Los agentes reductores fuertes, menos habituales en un laboratorio de biotecnología que los agentes oxidantes fuertes, pueden reaccionar con ellos de forma explosiva.

Sin embargo, un agente oxidante fuerte como el permanganato potásico no debe ser destruido directamente con hidrazina (H₂N-NH₂) bajo la forma hidratada (H₂N-

SUSTANCIAS QUÍMICAS O GRUPOS	SUSTANCIAS INCOMPATIBLES	Reacción exotérmica violenta	Ignición espontánea	Formación de gases tóxicos
ÁCIDOS MINERALES FUERTES (HCl, HNO₃, H₂SO₄...)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Agua ▪ Bases fuertes 	++		
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Cianuros ▪ Nitrogenuros ▪ Sulfuros ▪ Hipocloritos 			++++
HClO₄	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Material orgánico combustible (lana, madera, papel, etc.) ▪ Alcoholes (metanol, etanol, glicerol, glicol, etc.) 	++	++	
BASES MINERALES FUERTES (NaOH, KOH, NH₄OH...)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Agua ▪ Bases fuertes 	++		
AGENTES OXIDANTES FUERTES (KMnO₄, CrO₃, O₃...)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hidrocarburos etilénicos ▪ Agentes reductores fuertes 	++	(++)	
H₂O₂ (concentrada)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Material orgánico combustible (grasas) ▪ Alcoholes ▪ Acetona 	++	(+)	
NaOCl	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ácidos ▪ Aminas ▪ Formaldehido 	+		++

Tabla 1: Principales grupos y sustancias químicas incompatibles

C. RIESGOS ASOCIADOS A LAS PROPIEDADES TÓXICAS

Para los organismos vivos las sustancias químicas que son elementos constitutivos son compuestos endógenos. En esta categoría encontramos moléculas

inorgánicas de tamaño medio y pequeño, como agua, urea, cloruro sódico, etc., u orgánicas, como glucosa, ácidos grasos, vitaminas, etc.

Los organismos vivos también tienen moléculas de gran tamaño, llamadas macromoléculas, como proteínas, fosfolípidos insaturados y ácidos nucleicos como el ADN.

Otras sustancias químicas que no pertenecen al organismo ni actúan en la actividad biológica son los compuestos exógenos, también llamados compuestos xenobióticos.

Son xenobióticos las sustancias químicas básicas (productos puros, monómeros, solventes,...) así como productos químicos más elaborados, reactivos empleados en los laboratorios, medicinas, plaguicidas, etc.

Nosotros tan solo vamos a considerar como agentes xenobióticos tóxicos a las sustancias químicas empleadas en biología.

1. ¿Cómo definimos un veneno?

Una sustancia química es peligrosa cuando puede dañar una o varias funciones fisiológicas de un organismo vivo.

Toxicología es la ciencia de las sustancias tóxicas, es multidisciplinar y se asocia a nociones de química y física. La toxicología química estudia las interacciones entre agentes químicos, por ejemplo un xenobiótico tóxico, y una diana biológica.

En los casos favorables podemos deducir la razón por la que esta interacción ha provocado un efecto tóxico. En este ambiente debe ser tenida en cuenta cualquier sustancia química xenobiótica. Además cualquier impacto en los diferentes ecosistemas debe integrarse en el resultado del efecto tóxico global.

Esta consideración global de la información dada, no sólo por la química, sino también por la toxicología, nos permite definir la toxicología química como una nueva aproximación de la toxicología molecular. Diagrama 13.

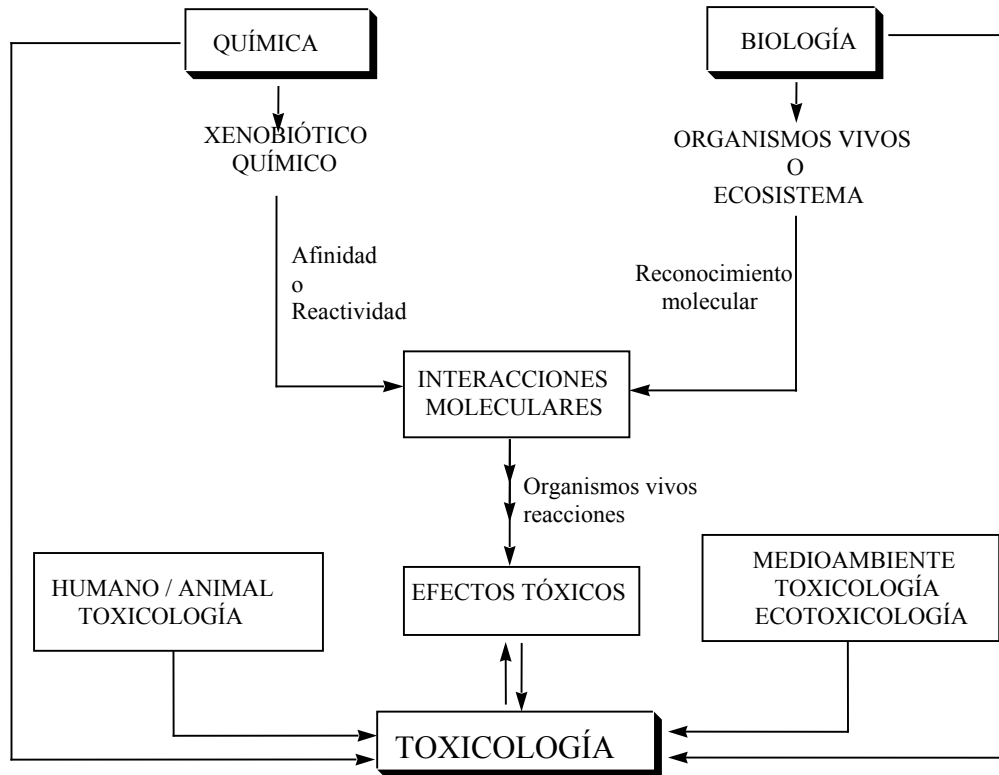


Diagrama 13: Efectos tóxicos por interacción entre un xenobiótico químico y su diana biológica.

Excepto efectos locales (corrosivos o irritantes) en el lugar de contacto de la sustancia química agresiva, la primera condición indispensable en la acción de un xenobiótico en un organismo vivo es la posibilidad de entrar en él.

2.- ¿Cómo entra un xenobiótico en un organismo y cómo se extiende?

Volatilidad y solubilidad son dos propiedades fisicoquímicas muy importantes para tener en cuenta en los riesgos tóxicos (diagrama 3).

a) El papel de la solubilidad

Clásicamente distinguimos entre sustancias químicas insolubles (en agua o grasas) y sustancias solubles en agua (sustancias hidrosolubles) o en grasas (sustancias liposolubles). Diagrama 14

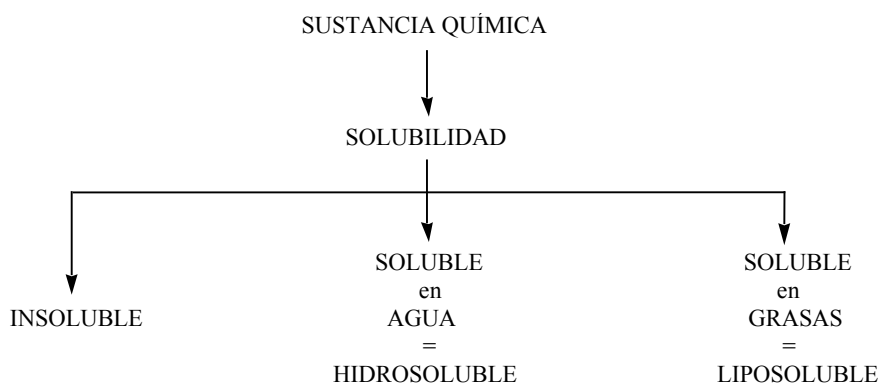


Diagrama 14: Principales tipos de solubilidad para las sustancias químicas

La mayoría de los agentes xenobióticos tienen su solubilidad compartida entre agua (principal constituyente de los líquidos biológicos) y lípidos (moléculas importantes de las biomembranas) y esto puede ser cuantificado por el coeficiente de partición entre estos dos ambientes.

$$\text{Coeficiente de partición} = \frac{\% \text{ soluble en agua}}{\% \text{ soluble en grasas}}$$

Este coeficiente de partición puede darte información del destino del agente xenobiótico en un organismo vivo, desde su entrada hasta su eliminación.

b) Principales formas de penetración de los agentes xenobióticos en el organismo

Un agente xenobiótico puede entrar en el organismo por tres vías principalmente: respiratoria, digestiva y dérmica. Muy raramente por vía nasal u ocular.

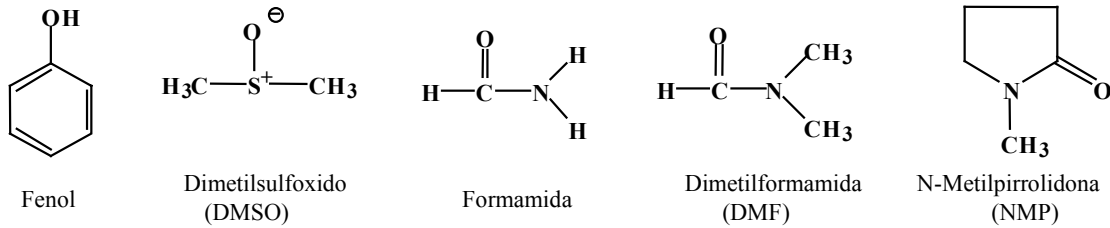
En un laboratorio la vía respiratoria es la principal. De hecho, un gran número de sustancias químicas pueden entrar en el organismo bajo la forma de:

- Gas o vapor (particularmente líquidos volátiles como los disolventes)
- Sólidos finamente divididos (polvo)
- Aerosoles (sólidos o líquidos finamente divididos en suspensión)

No debemos olvidar la penetración por vía dérmica (y membranas mucosas) porque hay sustancias químicas que entran más fácilmente por esta vía que por la respiratoria. En esta categoría hay diferentes solventes:

- Fenol
- Dimetilsulfóxido (DMSO)
- Formamida y Dimetilformamida (DMF)

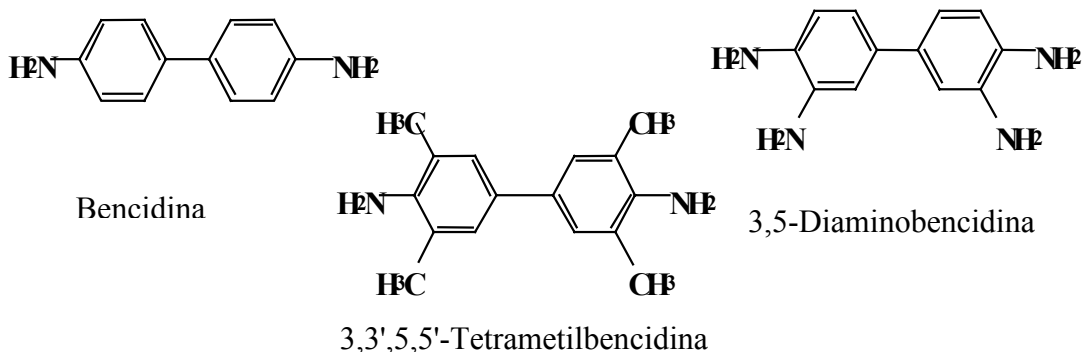
- N-Metilpirrolidona (NPM)



Algunos reactivos empleados en biología son particularmente peligrosos por su alta toxicidad y porque son fácilmente absorbidos a través de la piel. Éste es el caso de las aminas aromáticas de la familia de la benzidina.

En el pasado la benzidina se empleaba mucho en el revelado de la actividad de la peroxidasa (peróxido de hidrógeno / peroxidasa) y hoy en la inmunorrevelación del Test Elisa. Es una potente molécula cancerígena que ataca la vejiga en humanos. Algunos casos de este tipo de cáncer han sido descritos en trabajadores de laboratorios que empleaban este reactivo químico.

En algunos casos, la benzidina puede ser sustituida por 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB), lo cual es una sustitución perfecta porque no es ni cancerígeno ni mutagénico. Para otras aplicaciones la 3,5-diaminobenzidina (DAB) (un agente carcinógeno en experimentación animal) es un sustituto aceptable de la benzidina, pero debe ser manejado con cuidado.



El manejo de estas sustancias químicas, fácilmente penetrables por la piel requiere una protección adecuada: colocarse guantes desechables, gafas protectoras, limpieza de las manos, destrucción de los residuos después de su uso, etc.

c) Destino del xenobiótico en el organismo

Una vez introducido el xenobiótico en el organismo se expande a través de la circulación sanguínea. El destino de la sustancia química depende de su solubilidad en agua y grasas.

Generalmente las sustancias químicas hidrosolubles son rápidamente eliminadas por el organismo por los riñones a través de la orina tras su biotransformación o no.

Los xenobióticos químicos muy liposolubles se almacenan en compartimentos de lípidos (sistema nervioso, hígado, riñón, médula ósea, grasa, etc.), de donde son liberados tras un período de tiempo, dependiendo del agente.

Normalmente los xenobióticos lipofílicos deben ser metabolizados para poder ser eliminados por el organismo. Los solventes orgánicos lipofílicos son metabolizados en el hígado. Se transforman en metabolitos solubles en agua y son excretados en la orina a través de los riñones.

Algunos xenobióticos con alto peso molecular (sobre 300) son eliminados por el hígado a través de la bilis. Una proporción puede ser absorbida a través del ciclo entero-hepático. Este ciclo puede aumentar los efectos tóxicos de los compuestos nitroaromáticos: son metabolizados en aminas aromáticas en el hígado, eliminadas en la bilis y reabsorbidas por el intestino. Cuando están en el hígado tienen efectos hepatotóxicos.

En el diagrama 15 se pueden observar las posibilidades de eliminación de un xenobiótico hidrosoluble o liposoluble del organismo.

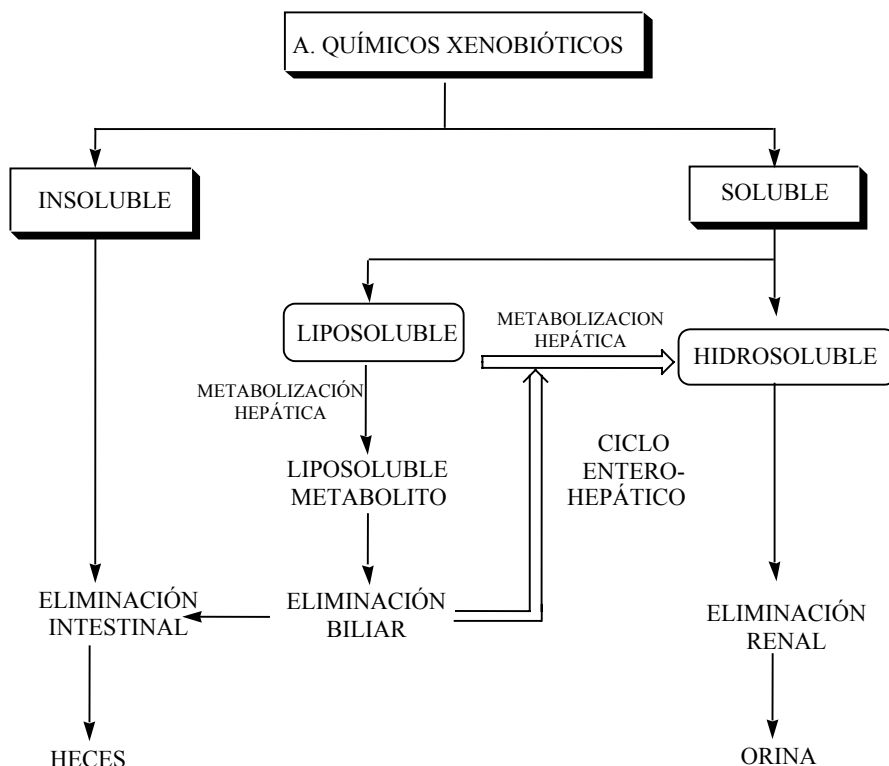


Diagrama 15: Eliminación a través del organismo de un xenobiótico.

Este diagrama también es idóneo, tanto para una sustancia orgánica, como un disolvente lipofílico y para una sustancia inorgánica como mercurio elemental, siendo ambas muy comunes en laboratorio. El mercurio lo encontramos en los equipos de medida (termómetro, manómetro,...). Bajo forma de vapor puede ser fácilmente absorbido por inhalación. Como es un lipofílico ligero puede traspasar la membrana del alvéolo pulmonar.

El mercurio es capaz de atravesar la barrera hemato-encefálica y penetrar en la sustancia gris del cerebro. Puede también oxidarse en sales de mercurio solubles en agua, eliminadas por el riñón.

El ion mercurio puede inducir procesos inflamatorios en el sistema nervioso (encefalopatía, polineuritis) y glomérulos renales en el riñón (glomerulonefritis).

En el intestino los iones de mercurio son metilados en cationes de metilmercurio ($\text{CH}_3\text{-Hg}^+$) que permite su absorción intestinal y es más fácilmente transferido al sistema nervioso. Diagrama 16.

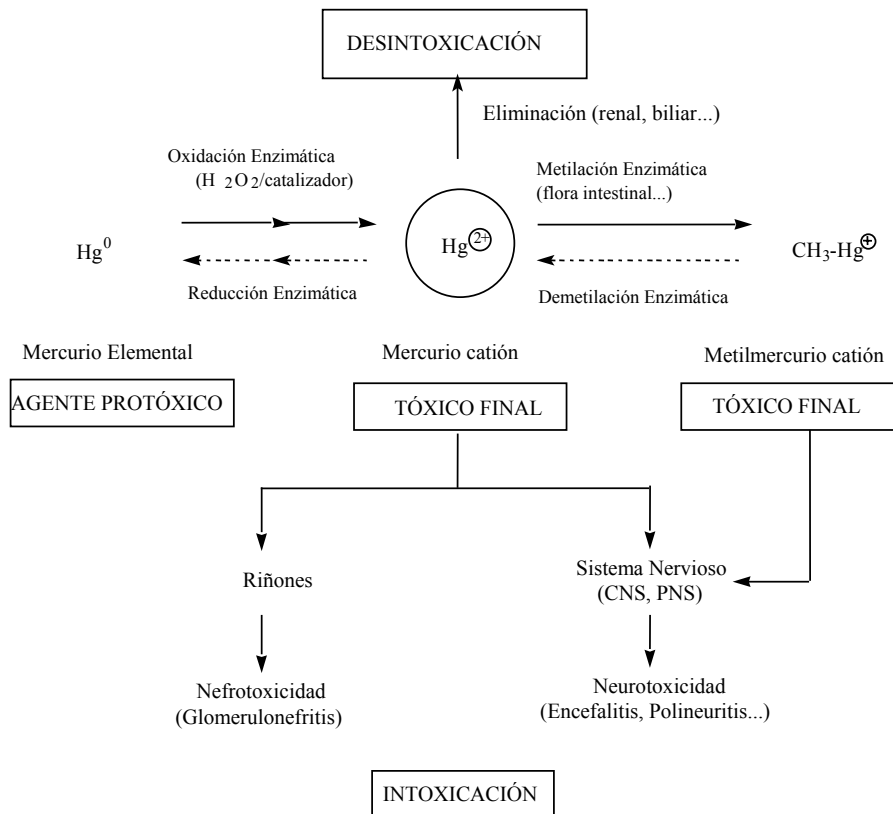


Diagrama 16: Diferentes especies químicas de mercurio, sus órganos diana y sus efectos tóxicos.

En los laboratorios de biología el mercurio se puede encontrar bajo la forma elemental (termómetros...), bajo forma de ión (sales de mercurio), algunas veces como compuestos organometálicos como el dimetilmercurio ($\text{CH}_3\text{-Hg-CH}_3$). El

dimetilmercurio es una molécula volátil, especialmente peligrosa, que puede resultar mortal, incluso con una simple penetración cutánea.

3.- ¿Cuáles son las principales formas de toxicidad?

Un xenobiótico químico puede producir efectos tóxicos con dos tipos de interacciones:

- Acción directa de la sustancia química en el organismo diana (dependiendo de la reactividad química).
- Acción indirecta de un intermedio llamado tóxico último o final.

El tóxico final es un derivado del primer agente xenobiótico (o agente protóxico), hidrolizado en el ambiente biológico o en el proceso de biotransformación (con metabolización de enzimas).

Para experimentación es posible distinguir los efectos inmediatos que resultan en efectos agudos (a veces letales) con efectos retrasados que pueden derivar en efectos tóxicos a mas o menos largo plazo.

En el diagrama 17 pueden verse estos efectos.

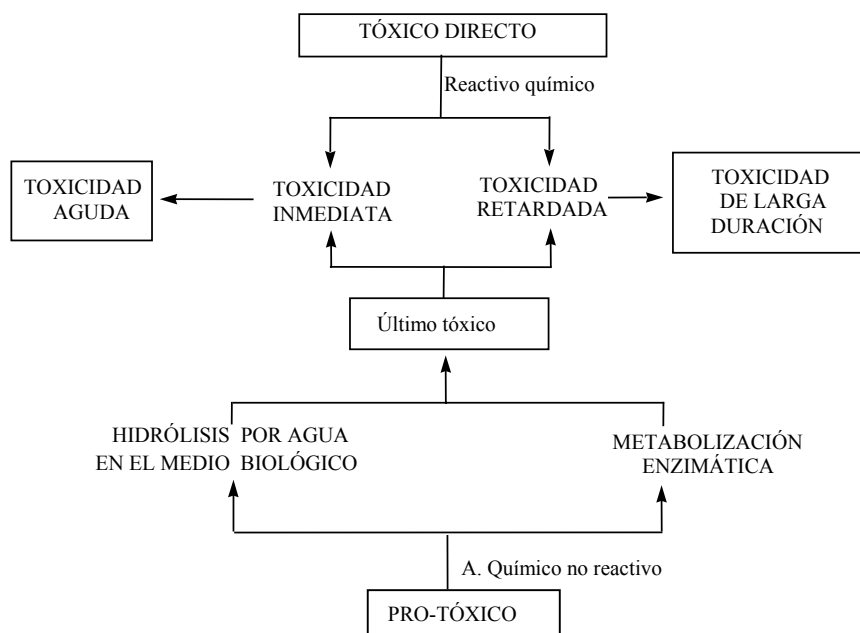


Diagrama 17: Principales formas de toxicidad y efectos tóxicos de los agentes xenobióticos.

a) Toxicidad aguda

La toxicidad aguda es consecuencia de una única dosis (o varias dosis en 24 horas) con la que resultan muertos el 50% de los animales en experimentación.

El valor de la dosis letal 50 (DL₅₀) o de la concentración letal 50 (CL₅₀) son parámetros muy útiles para informar en el etiquetado. CL₅₀ está relacionado con la exposición por inhalación durante un período de tiempo a diferentes concentraciones.

Los pictogramas asociados (muy tóxico, tóxico, nocivo,...) deben aparecer en las etiquetas.

Debemos tener en mente que la toxicidad aguda es muy dependiente de la especie animal, sexo, vía de exposición..., por lo que las consecuencias de una simple extrapolación a los humanos es muy arriesgada.

Las técnicas alternativas pueden permitir la determinación de la toxicidad aguda en células animales (test de citotoxicidad) evitando el uso excesivo de animales.

Las intoxicaciones agudas son raras en laboratorios, siendo más usual las mezclas de sustancias incompatibles que generan gases tóxicos.

Como ejemplo añadir algún ácido, incluso débil, a la solución acuosa de cianuro potásico (KCN) y se genera ácido cianhídrico (también llamada cianuro de hidrógeno). Este gas con olor a almendras amargas es altamente tóxico.

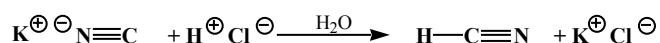


Diagrama 18: Formación del cianuro de hidrógeno por la acción del ácido clorhídrico sobre el cianuro potásico.

La azida sódica (NaN₃) con un ácido genera amoníaco gas (NH₃), tan peligroso como el cianuro de hidrógeno.

Añadiendo algún ácido, incluso débil como el ácido cítrico (del limón) a una solución de hipoclorito sódico se genera cloro gas (Cl₂). Este problema puede ocurrir cuando se limpian los aseos si se emplea un limpiador ácido y un blanqueador (hipoclorito sódico). El cloro es un gas muy corrosivo y puede ser fatal en espacios cerrados (aseos).

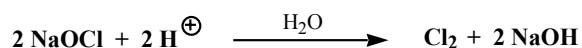


Diagrama 19: Formación de cloro gas por la mezcla de hipoclorito sódico en un ambiente ácido

En los laboratorios de biología, la manipulación de algunos tóxicos agudos como las toxinas (toxina botulínica, micotoxinas, etc.), alcaloides (estricnina, brucina, etc.) moléculas activas farmacológicamente (digitoxina, etc.) debe realizarse con mucho cuidado.

Estas toxinas llamadas venenos y etiquetadas con el pictograma de muy tóxico deben ser guardadas en armarios cerrados con llave.

b) Toxicidad a medio plazo.

En experimentación animal la toxicidad a medio plazo, también llamada subaguda (en períodos inferiores a tres meses) puede dar información a cerca del órgano diana al que preferentemente ataca.

El tetracloruro de carbono (CCl_4) es un disolvente que se empleaba en la extracción de lípidos. Hoy en día está prohibido por su acción destructiva sobre la capa de ozono. Tras su inhalación, alcanza rápidamente el hígado provocando hepatitis que puede evolucionar a cirrosis. El cloroformo (CHCl_3) se emplea mucho en biología para la extracción del ADN (mezcla de fenol/cloroformo). Según la especie animal el cloroformo ataca a dos órganos diana, que son el hígado y los riñones. Como norma, se debe ser cuidadoso con todos los disolventes clorados (incluso con el cloruro de metileno también llamado diclorometano) porque todos estos disolventes son agentes irritantes y neurotóxicos. Además, a menudo son hepatotóxicos y nefrotóxicos y no debemos olvidar sus efectos dañinos al ambiente.

c) Toxicidad a largo plazo.

La toxicidad a largo plazo es evaluada tras exposiciones repetitivas a bajas concentraciones del agente químico durante toda la vida del animal (2 años para roedores como ratas y ratones).

Los efectos a largo plazo generalmente dependen de la dosis total absorbida y las dosis umbrales pueden ser fijadas. La dosis umbral es la máxima dosis permitida antes de que ocurran daños irreversibles en la salud.

Los límites de exposición en el trabajo han sido fijados para proteger la salud de los trabajadores en el trabajo y son publicados periódicamente.

Debemos tener en cuenta que no hay relación entre la toxicidad aguda y la toxicidad a largo plazo.

La mayoría de los efectos tóxicos son debidos a una interacción entre los elementos celulares constitutivos, especialmente con macromoléculas esenciales: proteínas (enzimas, estructuras proteicas, transporte de proteínas...) y ácidos nucleicos (ARN y especialmente ADN). Los fosfolípidos insaturados, los cuales son los mayores elementos constitutivos de las biomembranas son también dianas sensibles a la agresión (especialmente agresiones por oxidación) por agentes tóxicos xenobióticos.

Los efectos dañinos a un organismo (hígado, riñón, pulmón, médula ósea, piel...) o a un sistema (nervioso, digestivo, reproductor...) pueden derivar en una organotoxicidad, a menudo bastante específica.

Los efectos inmunotóxicos pueden aparecer tras una agresión al sistema inmune. Pueden encontrarse más o menos localizados. Varias respuestas, más o menos severas, a esta agresión son las reacciones de hipersensibilización (alergias), efectos inmunodepresivos o inmunosupresivos y procesos auto inmunes.

La detección temprana de estas reacciones inmunotóxicas es posible realizarla mediante pruebas específicas; las alergias producidas por el ambiente de trabajo son normalmente detectadas por la medicina del trabajo.

La modificación de la herencia genética, esencialmente ADN, por agentes xenobióticos genotóxicos conduce a mutaciones que pueden derivar en el desarrollo de una proliferación incontrolada de células (cáncer) si no son reparadas o deficientemente reparadas. Si son infectadas células reproductivas pueden aparecer malformaciones en los descendientes. En los efectos teratogénicos es muy importante la vía. Desafortunadamente, se conoce poco las sustancias que pueden producirlos.

Los efectos carcinógenos son explicados detalladamente en otro capítulo.

En el diagrama 16 aparecen los efectos tóxicos que pueden producir venenos de acción directa o agentes prototóxicos tras una metabolización enzimática.

Algunas sustancias químicas, empleadas en laboratorios de biología y biotecnología, pueden afectar a la salud causando sintomatología por toxicidad aguda o bien efectos a largo plazo.

Hay muchos ejemplos, aquí solo describiremos uno. El formaldehído es un aldehído muy reactivo. Se emplea habitualmente en laboratorios como agente de fijación en histología (hibridación in situ de los genes) o como agente desinfectante.



Podemos encontrarlo en concentraciones en peso entre el 30 y el 56% (en Francia). Contienen diferentes cantidades de metanol (CH_3OH), que estabilizan la solución. También podemos encontrarlo bajo forma sólida como para-formaldehído ($\text{HO}(\text{CH}_2)_n\text{H}$). El para-formaldehído es un polímero lineal utilizado para preparar formaldehído sin metanol. Bajo la forma de vapor, es un irritante ocular y de las vías respiratorias, que puede ser muy corrosivo a grandes concentraciones.

Según la sensibilidad de las personas, las concentraciones irritantes pueden oscilar entre 1-5 ppm y comienzan a ser agresivas entre 10-20 ppm.

Las soluciones acuosas concentradas son cáusticas para la piel. Su ingestión puede ser muy peligrosa, provocando un ataque polivisceral (gastrointestinal, hepático, renal y también pulmonar) y puede derivar en la muerte por coma.

Es fácilmente observable la irritación de las mucosas, pero pueden producir daños más severos a largo plazo con la aparición de patologías respiratorias crónicas (bronquitis...).

El formaldehído tiene un potente carácter alergénico, lo que puede provocar hipersensibilidades cutáneas (eczema, urticaria...) y respiratorias (rinitis, asma...). A veces se han producido choques anafilácticos tras estas hipersensibilidades.

Existen referencias bibliográficas sobre los efectos en la reproducción, especialmente en embarazos problemáticos.

Por otro lado, en experimentación los ataques genotóxicos son muy claros: se han detectado efectos mutagénicos y cancerígenos en ratas (cáncer de las fosas nasales).

Los datos epidemiológicos obtenidos en humanos presentan resultados muy dispares. Se localizan tumores muy diversos (órganos hematopoyéticos, cerebro, colón, laringe, próstata...). Por ello el formaldehído está clasificado como probable carcinógeno en humanos (Categoría 2 de la Directiva 90/394/CEE).

En los hospitales se utiliza una mezcla muy peligrosa: se añade ácido clorhídrico a la disolución acuosa de formaldehído con el fin de aumentar el poder desinfectante. Se puede generar bismrometileter, que es una sustancia volátil, cancerígena en humanos de categoría 1.

El ejemplo del formaldehído nos muestra la posibilidad de un único agente xenobiótico tóxico que ataca a múltiples órganos diana, lo que implica para la prevención frente a este agente volátil, no sólo el uso de protecciones colectivas (extracción...), sino también el empleo de protecciones individuales (mascarillas, guantes, gafas...).

III. Prevención aplicada al riesgo químico

Uno de los principales objetivos de la prevención frente al riesgo químico es evitar la interacción de unos agentes químicos con otros (agua, oxígeno, sustancias incompatibles...) o con elementos vitales constitutivos del organismo. Por norma, los agentes químicos deben ser considerados como sustancias potencialmente peligrosas.

Debemos establecer medidas de protección colectivas y medidas individuales con el fin de controlar el riesgo.

En primer lugar han de aplicar las medidas de protección colectivas frente a las medidas de protección individuales.

Un primer paso en la protección es identificar los peligros y evaluar los riesgos, leyendo las fichas de seguridad de los productos y sustancias químicas.

Las normas generales para la prevención del riesgo químico se encuentran en la Directiva 98/24/CE. Los principios de la prevención se encuentran descritos en el capítulo sobre manipulación de agentes cancerígenos.

A. MEDIDAS COLECTIVAS

En biotecnología deben ser aplicadas las normas generales de trabajo en laboratorios.

1.- Normas generales de funcionamiento

La elaboración de las normas generales de funcionamiento debe ser hecha con precisión y rigurosidad. Deben compaginarse diversos colectivos: los responsables científicos, los servicios de medicina del trabajo, el comité de seguridad y salud y los empleados del laboratorio.

Cualquier modificación importante que se lleve a cabo en el laboratorio debe tenerse en cuenta para mejorar la seguridad en el mismo.

El director del laboratorio es el responsable de la seguridad de sus empleados. Debe hacer que todos respeten las medidas de seguridad. El material de protección necesario debe estar a disposición de los trabajadores. Cada trabajador debe asumir la responsabilidad de su propia seguridad y de la seguridad del resto de los compañeros presentes en el laboratorio.

2.- Instrucciones de seguridad

Las instrucciones de seguridad (generales o especiales, plan de evacuación, números de teléfono de emergencia...) deben estar situadas en un lugar visible y accesible del laboratorio. Estas instrucciones deben ser claras y cortas.

En la puerta del laboratorio debe estar colocado, de forma visible, el pictograma de seguridad, correspondiente al riesgo específico. Por ejemplo, la señal de riesgo biológico en laboratorios que manipulen organismos genéticamente modificados.

Cualquier accidente o incidente debe ser investigado, incluso aquellos considerados menores. Debe ser plasmado por escrito en el formato empleado en la investigación de accidentes. Este documento debe poder ser consultado por cualquier empleado.

3.- Sistemas de ventilación

Un laboratorio en el que se manejan sustancias químicas debe contar con un sistema de ventilación adecuado, con el fin de garantizar la calidad de aire interior.

Los elementos básicos para asegurar esta calidad de aire son muy variados: campanas de gases, cabinas de seguridad biológica, etc.

La ventilación es el mejor sistema de seguridad contra cualquier agente químico, sea cual sea su origen.

Los sistemas de ventilación no deben generar problemas de discomfort en cuanto a ruido y vibraciones.

Todos los sistemas de ventilación deben estar sometidos a un mantenimiento periódico, de al menos, una vez al año.

Los sistemas con filtros, como las campanas de gases, deben contar con filtros apropiados a los agentes químicos que en ellas se manipulan.

4.- Localización de los equipos de seguridad

Debe ser conocida la localización de los equipos de seguridad existentes en el laboratorio:

- Extintores (deben estar operativos)
- Mascarillas contra gases (deben tener los filtros en perfecto estado)
- Mantas ignífugas (libres de asbestos)
- Duchas de seguridad y lavaojos (limpios y operativos)

Los sistemas de corte de agua, gas y electricidad deben ser accesibles y fácilmente localizables.

Las fuentes de peligro asociadas al suministro de gas (equipos con gases, mecheros bunsen...) y electricidad deben limitarse al máximo posible.

Es importante participar en los simulacros y entrenamientos contra incendios y conocer el manejo de los extintores y máscaras de gases.

5.- Buenas prácticas de laboratorio

- Un laboratorio debe estar limpio y ordenado: instalaciones, servicios e instrumentos deben estar en perfecto estado y mantenerlos limpios.
- Los espacios reservados para la manipulación, pasillos y salidas de emergencia deben estar sin ningún obstáculo.
- Las puertas cortafuegos deben permanecer cerradas.
- El suelo debe estar limpio y libre de obstáculos y objetos almacenados.
- Los lugares de trabajo deben estar limpios.
- Los lugares de trabajo deben estar libres de aparatos y contenedores que no son necesarios para el trabajo. Al finalizar el trabajo todo debe limpiarse y cada trabajador responsabilizarse de que sus residuos se encuentran en el contenedor apropiado.
- Los contenedores se deben situar en cubos idóneos o en estanterías reservadas para este uso.
- Las cabinas de ventilación o extracción de humos no deben emplearse para el almacenamiento de productos químicos o de pequeño instrumental de laboratorio.
- El vidrio roto o dañado debe ser repuesto inmediatamente.

- Las agujas o piezas cortantes (escarpelos, cutter...) deben desecharse en contenedores específicos.
- Nunca deben reencapucharse las agujas.

6.- Almacenamiento de productos químicos.

El almacenamiento de productos químicos en un laboratorio debe seguir un control riguroso, especialmente en cuanto a las cantidades almacenadas:

- Líquidos inflamables: evitar contenedores de vidrio de más de 1 l, de disolventes muy inflamables.
- Corrosivos: bases y ácidos fuertes, poderosos oxidantes, ácidos halogenados...
- Sustancias o productos que reaccionan vigorosamente con el agua: metales alcalinos, hidruros, compuestos organometálicos...
- Sustancias o productos que reaccionan vigorosamente con el oxígeno: fósforo, fosfina, boranos...

Deben ser separados los productos incompatibles y cuando sea posible tenerlos reagrupados por familias:

- Ácidos minerales fuertes.
- Bases minerales fuertes.
- Agentes oxidantes fuertes.
- Agentes reductores fuertes.
- Sustancias sensibles al agua.
- Sustancias sensibles al oxígeno.

Para su almacenamiento se debe emplear.

- Bandejas de plástico resistente.
- Estanterías de acero con cobertura específica contra agentes químicos.

Todos los contenedores deben tener el etiquetado en buen estado.

Deben existir listas de todos los productos almacenados. Los stocks deben revisarse periódicamente.

No almacenar grandes cantidades de líquido inflamable en el laboratorio. La cantidad almacenada debe ser inferior a las necesidades de dos días de trabajo.

Los disolventes inflamables deben almacenarse en armarios específicos especialmente equipados. Si se almacenan en tanques, éstos han de cumplir con la legislación pertinente.

7.- Medidas higiénicas

Deben respetarse unas medidas elementales de higiene:

- La ropa de trabajo en el laboratorio no debe ser de fibra sintética.
- Se deben lavar las manos tras cada manipulación.
- El pelo largo debe estar recogido.
- No almacenar comida o bebidas en la nevera destinada a reactivos del laboratorio.

Prohibir la ingestión de alimentos, bebidas (especialmente en vidrio de laboratorio) o fumar en los lugares de trabajo. Si es posible habilitar una habitación para el descanso y comidas del personal.

Limpieza diaria de los suelos evitando la acumulación de suciedad por derrame de productos químicos.

B.- MEDIDAS INDIVIDUALES

Para trabajar con la máxima seguridad en el laboratorio, deben respetarse diversas medidas de protección individual.

1.- Protección de los ojos

Las proyecciones y explosiones suelen ocurrir de forma inesperada, entre los accidentes que ocurren en los laboratorios, los más frecuentes y de los más serios son con daños en los ojos, por ello en el laboratorio se deberán llevar gafas de protección.

En el caso de manipulaciones con más riesgo se deberá trabajar bajo campana de gases encendida y con una pantalla deslizante de policarbonato que proteja al operador.

2.- Protección de las manos

Las sustancias químicas corrosivas (ácidos y bases fuertes, agentes oxidantes...) y las que pueden penetrar con facilidad a través de la piel (derivados nitrados, aminas aromáticas, disolventes apolares...) deben manipularse con el guante más idóneo al riesgo que queremos evitar (algodón, látex, vinilo, fluorocarbonados...)

La selección de los guantes depende de la clase de sustancia química manipulada, aunque no se asegura la total protección frente a la penetración cutánea. En los trabajos con material de vidrio a menudo ocurren accidentes (cortes superficiales o incluso tendones), para evitarlos se deberá estar correctamente protegido, con el guante adecuado o tenazas, durante estas operaciones.

3.- Protección de las vías respiratorias

El trabajo con gases tóxicos (fosgeno, cloro, ácido sulfhídrico, monóxido de carbono...) deberá realizarse con máscaras protectoras de las vías respiratorias y, en algunos casos, con aporte de aire. Nunca deben emplearse máscaras con cartuchos

cuando el porcentaje del gas en el aire es superior al 2%. Es muy importante conocer la localización de las máscaras con aporte de aire y como utilizarlas, en caso de accidente o necesidad.

Para mejorar las condiciones de trabajo y prevenir la aparición de enfermedades profesionales es importante fijar los valores límites de exposición profesional (TLV americanos, MAC alemanes, VLA españoles, VME y VLE franceses...). El único problema es que estos valores se fijan para las sustancias puras y en un laboratorio no suelen darse esas condiciones, sino que nos encontramos con mezclas y otros efectos que pueden potenciar su riesgo (radioactividad, agentes biológicos...).

4.- Protección general del cuerpo

El personal debe llevar ropa de trabajo de algodón (nunca sintética) y respetar las normas de higiene corporal (lavado de manos...).

Como norma, nunca trabajar solo, sobre todo de noche o durante festivos.

MANEJO DE COMPUESTOS CARCINÓGENOS, MUTAGÉNICOS Y TÓXICOS PARA LA REPRODUCCIÓN

Marcel Castegnaro

Debe tenerse una especial precaución cuando se manejen, almacenen o se transporten sustancias carcinógenas, mutagénicas o tóxicas para la reproducción. Deben almacenarse separadas de las demás sustancias, en armarios cerrados y con la señal de “PELIGRO. SUSTANCIAS CANCERÍGENAS”. Las habitaciones donde se almacenen o manipulen estos compuestos deben identificarse con la misma señal. Además debe añadirse la señal de peligro de sustancias muy tóxicas.

Adquisición y almacenamiento de carcinógenos en grandes cantidades

En los edificios con diversos laboratorios, las sustancias cancerígenas deben almacenarse juntas. La dispersión de las mismas en diversos puntos de almacenamiento aumenta el riesgo. Debe nombrarse a una persona responsable en cada sección de la empresa que supervise los pedidos y el registro de estos compuestos, su manipulación y eliminación como residuo tóxico o como compuesto inutilizado. El almacén debe estar tan cercano, como sea posible, del lugar donde se preparen las soluciones primarias, con el fin de eliminar el riesgo por derrame durante el traslado.

Para eliminar la presencia de un mismo compuesto en diferentes secciones de la empresa, todos los compuestos deben registrarse a su llegada y mantenerse actualizado el inventario por la persona responsable. Cada compuesto se identificará con un número (con el fin de facilitar su retirada) y se registrará en el inventario en una hoja especial, que al menos contenga la siguiente información:

- Nombre común.
- Distribuidor o fabricante.
- Fecha de recepción.
- Cantidad recepcionada.
- Nombre de la persona que solicitó el compuesto.
- Cantidad sacada del almacén, cuándo y por quién.
- Número dado al compuesto y su localización en el almacén.

Además esta hoja debe contener la siguiente información:

- Nombre oficial del compuesto, fórmula química y número CAS con el fin de facilitar su búsqueda informática.
- Propiedades fisicoquímicas, tóxicas y ecotóxicas.
- Condiciones de almacenamiento y forma de eliminarlo.

Tras recepcionar y registrar los compuestos (bajo forma sólida o líquida) en sus contenedores originales, se introducirán en contenedores resistentes a los choques y al contenido. Pueden utilizarse contenedores de acero, los cuales en caso de accidente presentan la ventaja de su fácil descontaminación.

El almacenamiento de estos compuestos se realizará en armarios ventilados con filtros para el aire evacuado, refrigeradores o congeladores, cerrados con llave y colocados en áreas ventiladas, cuyo acceso esté limitado sólo a las personas que hayan de manejarlos. Este área será clasificada como “ÁREA CONTROLADA” y aparecerá el cartel “PELIGRO. SUSTANCIAS CANCERÍGENAS” y la señal de peligro de sustancias muy tóxicas.

La persona responsable de la llave de esa zona o del armario, sólo permitirá el acceso a personas autorizadas y se asegurará que las hojas con los datos estén perfectamente rellenas. En el caso de que el centro de trabajo cuente con códigos de barras para el acceso a las diferentes zonas del edificio, la zona de almacenamiento de cancerígenos deberá contar con esta medida de seguridad. Esto facilita el seguimiento de las personas que acceden a ese área. De todos modos, habrán de colocarse señales y carteles, avisando del peligro a los potenciales usuarios y a las personas que se encuentren en el exterior de esta zona.

Las sustancias gaseosas carcinógenas, mutagénicas o tóxicas para la reproducción y otros compuestos tóxicos, sólo se utilizarán en las dependencias equipadas para la manipulación de gases tóxicos.

Tras recepcionar y registrar los compuestos gaseosos, se almacenarán en habitaciones especiales, adecuadamente ventiladas, dotadas con un sistema de extracción, debidamente equipado con filtros y con una eficacia comprobada. Todos los equipos eléctricos (incluidas neveras y congeladores, si se utilizan para almacenar estas sustancias) deben tener puesta a tierra. Los contenedores deben ser estancos y periódicamente ha de comprobarse la estanqueidad. Se mantendrán separados de las fuentes de calor y de la electricidad estática.

Para sólidos o líquidos cancerígenos, esta zona será clasificada como “ZONA CONTROLADA”. La persona responsable de la llave de esa zona o del armario, sólo permitirá el acceso a las personas autorizadas y se asegurará que las hojas con los datos estén perfectamente rellenas. Habrán de colocarse señales y carteles avisando del peligro a los potenciales usuarios y a las personas que se encuentren en el exterior de esta zona.

Preparación y almacenamiento de soluciones madre

Solamente el personal autorizado, por la persona responsable, puede entrar en la zona donde los cancerígenos se encuentran sin diluir. Debe protegerse adecuadamente (ropa, guantes, mascarillas,...). Los equipos de protección individual a utilizar dependerán del estado físico del compuesto a manipular, como veremos más adelante.

Tras sacar los compuestos del armario de almacenamiento se trasladan al área de trabajo donde se va a preparar la solución, (preferiblemente una campana de gases o una cabina de flujo laminar con filtro de carbón activo). Se tomará una alícuota para la preparación de la solución madre. Si esta zona no está cercana a la de almacenamiento, los compuestos deben ser transportados en contenedores irrompibles y a prueba de derrames. Los matraces conteniendo los compuestos deben asegurarse en contenedores con agentes absorbentes (ej.: vermiculita o similar).

Si los compuestos están almacenados en nevera o congeladores, deben dejarse que alcancen la temperatura ambiente antes de abrirlos. Esto evitará problemas de condensación, los cuales pueden dar errores en la pesada (para compuestos higroscópicos o húmedos) y de

descomposición, para ciertos compuestos inestables en presencia de humedad. Con el fin de permitir que el compuesto alcance la temperatura ambiente, el matraz se colocará en una base que lo haga más estable (bases de acero son útiles por su fácil descontaminación, también puede utilizarse bases esmaltadas, pero habrá de asegurarse de que esté intacta); cubierta con papel (por un lado resistente al agua y absorbente por el otro, colocando este lado hacia el matraz). Si el compuesto es fotosensible, debemos proteger el matraz de la luz. Durante este período de tiempo la cara frontal de la campana debe permanecer cerrada.

Cuando se tome una alícuota no debe ajustarse el peso, se ajustará el volumen del solvente con el fin de obtener la concentración deseada. Intentar ajustar el peso de la alícuota removiendo o añadiendo compuesto aumenta el riesgo del operario.

La alícuota se colocará en un matraz, con volumen suficiente para una primera disolución. El matraz debe contar con tapón ajustable. Deberá ser tarado en la balanza con el tapón, tras abrirse se colocará sobre un papel absorbente en su base (algunos laboratorios proponen colocar la balanza dentro de la campana. Esto tiene dos desventajas: 1) es muy difícil, casi imposible pesar con precisión en una campana funcionando; 2) en el caso de accidente, ej.: un derrame, la balanza se contaminará y es difícil descontaminar dentro de la campana. Por lo tanto se recomienda colocar la balanza lo más cercana posible a la campana y no dentro). Tras tomar la alícuota y transferirla al matraz debe cerrarse inmediatamente. El peso de la alícuota se determinará mediante doble pesada. Se calculará la cantidad de solvente necesaria para obtener la concentración deseada en la primera dilución (los procedimientos de seguridad se adoptarán según el tipo de producto). Se deberá etiquetar el matraz. La etiqueta contendrá la siguiente información: nombre del compuesto, naturaleza del solvente, concentración, fecha de preparación y nombre de la persona que ha realizado la preparación.

La alícuota ya ha sido preparada, el matraz del producto concentrado será cerrado inmediatamente, y se guardará en su almacén tomándose las mismas precauciones que al cogerlo.

Después de preparar la solución madre, los matraces etiquetados se colocarán en contenedores con agente absorbente (vermiculita o similar), irrompibles y a prueba de derrames. Se trasladarán al laboratorio donde se vayan a utilizar y se almacenarán en él en los contenedores especiales, en neveras protegidas contra la deflagración y equipadas con alarma, en el caso de mal funcionamiento.

Transporte de cancerígenos

Se van a estudiar las dos posibilidades. Transporte de los cancerígenos y mutágenos dentro de un mismo centro de trabajo o de un centro a otro por carretera, tren o avión.

Transporte de los cancerígenos dentro de un centro de trabajo

El transporte se realizará a un laboratorio diseñado para la manipulación de estos compuestos y donde el personal conozca el peligro y la forma de trabajar con ellos. Debe evitarse la diseminación de la sustancia durante el transporte por medio del confinamiento en contenedores apropiados. A este respecto, los matraces se colocarán en contenedores que no puedan abrirse solos, en caso de caída. Se asegurarán en el interior con material absorbente, tipo vermiculita. El transporte en recipientes de acero está muy indicado, ya que presentan la

ventaja de que en caso de rotura del matraz durante el transporte, permiten la descontaminación directa por medio de técnicas químicas.

Transporte de los cancerígenos fuera de un centro de trabajo

Este tipo de transporte involucra a una población que no está informada acerca de los riesgos de estos compuestos, lo que los hace más vulnerables. Deben tomarse todas las precauciones necesarias para evitar roturas accidentales, y en caso de rotura, deberá minimizarse el riesgo para las personas evitando su contacto con el compuesto.

Se adoptarán las siguientes precauciones:

- a) El compuesto se colocará en un tubo tapado contra derrames; con el fin de evitar la apertura del tapón se fijará con parafilm o una tapa adhesiva.
- b) El tubo se colocará en un contenedor de plástico con la boca ancha, relleno de material absorbente, el cual sirve para dos propósitos: como comprobante de que no ha habido fugas o como absorbente, en caso de que las haya.
- c) El contenedor se coloca en una caja a prueba de golpes (poliestireno o rellena con bolitas de poliestireno).

El transporte por carretera ha de seguir el Acuerdo Europeo de 30 de septiembre del 2000, y las Directivas 94/55/CE y 2000/61/CE sobre el transporte de mercancías peligrosas por carretera.

El transporte aéreo ha de hacerse siguiendo la normativa de la IATA.

Precauciones en la manipulación de cancerígenos químicos

Los procedimientos de manipulación de los cancerígenos químicos deben estar adaptados a las propiedades fisicoquímicas de los compuestos. Debiendo tener en cuenta, estas tres presentaciones:

- 1) Compuestos volátiles (trabajo bajo campana o cabina).
- 2) Compuestos no volátiles.
- 3) Polvos electrostáticos.

Manejo de cancerígenos volátiles

La muestra de la alícuota de un cancerígeno volátil siempre ha de manipularse bajo campana¹, equipada con un filtro de carbón activo y mantenida a presión negativa con respecto al laboratorio. El “U.S. Department of Health Education and Welfare” recomienda una velocidad de aire mínima de 0.5 m/s en la campana². Es muy importante asegurarse que en la superficie de trabajo de la campana esté el equipo mínimo necesario para el trabajo a desarrollar. Demasiados instrumentos pueden generar turbulencias y ocasionar el retorno de

¹ Lo ideal es mantener la campana en funcionamiento constantemente. Si no es posible se mantendrá funcionando, al menos una hora después de terminar.

² Cuando se oiga funcionar el ventilador teóricamente la campana está extrayendo. Esto suele ser cierto, pero en el caso de cancerígenos deberá asegurarse y comprobar la eficiencia de la extracción mediante la medición del caudal o por medios visuales.

los vapores de las sustancias cancerígenas a la atmósfera del laboratorio, exponiendo al trabajador a sus efectos tóxicos.

El trabajador llevará ropa de trabajo de color diferente a la que se utiliza en el resto de la empresa. También llevará gafas de seguridad y guantes adaptados al compuesto manipulado³.

Los matraces conteniendo el cancerígeno se situarán sobre bases de retención (de acero, ya que la superficie es de fácil descontaminación, también pueden utilizarse bases esmaltadas pero asegurándose de que están intactas) cubiertas con papel absorbente (la cara impermeable sobre el banco y la absorbente hacia el matraz).

Cuando se trabaja con compuestos con alta presión de vapor, es recomendable utilizar un equipo de respiración autónomo.

Manejo de cancerígenos volátiles en una incubadora

Cuando se manejan cancerígenos volátiles en una incubadora (ej.: incubación de placas Petri para el test de mutagenicidad), lo primero es verificar que la incubadora cuenta con un sistema de aspiración. Antes de abrir la incubadora, deberá dejarse aspirar el aire durante 30 min., para eliminar todos los compuestos que hayan podido evaporarse a la atmósfera y contaminarla. El aire se extraerá mientras haya placas. El agua se tratará como residuo.

Manejo de cancerígenos no volátiles

El manejo de la alícuota de un cancerígeno químico no volátil debe hacerse bajo campana, equipada con filtros HEPA y mantenida a presión negativa con respecto al laboratorio. El “U.S. Department of Health Education and Welfare” recomienda una velocidad de aire mínima de 0.5 m/s en la campana. Es muy importante asegurarse que en la superficie de trabajo de la campana esté el equipo mínimo necesario para el trabajo a desarrollar. Demasiados instrumentos pueden generar turbulencias y ocasionar el retorno de los vapores de las sustancias cancerígenas a la atmósfera del laboratorio, exponiendo al trabajador a sus efectos tóxicos.

El trabajador llevará ropa de trabajo de color diferente a la utilizada en el resto de la empresa. También llevará gafas de seguridad y guantes adaptados al compuesto manipulado.

Los matraces conteniendo el cancerígeno se situarán sobre bases de retención (de acero, ya que la superficie es de fácil descontaminación, también pueden utilizarse bases esmaltadas, pero asegurándose de que están intactas); cubiertas con papel absorbente (la cara impermeable sobre el banco y la absorbente hacia el matraz).

Manejo de polvos electrostáticos

El manejo de una alícuota de un cancerígeno químico en forma pulverulenta debe hacerse bajo campana, equipada con filtros HEPA y mantenida a presión negativa con respecto al laboratorio. El “U.S. Department of Health Education and Welfare” recomienda una velocidad de aire inferior a 0.5 m/s en la campana, ya que velocidades superiores pueden provocar la dispersión del polvo. Es muy importante asegurarse que en la superficie de trabajo

³ Ver la sección siguiente sobre las precauciones con los guantes.

de la campana esté el equipo mínimo necesario para el trabajo a desarrollar. Demasiados instrumentos pueden generar turbulencias y ocasionar el retorno del polvo y/o los vapores de las sustancias cancerígenas a la atmósfera del laboratorio, exponiendo al trabajador a sus efectos tóxicos.

El trabajador llevará ropa de trabajo de color diferente a la que se utiliza en el resto de la empresa. También llevará gafas de seguridad y mascarilla. Los guantes serán de algodón, ya que los de látex o vinilo favorecen la dispersión del polvo por efecto electrostático. Una vez diluido el polvo, los guantes utilizados serán adaptados al compuesto obtenido.

Los matraces conteniendo el cancerígeno se situarán sobre bases de retención (de acero, ya que la superficie es de fácil descontaminación, también pueden utilizarse bases esmaltadas pero asegurándose de que están intactas); cubiertas con papel absorbente (la cara impermeable sobre el banco y la absorbente hacia el matraz).

Riesgos derivados del material de los guantes

Numerosos estudios han demostrado la permeabilidad de los guantes a ciertos compuestos químicos. Esta permeabilidad depende de la naturaleza del material. El tiempo de protección está condicionado tanto por la resistencia del material al producto químico, como por el grosor del guante.

Los compuestos carcinógenos y mutagénicos también pueden atravesar el guante como han demostrado algunos estudios. Esta permeabilidad depende del compuesto en sí, pero también del solvente en el que se diluya.

En 1977, Weeks y Dean demostraron que las aminas aromáticas podían traspasar el guante si se encontraban diluidas en metanol (Tabla 1). En media hora de contacto con anilina sin diluir, se detectaban 67 µg/ml de anilina en la solución que había en el interior de los guantes quirúrgicos de látex grueso.

Las N-nitrosaminas han sido estudiadas por diversos investigadores (Gough et al., 1981; Sansone y Tiwari, 1981; Walkers et al., 1981). Ellos demostraron la difusión a través de los guantes de látex de compuestos diluidos y sin diluir, así como de soluciones de cloruro de metileno (Walter et al, 1981). En 4 min., entre 5-15 µg/ml de N-nitrosodimetilamina (NDMA) o N- nitrosodimetilamina depositadas en el exterior del guante de látex lo traspasaba, pasando a la disolución salina del interior del guante. Para mejorar la protección se puede utilizar dos pares de guantes con talco entre ambos (Tabla 2) y una crema barrera sobre la piel. Cuando se estudia la transferencia del NDMA sin diluir y se utilizan dos pares de guantes con talco entre ambos, se reduce la transferencia en 4 min. a 0.5 µg/ml (ej.: por un factor >10). No se detecta NDMA si se utilizan dos pares de guantes con una crema barrera entre ambos. De forma similar, la transferencia de NDMA disuelta en cloruro de metileno se reduce en un 8% en 10 min., y a un 0.5% si se utilizan dos pares de guantes con una crema barrera entre ambos. Esto permite tiempo suficiente para sustituir el guante contaminado por otro nuevo. Gough et al., (1991), demostraron que las N-nitrosaminas diluidas en hexano penetraban a través de los guantes de látex y vinilo; la N-nitrosopirrolidona se transfería con mayor rapidez en todos los casos. Sansone y Tiwari (1981), han demostrado que las nitrosaminas se difunden a través de los guantes de látex, PVC y neopreno. Las soluciones de cloruro de metileno se difunden también a través de todos los tipos de guantes. Para las soluciones en acetona, los guantes de látex presentan una mejor protección, aunque no completa. Para las soluciones en etanol, los

guantes de nitrilo y neopreno son los más eficaces. Finalmente, para las soluciones acuosas los mejores guantes son los de nitrilo.

Mientras las N-nitrosaminas son pequeñas moléculas en forma líquida, podemos preguntarnos si hay riesgo de permeación con moléculas de mayor tamaño. Castegnaro et al. (1982) investigaron la transferencia de aflatoxinas disueltas en dimetilsulfóxido o cloroformo. Cuando se disolvían en dimetilsulfóxido, las aflatoxinas no eran capaces de atravesar los guantes de látex; pero sí, los de vinilo. Cuando se disolvían en cloroformo, las aflatoxinas atravesaban los dos tipos de guantes, y además producían daños mecánicos en los mismos, erosionando el material.

Dos estudios han demostrado que una serie de agentes antineoplásicos (algunos de ellos cancerígenos en humanos y otros, posibles cancerígenos en humanos) se difunden a través de los guantes. Connors et al. (1984) lo demostraron por dos métodos, análisis químico y prueba de mutagenicidad, que la carmustina se difundía a través de los guantes de látex y vinilo, mejorando la protección, el uso de doble guante. Laidlaw et al. (1984) han investigado la permeabilidad de 20 antineoplásicos (carmustina, ciclofosfamida, ifosfamida, mercaptopurina, melfalan, tiotepa, mitoxantrona, dacarbacina, etoposide, teniposide, 5-Fu, floxuridina, cisplatino, daurubicina, mecloretamina, doxorubicina, bleomicina,...) a través de 4 tipos de guantes. El test se realizó por un período de 90 min. empleando las disoluciones anteriores, de acuerdo a las especificaciones del fabricante. Los resultados fueron:

- Guantes de PVC finos: permeabilidad a todos los compuestos probados.
- Guantes de PVC gruesos: permeabilidad a 4 compuestos (carmustina, tiotepa, daurubicina y mecloretamina). Se inició la transferencia de doxorubicina y mercaptopurina.
- Guantes de látex para examen: permeabilidad a 4 compuestos (carmustina, tiotepa, mecloretamina y ciclofosfamida).
- Guantes de látex quirúrgicos: permeabilidad a tiotepa.

Connors et al. (1999) han demostrado la eficacia protectora de los guantes de nitrilo (grosor 0.10-0.15 mm), de látex (grosor 0.18-0.22 mm), de poliuretano (grosor 0.13-0.15 mm), frente a la permeabilidad de 18 soluciones reconstituidas de citostáticos preparadas de acuerdo a las especificaciones del fabricante. La prueba se realizó para 30, 60, 90 y 120 min. Para los guantes de nitrilo más del 5% de la tiotepa había pasado en 30 min., atribuyéndose a los microagujeros del guante. Esto demuestra lo importante que es verificar visualmente los guantes para evitar este tipo de problemas. Para los otros 11 pares de guantes de nitrilo no se detectó ninguna transferencia. En una muestra de cada tipo de guante (látex, poliuretano y vinilo) se detectó, menos de un 1% de permeabilidad. Uno de los pares de látex fue permeable a la carmustina a los 90 min. El paclitaxel se difundió a través de los guantes de poliuretano a los 60 min., y a través de los de neopreno a los 120 min. Esto lleva a la conclusión: eliminando el problema de los microagujeros, hay 4 tipos de guantes aceptables para la manipulación de 18 citostáticos durante un período de 30 min., tiempo máximo de uso antes de cambiarse el guante.

Este estudio demostró que todos estos compuestos, incluidos los carcinógenos, pueden traspasar los guantes cuando se encuentran disueltos en un solvente que reacciona con el material del guante. Además, muchos compuestos cuyo estado natural es líquido pueden penetrar a través del guante. Por tanto es necesario extremar las precauciones cuando se manipulan estos productos y cambiarse el guante, cada vez que se detecte su contaminación.

Ya en 1987, Turjamaa detectó reacciones alérgicas a los guantes de látex entre el personal del hospital finlandés. Este trabajo fue el inicio de este tema en otras profesiones (médicos, enfermeros, técnicos de laboratorio, etc.) además de pacientes en EE.UU., Canadá, Francia, Bélgica,, España, Australia, Holanda, Israel, Taiwán, etc. Las manifestaciones clínicas incluyen urticaria, dermatosis, anafilaxis, desórdenes respiratorios como: asma, rinitis, conjuntivitis. La prevención de estos desórdenes incluye el uso de guantes de algodón o vinilo junto a la piel, desensibilización, utilizar guantes sin polvo de talco, o en último caso, cambiar de puesto de trabajo (Hudgins et al., 1993; Salkie, 1993; Yassin et al., 1994; Tarlo et al., 1994; Swanson et al., 1994; Moneret-Vautrin et al., 1994; Rustmeyer et al., 1994; Vandemplas et al., 1995; Ortiz et al., 1995; Hunt et al., 1995; Estlander et al., 1996; Katelaris et al., 1996; Liss et al., 1997; Ylitalo et al., 1997; Lai et al., 1997; De Groot et al., 1998; Vila et al., 1999; Levy et al., 1999; Charous et al., 2000; Tarlo, 2001).

Tabla 1 : Transferencia de aminas aromáticas a través de guantes (de Week & Dean, 1987)

* MOCA : Methylenebis (2-chloroaniline)

Amina Aromática	Concentración (µg/ml)	Primera medida de la concentración tras la transferencia (µg/ml)	Tiempo de permeabilidad (horas)
Anilina	2400	22	18,0 ± 2,0
Anilina	11000	8	1,75 ± 1,0
Anilina	Pure	67	0,50 ± 0,25
MOCA*	1900	29	2,00 ± 0,50
MOCA*	9800	37	1,5 ± 0,5

Tabla 2 : Guantes y N-nitrosaminas, transferencia a través de dos pares de guantes de látex separados por una capa de talco.

Tiempo (min)	NITROSAMINA PROBADA (%transferencia)						
	NDMA	NDEA	NDPA	NDBA	NMPA	NPYR	NPIP
2	0,1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
8	0,4	0,1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
15	2,3	0,4	n.d.	n.d.	n.d.	0,3	0,15
20	2,5	0,4	n.d.	n.d.	n.d.	0,4	0,2
30	4,1	0,7	n.d.	n.d.	n.d.	1,9	0,3

NDMA: N-nitrosodimetilamina

NDEA: N-nitrosodietilamina

NDPA: N-Nitrosodipropilamina

NDBA: N-nitrosodibutilamina

NPIP: N-nitrosopiperidina

NPYR: N-nitrosopirrolidina

BIBLIOGRAFÍA

- Barbeito, M., S. Laboratory design and operation procedures for chemical carcinogen use. ACS symposium series N° 96, Toxic chemical and explosives facilities, Ralph A. Scott, Jr (Ed.). (1979).
- Castegnaro, M., Sansone, E., B. Chemical carcinogens: some guidelines for handling and disposal in the laboratory. Springer Verlag, Berlin. (1986).
- Castegnaro, M., Van Egmond, H., P., Paulsch, W., E., Michelon, J. Limitations in protection afforded by gloves in laboratory handling of aflatoxins. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 65: 1520-1523. (1982).
- Charous, B., L., Schuenemann, P., J., Swanson, M., C. Passive dispersion of latex aeroallergen in a healthcare facility. Ann Allergy Asthma Immunol, 85: 285-290. (2000).
- Colligan, S., A, Horstman, S., W. Permeation of cancer therapeutic drugs through glove materials under static and flexed conditions. Applied Occupational and Environmental Hygiene, 5: 848-852. (1990).
- Conférence internationale du travail, Recommandation 147: Recommandation concernant la prévention et le contrôle des risques professionnels causés par les substances et agents cancérigènes, 24 juin 1974.
- Connor, T., H. et al. (1984) Permeability of latex and polivinyl glove to carmustine. American Journal of Hospital Pharmacy, 41: 676-679.
- Connor, T., H. Permeability of nitrile rubber, latex, polyurethane and neoprene gloves to 18 antineoplastic drugs. American Journal of Health-System Pharmacy, 56: 2450-2453. (1999).
- De Groot, H., De Jong, N., W., Duijster, E., Gerth Van Wijk, R., Vermeulen, A., Van Toorenenbergen, A., W., Geursen, L., Van Joost, T. Prevalence of natural rubber latex allergy (type I and type IV) in laboratory workers in The Netherlands. Contact Dermatitis, 38: 159-163. (1998).

- DHEW Laboratory chemical carcinogen safety standards subcommittee of the DHEW committee to coordinate toxicology and related programs: Guidelines for the laboratory use of chemical substances posing a potential occupational carcinogenic risk. May 2, 1979. (1979).
- ECETOC Monograph N° 2, Septiembre 1980: A contribution to the strategy for the identification and control of occupational carcinogens. (1980).
- ECETOC Monograph N° 3, Janvier 1982: Risk assesment of occupational chemical carcinogens. (1982).
- Estlander, T., Jolanki, R., Kanerva, L. Rubber glove dermatitis: a significant occupational hazard-prevention. *Curr Probl Dermatol*, 25: 170-176. (1996).
- Gough, T., A., Webb, K., S., McPhail, M., F. Diffusion of nitrosamines through protective gloves. In: Environmental aspects of N-nitroso compounds, Walker, E., A., Castegnaro, M., Grieciute, L., Lyle, R., E. Editors, IARC Scientific Publication N° 19, 531-534. (1978).
- Hudgins LB, Hamdy RC, Miller MP. Anaphylaxis due to latex. *South Med J.*, 86: 948-949. (1993).
- Hunt, L., W., Fransway, A., F., Reed, C., E., Miller, L., K., Jones, R., T., Swanson, M., C., Yunginger, J., W. An epidemic of occupational allergy to latex involving health care workers. *J Occup Environ Med*, 37 : 1204-1209. (1999).
- Montesano, R., Bartsch, H., Boyland, E., Della Porta, G., Fishbein, L., Griesemer, G., Swan, A., B., Tomatis, L. IARC Handling chemical carcinogens in the laboratory: Problems of safety. Editors IARC scientific publications N° 33. Pp 32. (1979).
- INRS ED 490: Sécurité dans les manipulations scientifiques. (1982).
- INRS, ND 1178-95-79 Travaux dans les Laboratoire de Chimie. 2. Stockage des produits chimiques.
- INRS, ND 1313-103-81 Travaux dans les laboratoires de chimie. 1. Données de bases relatives aux travaux dans les laboratoires de chimie.
- INRS, ND 1320-103-81 : Affiches, consignes, avis et pancartes réglementaires.
- INRS, ND 1543-120-85 Prévention des cancers d'origine professionnelle. Circulaire du 14 mai 1985. (J.O. du 6 juin 1985).
- Katelaris, C., H., Widmer, R., P., Lazarus, R., M. Prevalence of latex allergy in a dental school. *Med J Aust*, 164: 711-714. (1996).
- Lai, C., C., Yan, D., C., Yu, J., Chou, C., C., Chiang, B., L., Hsieh, K., H. Latex allergy in hospital employees. *J Formos Med Assoc*, 96: 266-271. (1997).
- Liss, G., M., Sussman, G., L., Deal, K., Brown, S., Cividino, M., Siu, S., Beezhold, D., H., Smith, G., Swanson, M., C., Yunginger, J., Douglas, A., Holness, D., L., Lebert, P., Keith, P., Wasserman, S., Turjanmaa, K. Latex allergy: epidemiological study of 1351 hospital workers. *Occup Environ Med*, 54 : 335-342. (1997).
- Laidlow, J., Connors, T., H., Theiss, J., C., Anderson, R., W., Matney, T., S. Permeability of latex and polyvinyl glove to 20 antineoplastic agents. *American Journal of Hospital Pharmacy*, 41: 2613-2623. (1984).
- Levy, D., Allouache, S., Chabane, M., H., Leynadier, F., Burney, P. Powder-free protein-poor natural rubber latex gloves and latex sensitization. *JAMA*, 281: 988. (1999).

- Moneret-Vautrin, D., A., Debra, J., C., Kohler, C., SStringini, R., Kanny, G., Guillaumot, A., Buthmann, D. Occupational rhinitis and asthma to latex. *Rhinology*, 32: 198-202. (1994).
- NIH National cancer institute safety standards for research involving chemical carcinogens. DHEW Publication N° (NIH)75-900, 2 June 1975. (1975).
- NIH guidelines for the laboratory use of chemical carcinogens US department of health and human services, National Institutes of Health, Washington. Pp 15. (1981).
- OMS Manuel de sécurité biologique en laboratoire, 1984. (1984).
- Ortiz, J., R., Garcia, J., Archilla, J., Criado, A. Latex allergy in anesthesiology. *Rev Esp Anesthesiol Reanim*, 42: 169-174. (1995)
- Picot, A., Castegnaro, M. Risques liés à la manipulation des produits cancérogènes. *Partie B. L'Actualité Chimique*, Janvier-Février: 79-85. (1989)
- Picot, A., Grenouillet, P. La sécurité en laboratoire de chimie et biochimie. *Technique et Documentation Lavoisier*, Paris, 2nd Ed. (1992)
- Picot, A. *Information Toxicologique n° 4 : Liste provisoire de quelques cancérogènes chimiques pour l'Homme*. CNRS, Institut de Chimie des Substances Naturelles - Gif sur Yvette. (1988)
- Picot, A. *Information Toxicologique n° 5 : les agents alkylants: cancérogènes potentiels pour l'Homme ?* CNRS, Institut de chimie des substances naturelles, Gif sur Yvette. (1988)
- Picot, A., Zerbib, J., C., Castegnaro, M. Risques liés à la manipulation des produits cancérogènes et réglementation française sur les produits cancérogènes; *Partie D: listes réactualisées des principaux produits génotoxiques utilisés dans les laboratoires*. *L'actualité chimique*, Juillet Aout Septembre 1993: 44-49. (1993).
- Rappaport, S., M., Campbell, E., E. The interpretation and application of OSHA carcinogen standards for laboratory operations. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 37, December 1976. (1976).
- Rousselin, X., Dayan- Kenigsberg, J., Pleven, C., Castegnaro, M., Picot, A., Zajdela, F. Manipulation des substances génotoxiques utilisées au laboratoire, prévention et sécurité. *Publication INRS, Ligne Prévention*. (1994).
- Rustemeyer, T, Pilz, B, Frosch, P., J. Contact allergies in medical occupations. *Hautarzt*, 45: 834-844. (1994).
- Salkie, M., L. The prevalence of atopy and hypersensitivity to latex in medical laboratory technologists. *Arch Pathol Lab Med.*, 117: 897-899. (1993).
- Sansone, E., B., Poiley, J., A., Pienta, R., J., Lebherz, W., B. Potential hazard of tissue culture assays arising from carcinogenic compounds incompletely removed by washing. *Cancer Research*, 36: 2455-2458. III (1976).
- Sansone, E., B., Tewari, Y., B. The permeability of laboratory gloves to selected nitrosamines. In: *Environmental aspects of N-nitroso compounds*, Walker, E., A., Castegnaro, M, Griçute, L., Lyle, R., E. Editors, IARC Scientific Publication N° 19: 535-543. (1978).
- Segal, A., Loewwengart, G. *Laboratory of organic chemistry and carcinogenesis*, Institute of environmental medicine, New-York, N.Y. 10016. Development of personnel monitoring device for the detection of direct-acting alkylating agents.

- Slevin, M., L., Ang, L., M., Johnston, A. et al. Permeability of latex and polyvinyl gloves used in handling cytotoxic drugs. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 12: 151-153. (1984).
- Stoikes, M., E., Carlson, J., D., Farris, F., F. et al. Permeability of latex and polyvinyl gloves to fluorouracil and methotrexate. *American Journal of Hospital Pharmacy*, 44: 1341-1346. (1987).
- Société Française de Toxicologie Génétique D. Marzin ed., Training module No. 2, WHO publication WHO/PCS/98.9 (1998).
- Société Française de Toxicologie Génétique Manipulation des produits mutagènes et cancérigènes au laboratoire, D. Marzin éditeur, Edition INSERM, série «Prévention en laboratoires de recherche». (1998).
- Swanson, M., C., Bubak, M., E., Hunt, L., W., Yunginger, J., W., Warner, M., A., Reed, C., E. Quantification of occupational latex aeroallergens in a medical center. *J Allergy Clin Immunol*, 94: 445-451. (1994).
- Tarlo, S., M. Natural rubber latex allergy and asthma. *Curr Opin Pulm Med*. 7, 27-31. (2001)
- Tarlo, S., M., Sussman, G., Contala, A., Swanson M., C. Control of airborne latex by use of powder-free latex gloves. *J Allergy Clin Immunol*, 93: 985-989. (1994).
- Thomas, P., H., Fenton-May, V. Protection afforded by various gloves to carmustine exposure. *Pharmaceutical Journal*, 238 : 775-777. (1987).
- Turjanmaa, K. Incidence of immediate allergy to latex gloves in hospital personnel. *Contact Dermatitis*, 17, 270-275. (1987).
- Vandenplas, O., Delwiche, J., P., Evrard, G., Aimont, P., Van Der Brempt, X., Jamart, J., Delaunois, L. Prevalence of occupational asthma due to latex among hospital personnel. *Am J Respir Crit Care Med*, 151: 54-60. (1995).
- Vila, L., Sanchez, G., Ano, M., Uasuf, C., G., Sanz, M., L. Risk factors for latex sensitization among health care workers. *J Investig Allergol Clin Immunol*, 9: 356-360. (1999).
- Walkers, E., A., Castegnaro, M., Garren, L., Pignatelli, B. Limitation of the protective effect of rubber gloves. In: *Environmental aspects of N-nitroso compounds*, Walker, E., A., Castegnaro, M, Gričiute, L., Lyle, R., E. Editors, IARC Scientific Publication N° 19: 535-543. (1978).
- Weeks, R., W., Deans, B., J. Permeation of methanolic aromatic amine solutions through commercially available glove materials. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 38: 721-727. (1977).
- Yassin, M., S., Lierl, M., B., Fischer, T., J., O'Brien, K., Cross, J., Steinmetz, C. Latex allergy in hospital employees. *Ann Allergy*, 72: 245-249. (1994).
- Ylitalo, L., Turjanmaa, K., Palosuo, T., Reunala, T. Natural rubber latex allergy in children who had not undergone surgery and children who had undergone multiple operations. *J Allergy Clin Immunol*, 100: 606-612. (1997).

CONTAMINACIÓN ACCIDENTAL POR SUSTANCIAS QUÍMICAS CANCERÍGENAS

Marcel Castegnaro

En el caso de derrame, el primer objetivo es proteger al trabajador y aislar el área, posteriormente se debe proceder a la descontaminación. En estos casos deben considerarse dos alternativas:

1. derrame de una sustancia volátil.
2. derrame de un compuesto pulverulento.

Nota: las estrategias descritas son teóricas y deben adaptarse a cada caso. Durante el período de diseño de un experimento debe prepararse una estrategia de intervención.

Todas las personas que trabajan con agentes carcinógenos deben recibir un entrenamiento adecuado para los mismos y frente a la posibilidad de accidentes e incidentes con ellos. Una persona asustada es más factible que sufra un accidente que una entrenada para afrontar las consecuencias del mismo.

Derrame de compuestos volátiles

En el caso de derrame de compuestos volátiles, el principal riesgo para el trabajador es respirar una atmósfera polucionada y ser contaminado por vía dérmica. En este caso, dejará el área contaminada inmediatamente, quitándose la ropa en un área adyacente.

- El acceso a las áreas contaminadas y áreas adyacentes con ropa contaminada está prohibido.
- El trabajador debe avisar a las personas que forman el grupo de seguridad en caso de accidente, indicando su localización y circunstancias.
- En el informe se recogerán los siguientes puntos:
 - Nombre del compuesto derramado.
 - Cantidad de compuesto derramado
 - Área potencialmente contaminada.
 - Localización exacta del accidente (por ejemplo: si el derrame ha tenido lugar en medio de una habitación, cercano a una nevera, sobre una pieza del equipo, etc.) y el lugar donde se ha dejado la ropa contaminada.
 - Presencia o ausencia de solventes, y en caso de presencia, naturaleza del mismo (esta información es totalmente necesaria en el caso de descontaminación química del área contaminada).
- El equipo encargado de la descontaminación debe contar con la equipación necesaria antes de intervenir. Esto incluye:
 - Contenedores lo suficientemente grandes y con boca ancha como para recibir todas las piezas rotas, los guantes, tejidos o papel utilizados para limpiar el área, etc.
 - Telas absorbentes.
 - Guantes.
 - Soluciones acuosas ligeramente ácidas o alcalinas dependiendo de las propiedades del compuesto vertido.
 - Soluciones descontaminantes.

- La persona encargada de la descontaminación se protegerá antes del inicio. Esta protección debe incluir:
 - Ropa que cubra el cuerpo entero.
 - Gafas.
 - Casco o gorro.
 - Guantes (durante la descontaminación deberá llevar dos pares y cambiarse el par externo cada vez que se realice alguna operación).
 - Protección respiratoria (dependerá del tipo de compuesto y su absorción en carbón activo, y de la cantidad derramada).
 - Cubre calzado.
 - Rollo de plástico adhesivo (como mínimo de 0.5 m de ancho).
- El primer paso cuando se entra en la zona acotada es localizar exactamente el “área contaminada”, y dibujar un círculo en el suelo de la zona a descontaminar. El círculo será mucho más grande que el área en sí misma (para un pequeño derrame, deberá marcarse, al menos, la longitud de los dos brazos y para derrames mayores, tanto como sea necesario). Durante el periodo de delimitación, debe tenerse en cuenta si el mobiliario (armarios o nevera) ha de ser también descontaminado.

Descontaminación del área:

- Recoger todas las piezas de vidrio rotas y colocarlas en el contenedor de recogida. Cambiar el guante exterior en cada paso, y en el caso de que se detecten signos de rotura, cambiar ambos pares.

Nota: si el área es tan grande que no se alcanza con el brazo, colocar un plástico adhesivo en el suelo para poder acceder a toda la zona. Previamente se habrá limpiado el suelo con un trapo. La superficie de arriba se considera zona limpia y se puede pisar sobre ella.

- Recoger el líquido derramado con un trapo, comenzar por la parte menos contaminada y dejar la más contaminada. Cambiar la tela y el guante tras cada operación. Para derrames de un gran volumen utilizar vermiculita como agente absorbente y posteriormente recogerla, cambiar los guantes tras cada operación.
- Continuar limpiando el área con un trapo que debe estar empapado en una solución ácida o alcalina, cambiar el trapo tras cada operación.
- Comprobar que la superficie está totalmente descontaminada limpiando el área más contaminada con un solvente, posteriormente se extraerá y se le hará un análisis fisicoquímico.
- Si el área continúa contaminada, colocar trapos alrededor de toda la zona y verter una solución descontaminante, para mojarlo todo, pero sin anegar la zona.
- Permitir que reaccione durante el tiempo que sea necesario, quitar los trapos y secar.
Nota: todos los trapos de esta operación se consideran contaminados.
- Equipo de descontaminación: si el derrame alcanzase al equipo habrá que descontaminarlo siguiendo los mismos pasos que con el suelo, utilizando trapos empapados en soluciones ácidas o alcalinas si fuera necesario.

- Descontaminación de los residuos: serán tratados en un incinerador o en una campana para ser tratados según una técnica de degradación química apropiada.
- Solamente una vez finalizadas todas estas operaciones podrá permitirse al personal volver a su puesto de trabajo

Derrame de un compuesto pulvígeno

En el caso de un derrame de un compuesto en forma de polvo, el principal riesgo para el trabajador es la contaminación de la ropa por pequeñas partículas y la dispersión del polvo en la atmósfera a través del sistema de ventilación. En este caso, dejará el área contaminada inmediatamente, quitándose la ropa contaminada en un área adyacente.

- El acceso a las áreas contaminadas y áreas adyacentes con ropa contaminada está prohibido.
- El trabajador debe dar aviso a las personas que forman el grupo de seguridad en caso de accidente, su localización y las circunstancias.
- En el informe se recogerán los siguientes puntos:
 - Nombre del compuesto derramado.
 - Cantidad de compuesto derramado.
 - Área potencialmente contaminada.
 - Localización exacta del accidente (por ejemplo: si el derrame ha tenido lugar en medio de una habitación, cercano a una nevera, sobre una pieza del equipo, etc., si la localización está cercana al sistema de ventilación, lo que puede favorecer la dispersión del contaminante) y el lugar donde se ha dejado la ropa contaminada.
- El equipo encargado de la descontaminación debe contar con la equipación necesaria antes de intervenir. Esto incluye:
 - Contenedores lo suficientemente grandes y con boca ancha como para recibir todas las piezas rotas, los guantes, tejidos o papel utilizados para limpiar el área, etc.
 - Telas absorbentes.
 - Guantes.
 - Soluciones acuosas ligeramente ácidas o alcalinas dependiendo de las propiedades del compuesto vertido.
 - Soluciones descontaminantes.
- La persona encargada de la descontaminación se protegerá antes del inicio. Esta protección debe incluir:
 - Ropa que cubra el cuerpo entero.
 - Gafas.
 - Casco o gorro.
 - Guantes (durante la descontaminación deberá llevar dos pares y cambiarse el par externo cada vez que se realice alguna operación).
 - Protección respiratoria (en la mayoría de los casos es suficiente una mascarilla de papel).
 - Cubre calzado.

- Rollo de plástico adhesivo (como mínimo de 0.5 m de ancho).

El primer paso cuando se entra en la zona acotada es localizar exactamente el “área contaminada” y dibujar un círculo en el suelo de la zona a descontaminar. El círculo será mucho más grande que el área en sí misma (para un pequeño derrame, deberá marcarse al menos la longitud de los dos brazos y para derrames mayores, tanto como sea necesario). Durante el periodo de delimitación, debe tenerse en cuenta si el mobiliario (armarios o nevera) ha de ser también descontaminado.

Descontaminación del área:

1. Recoger todas las piezas de vidrio rotas y colocarlas en el contenedor de recogida. Cambiar el guante exterior en cada paso, y cuando se detecten signos de rotura cambiar ambos pares.
2. Nota: si el área es tan grande que no se alcanza con el brazo, colocar un plástico adhesivo en el suelo para poder acceder a toda la zona. Previamente se habrá limpiado el suelo con un trapo. La superficie de arriba se considera zona limpia y se puede pisar sobre ella.
3. Recoger el polvo derramado con un trapo húmedo, comenzar por la parte menos contaminada y dejar la más contaminada. Cambiar la tela y el guante tras cada operación.
4. Continuar limpiando el área con un trapo que debe estar empapado en una solución ácida o alcalina, cambiar el trapo tras cada operación.
5. Comprobar que la superficie está totalmente descontaminada limpiando el área más contaminada con un solvente, posteriormente se extraerá y se le hará un análisis físico-químico.
6. Si el área continúa contaminada, colocar trapos alrededor de toda la zona y verter una solución descontaminante, para mojarlo todo, pero sin anegar la zona.
7. Permitir que reaccione durante el tiempo que sea necesario, quitar los trapos y secar.
Nota: todos los trapos de esta operación se consideran contaminados.

Equipo de descontaminación: Limpiar el equipo con trapos empapados en soluciones ácidas o alcalinas si fuera necesario.

Descontaminación de los residuos: serán tratados en un incinerador o en una campana para ser tratados según una técnica de degradación química apropiada.

Solamente una vez finalizadas todas estas operaciones podrá permitirse al personal volver a su puesto de trabajo.

RIESGO RADIOLÓGICO

Marcel Castegnaro

Introducción

El trabajo en los laboratorios biológicos, biomédicos y de biotecnología conlleva el uso de numerosas sustancias radioactivas. Las más comunes son:

- Carbono-14 (^{14}C). Utilizado en investigación para asegurarse que los nuevos medicamentos o compuestos son metabolizados sin generar productos dañinos.
- Tritio (^3H). Utilizado en los estudios de ciencias de la vida y metabolismos de drogas para asegurar la seguridad potencial de nuevas drogas o medicamentos.
- Iodo-125 (^{125}I). Utilizado en los kits de diagnóstico “in vitro”.
- Fósforo-32 (^{32}P). Utilizado en biología molecular e investigación genética.
- Fósforo-33 (^{33}P) y Azufre-35 (^{35}S). A menudo se utilizan en vez de ^{32}P por razones de seguridad, porque emite radiación beta a baja energía.

Manipulación de material radioactivo

Antes de iniciar el trabajo con radioisótopos, todos los trabajadores deben tener la autorización para manipular estas sustancias del Organismo competente en materia de Seguridad Radiológica que los registrará según la normativa de cada país, entregándoles el manual de seguridad en el trabajo con radioisótopos y formándolos adecuadamente. Este manual debe contener los siguientes puntos específicos:

- Las precauciones necesarias especiales para prevenir la contaminación personal y estructural, así como para minimizar los efectos de la radiación.
- Dosímetros personales y revisiones médicas (Exámenes médicos y análisis).
- Eliminación de los residuos radioactivos.
- Compra y almacenamiento del material radioactivo.

Esto debe adoptarse en cada empresa y suministrar información específica acerca de las zonas autorizadas para la manipulación del material radioactivo, las zonas de almacenamiento de los residuos, junto a la lista de compuestos y actividades autorizadas en cada laboratorio.

Todos los radioisótopos deben estar controlados por el responsable de la Seguridad Radiológica, que actuará de acuerdo a la legislación vigente. Los trabajadores son los responsables de la limpieza de su área de trabajo, la descontaminación de los equipos y el material de cristal, además de la eliminación correcta de los residuos, tal y como se describe en el manual de seguridad, de acuerdo con la legislación nacional.

El usuario debe mantener al día los registros detallados del uso y retirada de residuos de estos materiales.

Cuando se trabaja con material radioactivo se debe llevar puesta la bata de laboratorio, guantes y, un delantal protector, para la protección del cuerpo. Se proporcionará equipos de protección de la vista y cara si fuera necesario.

Cada laboratorio autorizado debe especificar las áreas donde se manipulan los radioisótopos. Las cantidades máximas utilizadas deberán constar en un registro a disposición del personal. Estas áreas deben estar perfectamente señalizadas y no debe utilizarse para ningún otro propósito. Puede utilizarse un cobertor, absorbente por la cara superior, para cubrir la superficie de trabajo. El uso de grandes cantidades de ^{32}P (ej.: > 100 μCi) debe hacerse en habitaciones especiales. El acceso a esta habitación debe limitarse al personal estrictamente necesario y autorizado, para evitar el riesgo de un exceso de personas. Cada trabajador que inicia un experimento debe comprobar la contaminación ambiental y del equipo. Esta comprobación debe repetirse al final del experimento y eliminar la contaminación, si existiera. Todos los registros de accidentes e incidentes deben estar plasmados en el panel de seguridad.

Todas las operaciones con isótopos en disoluciones líquidas deben hacerse con bandejas para recoger los posibles derrames. Se debe trabajar por encima de la bandeja y muy cercano a ella, para que no se produzca ninguna salpicadura accidental.

Cuando se utiliza ^{32}P , ^{33}P , ^{14}C o ^{35}S , debe hacerse en cabinas con pantallas de plexiglás de 1 cm (Ver hojas de datos anexas para información específica). No se debe sujetar con los dedos tubos que contengan ^{32}P , debe utilizarse siempre gradillas especiales con protecciones (Castegnaro et al., 1993) para limitar la dosis de los dedos. Las pipetas automáticas deben llevar protectores de la radiación.

Nunca se pipeteará con la boca en experimentos que utilicen sustancias radioactivas.

Durante las operaciones de trabajo, se comprobará con regularidad la contaminación de los dedos y mano, debiéndose cambiar inmediatamente de guantes en el caso de contaminación.

Siempre, después de terminar el trabajo con radioisótopos, se comprobará la ausencia de contaminación en ese área del laboratorio, en los equipos utilizados y en el propio trabajador, mediante equipos de medida adecuados (Ver hoja de datos anexas para información específica).

Entrenamiento del personal

Antes de iniciar el trabajo con compuestos radioactivos, especialmente aquellos que utilizan ^{32}P o grandes cantidades (mCi o más) de elementos radioactivos, todo el personal debe ser entrenado durante un período, con compuestos fluorescentes en vez de radioactivos. El objetivo de este entrenamiento es:

1. Ayudar al personal a ver los diferentes tipos de accidentes o contaminación que pueda ocurrir y como controlarlos.
2. Mejorar su destreza en el trabajo bajo pantalla y reducir el tiempo de exposición.
3. Mejorar su agudeza en el muestreo de soluciones, mientras mantienen el ratio de trabajo, incrementando la confianza de los resultados.

Almacenamiento

El almacenamiento de material radiactivo debe hacerse en armarios de seguridad, neveras, congeladores o contenedores de residuos en habitaciones autorizadas para contener estos materiales. Deben guardarse en contenedores

irrompibles y herméticos para prevenir las roturas y derrames accidentales o su escape al ambiente. Si el radionúclido requiere una capa protectora (Ver hoja de datos anexa para información específica), debe almacenarse en contenedores protegidos con el fin de prevenir dosis de exposición al personal del área de almacenamiento.

Los compuestos radioactivos carcinogénicos deben almacenarse junto con las sustancias carcinogénicas, separados del resto de sustancias y señalizarlos como “SUSTANCIAS RADIOACTIVAS CARCINOGENICAS”.

En la puerta de las neveras y congeladores se colocará una lista con los contenidos radioactivos y la señal de peligro radioactivo.

Los aerosoles del material radioactivo almacenado pueden contaminar áreas adyacentes, y al personal, si no se manipulan los compuestos de forma adecuada. Es por tanto obligatorio que el material radiactivo que haya sido guardado en un congelador o ultracongelador, sea descongelado, abierto y manejado, dentro de una campana de gases o en una cabina de seguridad biológica. Todo el material radiactivo, ya sea almacenado, usado o desechado, debe estar etiquetado con la señal de peligro radioactivo, las palabras “PRECAUCIÓN: SUSTANCIA RADIOACTIVA”, el isótopo, la fecha y la cantidad de radioactividad en dpm o μCi .

Efectos biológicos de la radiación ionizante

El daño debido a la radiación es causado por la ionización en los tejidos del organismo. Cuando la radiación interacciona con una célula, se producen ionizaciones y excitaciones tanto en las macromoléculas biológicas, como en el medio en el que se encuentran, principalmente agua. Basándonos en el lugar de la interacción de la radiación con las células, ésta puede ser calificada como directa o indirecta.

La **acción directa** ocurre cuando la partícula ionizante interacciona con el organismo y es absorbida por una macromolécula de una célula (ADN, ARN, proteínas, enzimas, etc.). Estas macromoléculas empiezan a desarrollar estructuras anormales que inician los pasos que, posteriormente, darán lugar a cambios biológicos.

La **acción indirecta** tiene lugar, cuando la radiación ionizante es absorbida por el medio en el cual las moléculas se encuentran en suspensión. La molécula en la cual, es más habitual, que se produzca esta acción es el agua. A través de una serie de complejas reacciones, las moléculas de agua ionizadas crean radicales libres que pueden causar daño a las macromoléculas.

El principal elemento diana de la radiación en una célula es el ADN del núcleo. Los efectos biológicos resultantes del ADN dañado no son reparables, y si lo son, no se reparan adecuadamente. Grandes daños en el ADN pueden degenerar en la muerte de la célula. Si un gran número de células mueren, puede quedar un órgano dañado o puede morir el individuo. El ADN deficientemente reparado o dañado puede desarrollar linfomas o cánceres en las células somáticas. Pueden dar lugar a dos tipos de efectos:

➤ Efectos no aleatorios

Son aquellos efectos que se producirán para una exposición dada, con un pequeño rango de variación aparece el mismo tipo de efecto. En el caso de radiación global a 1-2 Grays (Gy), ocurren modificaciones a nivel sanguíneo (ej.: disminución del nivel de leucocitos y plaquetas y, en menor extensión, de eritrocitos). En el caso de radiación local de la piel, se observa un eritema, a dosis entre 4-8 Gy; por encima de los 5 Gy se presenta sequedad de la

dermis; entre 12-20 Gy epidermis exudativa, y por encima de 25 Gy, necrosis. En el caso de radiación en el ojo, comienza la opacidad de la lente del cristalino a partir de 10 Gy de rayos X, ó 0.8 Gy de neutrones, pudiendo producir cataratas. En el caso de radiación de los genitales, los espermatozoides comienzan a reducirse a partir de 0.3 Gy y desaparecen totalmente por encima de 2 Gy, estos efectos pueden ser reversibles. Cuando es sobre los ovarios, dosis de radiación de 12-15 Gy, puede causar esterilidad reversible en mujeres menores de 25 años, mientras que tan solo 7 Gy produce el mismo efecto en mujeres de 40 años.

➤ Efectos aleatorios

Son reflejo del aumento del riesgo relativo de muerte por cáncer o de la aparición de defectos hereditarios en las dos primeras generaciones, tras exposiciones de cuerpo entero. Para estos efectos, se sabe que la misma dosis produce alteraciones diferentes en las distintas personas. La probabilidad del riesgo de desarrollar un cáncer tras una radiación uniforme de cuerpo completo, ha sido expresada por la Comisión Internacional de Protección Radiológica (1977, 1980), con la siguiente fórmula:

$$\text{Nº de cánceres esperados por radiación} = \text{Riesgo calculado para el desarrollo del cáncer} \times \text{Exposición} \times \text{Tamaño de la población}$$

Donde los riesgos calculados pueden expresarse para el cuerpo entero, por sexo, ($1,65 \cdot 10^{-2} \text{ Sv}^{-1}$ para mujer o $1,40 \cdot 10^{-2} \text{ Sv}^{-1}$ para hombres) o para los órganos individuales cuya susceptibilidad a la radiación es diferente (ver tabla 1). Debe indicarse que ha sido propuesto, para su aplicación, un nuevo valor para calcular el riesgo en mujeres $5 \cdot 10^{-2} \text{ Sv}^{-1}$ (Comisión Internacional de Seguridad Radiológica, 1990).

Tabla 1: Riesgo aleatorio de daño según el órgano expuesto.

<i>Órgano expuesto</i>	<i>Riesgo aleatorio x 10⁻² Sv⁻¹</i>
Gónadas	0.40
Médula ósea	0.20
Pulmón	0.20
Mama	0.25
Tiroides	0.05
Hueso	0.05

Como ejemplo, en una población de 1200 mujeres expuestas a 50 nSv, se espera un caso de cáncer o desorden genético debido a la radiación.

Para los órganos citados el mayor riesgo se presenta con el manejo de ³²P.

Control

En cada área del laboratorio debe, medirse semanalmente la radiactividad. Debe nombrarse a una persona encargada, y esta ha de mantener los registros de control actualizados. Para isótopos como ^{125}I , ^{32}P , ^{35}S y ^{14}C , debe utilizarse un equipo de medida adecuado, pero para ^3H , se puede hacer tomando muestras de la zona de trabajo y por contaje por centelleo.

Las áreas que deben ser comprobadas son:

- Los bancos de trabajo, los fregaderos, incluyendo las tuberías.
- Los cierres de los paquetes de polvo, los tiradores de la nevera y congelador.
- Equipos utilizados por todo el personal: centrífugas con tapadera, sistemas de gel, etc.
- Los equipos de medida en sí mismos.

Cualquier área que se encuentre contaminada debe limpiarse con Decon al 5% y ser comprobada posteriormente.

Procedimientos de emergencia

En el caso de derrame de una gran cantidad de radioisótopo, por ejemplo, rotura de un vial o fuente, se seguirá este procedimiento:

- Aviso inmediato a los compañeros que no se hayan contaminado, si es posible dejarán el área, que debe quedar aislada.
- Quitarse inmediatamente cualquier prenda contaminada y dejarla en el lugar del incidente.
- Informar a la persona encargada de la seguridad radiológica.
- Tratar al personal contaminado (la piel debe lavarse bajo chorro de agua y frotar con abundante solución jabonosa. No erosionar la piel. Cualquier herida debe irrigarse con gran cantidad de agua. Comprobar con mediciones la ausencia de contaminación).
- El personal afectado debe recibir un tratamiento médico especial.
- Descontaminar el área afectada una vez el personal ha sido tratado.

BIBLIOGRAFÍA

- California State University (http://riso.fullerton.edu/radiation_safety.htm)
- Castegnaro, M., Brésil, H., Manin, J., P. Some safety procedures for handling ^{32}P during postlabelling assays. In: Phillips, D., H., Castegnaro, M., Bartsch, H. Postlabelling methods for detection of DNA adducts. IARC scientifique publications N° 124, IARC, Lyon, France. (1993)
- Duke University safety manual (<http://www.safety.duke.edu/SafetyManuals/>)
- International Commission on Radiological Protection. Recommendation of the International Commission on Radiological Protection. Annals of ICPR, publication N° 26. (1977).

- International Commission on Radiological Protection. Recommendation of the International Commission on Radiological Protection. Annals of ICPR, publication N° 30, part 2, volume 4. (1980).
- International Commission on Radiological Protection Recommendation of the International Commission on Radiological Protection. Annals of ICPR, publication N° 60. (1990).

ANEXOS

HIDRÓGENO-3 [³H]

DATOS FÍSICOS

Energía Beta: 18.6 KeV (máximo), 5.7 KeV (media) (100% de abundancia).

Vida media física: 12.3 años.

Vida media biológica: 10-12 días.

Vida media efectiva: 10-12 días. Forzando los líquidos a la tolerancia (3-4 litros/día) se reduce la vida media efectiva del ³H por un factor de 2 ó 3 (relativamente fácil de eliminar mediante un sistema con fluidos).

Actividad: 9640 Ci/gramo.

Rango máximo Beta en aire: 6 mm.

Rango máximo Beta en agua: 0.006 mm.

Penetrabilidad en la materia o tejidos: insignificante (0% de partículas de energía beta transmitidas de la capa córnea de la piel).

DATOS RADIOLÓGICOS

La menor radiotoxicidad de todos los radionúclidos.

Órganos críticos: agua corporal o tejidos.

Vías de entrada: ingestión, inhalación, pinchazos, heridas, piel (absorción).

Exposición externa de energía beta ³H no presenta riesgo radiológico.

Exposición interna y contaminación: existe riesgo radiológico.

Dosis equivalente comprometida (CDE): 64 mrem/mCi (por ingestión), 64 mrem/mCi (por inhalación), 64 mrem/mCi (por pinchazo).

Dosis efectiva comprometida (CEDE): 90 mrem/mCi (por ingestión), 63 mrem/mCi (por inhalación).

- Límite anual de radiación (ALI): 80 mrem/mCi (por ingestión e inhalación) [³H₂O] [1.0 ALI = 80 mCi (³H) = 5,000 mrem CEDE]
- Ratio de exposición de contaminación de la piel: 57,900 mrad/hr/mCi (contacto).
- Ratio de exposición de la capa córnea de la piel solamente.
- Ratio de dosis de las células basales de la piel contaminada: 0.1 μCi/cm² = 0 mrad/hr.
- Regla del dedo pulgar: 0.001 μCi/ml de ³H en muestras de orina indica una dosis total de todo el cuerpo de aproximadamente 10 mrem (media por persona) si no se le aplica ningún tratamiento (ej.: diluir con líquidos).

BLINDAJE

- No se requiere

INSTRUMENTACIÓN DE CONTROL

- No puede detectarse ^3H usando un Geiger-Müller o un medidor de NaI.
- El contador de centelleo (indirecto) de líquidos es el único método de control.

DOSÍMETRO PARA MONITORIZAR LA RADIACIÓN

- Dosímetro de cuerpo entero o anillos para los dedos: no se necesitan (la energía beta es demasiado baja).

RESIDUOS RADIATIVOS

- Sólidos, líquidos, viales del equipo de centelleo, material patológico, jaulas de los animales.

INFORMACIÓN DE REGULACIÓN DE CONFORMIDAD

- Concentración en el aire (DAC): $2.0 \text{ E-}5 \mu\text{Ci/cc}$ (laboral)
- Límite de efluente liberado por vía aérea: $1.0 \text{ E-}7 \mu\text{Ci/cc}$ [Aplicable a la valoración y control de la dosis del público (10 CFR 20.1302). Si esta concentración es inhalada continuamente durante un año el TEDE resultante es de 50 mrem].
- Límite de contaminación móvil del área controlada: $2,200 \text{ dpm}/100 \text{ cm}^2$.
- Urinalysis (Licencia Byproduct), Análisis de orina: necesario cuando se maneja una cantidad superior o igual a 100 mCi de ^3H .

INFORMACIÓN GENERAL RADIOLÓGICA DE SEGURIDAD

- Volatilidad inherente (STP). Sustancial.
- Los usos experimentales incluyen: medidas del agua corporal total e identificación in vivo de la proliferación de células por inyección de compuestos de Tritium marcado (ej.: timidina).
- El Tritium marcado también se emplea en una gran variedad de estudios metabólicos.
- La oxidación de ^3H gas es normalmente lenta.

CARBONO-14 [¹⁴C]

DATOS FÍSICOS

Energía Beta: 156 KeV (máximo), 49 KeV (media) (100% de abundancia).
Vida media física: 5730 años.
Vida media biológica: 12 días.
Vida media efectiva: 12 días. (ligado). 40 días (sin ligar).
Actividad específica: 4460 mCi/gramo.
Rango máximo Beta en aire: 24,00 cm.
Rango máximo Beta en agua: 0.28 mm.
Máximo rango en plexiglás/ lucite /plástico: 0.25 mm
Fracción de partículas beta de ¹⁴C transmitidas a través de la capa córnea de la piel: a una profundidad de 0.007 cm = 1%.

DATOS RADIOLÓGICOS

Órganos críticos: tejidos grasos.
Vías de entrada: ingestión, inhalación, piel.
Exposición externa: dosis profunda de partículas beta débiles de ¹⁴C sin riesgo radiológico.
Exposición interna y contaminación: existe riesgo radiológico.
Dosis equivalente comprometida (CDE): 2.08 mrem/mCi (por ingestión) (tejidos grasos), 2.09 mrem/mCi (por inhalación), 2.07 mrem/mCi (por pinchazo).
Dosis equivalente comprometida efectiva (CEDE): 1.54 mrem/mCi (por ingestión).
➤ Límite anual de radiación (ALI): 2 mCi (por ingestión de compuestos orgánicos marcados), 2000 mCi (por inhalación de monóxido de carbono), 200 mCi (por inhalación de dióxido de carbono) [1.0 ALI = 2 mCi (por ingestión de compuestos orgánicos marcados con ¹⁴C) = 5,000 mrem CEDE]
➤ Dosis de exposición de contaminación de la piel: 1090-1180 mrem por 1.0 μCi/cm² (7 mg/ cm² de profundidad)
➤ Ratio de dosis de las células basales de la piel contaminada: **0.1 μCi/cm² = 1400 mrad/hr.**
➤ **Inmersión de ¹⁴C en aire contaminado** = 2.183E7 mrem/año por μCi/cc a 70 μm de profundidad del tejido y 4.07E6 mrem/año por μCi/cc valor medio sobre la piel.

BLINDAJE

➤ No se requiere (< 0.1 mm de plexiglás o cristal)

INSTRUMENTACIÓN DE CONTROL

- El medidor de Geiger-Müller de ventana fina puede detectar ^{14}C pero, la prueba de medida debe ser hecha a 1 cm. Los medidores de Geiger-Müller tienen una baja eficacia de conteo para el ^{14}C (5%).
- El contador de centelleo (indirecto) de líquidos puede ser utilizado para detectar ^{14}C en el papel absorbente.

DOSÍMETRO PARA MONITORIZAR LA RADIACIÓN

- Dosímetro de cuerpo entero o anillos para los dedos: no se necesitan (la energía beta es demasiado baja).
- La dosis ^{14}C beta: 6.32 rad/hr a 1.0 en aire por 1.0 mCi ^{14}C .
- Ratio de dosis de contaminación de la piel: 13.33 mrad/hr por μCi en piel.
- Ratio de dosis de una fuente puntual isotrópica de ^{14}C de 1.0 mCi:

➤ Distancia (cm)	➤ rad/hr
➤ 1.00	➤ 1241,4
➤ 2.00	➤ 250,4
➤ 15.20	➤ 0,126
➤ 20.00	➤ 0,0046

INFORMACIÓN GENERAL RADIOLÓGICA DE SEGURIDAD

- Urinalysis (análisis de orina): no se requiere, es recomendable que tras un derrame de ^{14}C o sospecha de radiación se realice una revisión médica del personal.
- Volatilidad inherente (STP). No significativa.
- Posibilidad de que compuestos orgánicos con ^{14}C traspasen los guantes.
- Se debe tener mucho cuidado de NO generar $^{14}\text{CO}_2$ gas, que pueda ser inhalado.
- La dosis interna está en conexión con la contaminación de la piel, la ingestión, la inhalación y los pinchazos.
- Siempre se debe llevar bata y guantes cuando se trabaja con ^{14}C .
- La concentración de carbono en el tejido adiposo, incluyendo la médula ósea, es 3 veces la media de toda la concentración del cuerpo. Ningún otro órgano o tejido del organismo concentra carbono estable de forma significativa. La absorción fraccional del carbono de la dieta (sin tener en cuenta la sangre) normalmente excede a 0.09.
- Hay tres tipos de compuestos de carbono que pueden ser inhalados: compuestos orgánicos, gases (CO y CO_2), y aerosoles de carbono conteniendo carbonatos y carburo.
- Los compuestos orgánicos: la mayoría de ellos no son muy volátiles en circunstancias normales, la probabilidad de inhalar sus vapores es pequeña. En circunstancias en las cuales pueden ser inhalados, sería prudente asumir que una vez entran en el sistema respiratorio, pasan directamente al sistema circulatorio sin cambiar su fórmula química.
- Gases: la inhalación de CO y su retención en los tejidos ha sido muy estudiada. Debido a que este gas tiene una baja solubilidad en los tejidos con agua, es conocido

que las cantidades absorbidas son insignificantes frente a las retenidas en huesos o hemoglobina. El CO₂ en la sangre está principalmente como bicarbonato.

- Los carbonatos y carburos: se conoce que los compuestos con ¹⁴C marcado, una vez han sido inhalados o ingeridos se distribuyen rápidamente y de manera uniforme a todos los órganos y tejidos del organismo. El organismo los retiene una vida media de 12-40 días.

FÓSFORO-32 [³²P]

DATOS FÍSICOS

Energía Beta: 1.709 MeV (máximo), 0.690 MeV (media) (100% de abundancia).

Vida media física: 14.3 días.

Vida media biológica: 1155 días.

Vida media efectiva: 14.1 días. (hueso); 13.5 días (todo el cuerpo).

Actividad específica: 285,000 Ci/gramo.

Rango máximo Beta en aire: 610 cm.

Rango máximo Beta en agua/tejido: 0.76 cm.

Máximo rango en plexiglás/lucite/plástico: 0.61 cm

DATOS RADIOLÓGICOS

Órganos críticos (forma soluble): hueso.

Órganos críticos (forma no soluble o no transportable de los compuestos con ³²P): pulmón (inhalación) y tracto gastrointestinal/parte baja del intestino delgado (ingestión).

Vías de entrada: ingestión, inhalación, piel por absorción, pinchazos, heridas.

Exposición externa e interna: con riesgo radiológico.

Dosis equivalente comprometida (CDE): 32 mrem/mCi (médula ósea).

Dosis efectiva comprometida (CEDE): 7.50 mrem/mCi (por ingestión/WB); 5.55 mrem/mCi (por inhalación/clase D); 13.22 mrem/mCi (por inhalación/clase W).

- **Dosis de exposición de contaminación de la piel:** 8700-9170 mrem/mCi/cm² (7 mg/cm² o 0.007 cm de profundidad en tejidos)
- Ratio de dosis de las células basales de la piel contaminada: 0.1 μCi/cm² (dosis localizada)= 9200 mrad/hr.
- El hueso recibe aproximadamente el 20% de la dosis ingerida o inhalada de compuestos con ³²P.
- Los tejidos con una rápida renovación celular muestran una mayor retención de las concentraciones de fosforados en las nucleoproteínas.
- El isótopo ³²P se elimina por la orina principalmente.
- Metabolismo del fósforo: ver ficha adjunta del isótopo ³³P.

INSTRUMENTACIÓN DE CONTROL

- El medidor de Geiger-Müller y la sonda plana.
- La prueba de baja energía de NaI solo se emplea para la detección de rayos X Bremsstrahlung.
- El contador de centelleo (indirecto) de líquidos puede ser utilizado para detectar ³²P en el papel absorbente y frotis.

DOSÍMETRO PARA MONITORIZAR LA RADIACIÓN

- Desde una fuente puntual isotrópica 1.0 mCi, sin blindaje:

➤ Distancia (cm)	➤ rad/hr
➤ 1.00	➤ 348
➤ 15.24	➤ 1,49
➤ 296.50	➤ 0,0015

780.00 mrad/hr en la superficie de 1ml de líquido con 1.0 mCi ³²P.

26.00 mrad/hr en la boca de un vial abierto conteniendo 1ml de líquido con 1.0 mCi ³²P.

BLINDAJE

- 8 mm de grosor de plexiglás/acrílico/lucite/plástico/madera.
- No utilizar protección de planchas de plomo solas, porque la radiación de rayos X Bremsstrahlung la atraviesa.
- Utilizar las placas de plomo para blindar de la radiación de rayos X Bremsstrahlung sólo tras planchas de baja densidad de plexiglas/acrílico/lucite/plástico/madera.

INFORMACIÓN GENERAL RADIOLÓGICA DE SEGURIDAD

- Debido a que presenta apetencia por los huesos, se deben tomar especiales precauciones para minimizar la posibilidad de que entre en el cuerpo.
- La contaminación por vía aérea puede generarse a través de la sequedad (polvo), un hervor rápido, la salida de soluciones por la punta de las agujas o pipetas, o la formación de aerosoles.
- Los dosímetros (de cuerpo entero y de dedos) son necesarios cuando se manipulan cantidades superiores a 1.0 mCi ³²P.
- No trabajar nunca sobre un contenedor abierto, evitar la exposición directa de los ojos a la penetración de las partículas beta de ³²P.
- Siempre se debe llevar bata y guantes cuando se trabaja con ³²P.
- Se debe medir en las áreas de trabajo y suelo con medidor GEIGER-MÜLLER y la sonda plana (para la radiación beta), para conocer la contaminación de superficies.
- Usar material de blindaje de baja densidad (bajo número atómico) para protegerse de ³²P y reducir la generación de rayos X Bremsstrahlung. Los siguientes materiales son de bajo número atómico: plexiglás, acrílico, lucite, plástico, madera o agua.
- No utilizar planchas o placas de plomo u otro material de alta densidad para protegerse de ³²P directamente. Los materiales con número atómico superior al del Aluminio (Z=13) no pueden utilizarse ya que pueden generar rayos X Bremsstrahlung altamente penetrantes. Se recomienda el uso de gafas o pantallas en el trabajo con ³²P.
- El medidor GEIGER-MÜLLER con la sonda plana tiene una eficacia igual o superior al 45%. El contador de centelleo tiene una eficiencia igual o superior al 85%.
- La detección del ³²P en los compuestos de la orina se realiza con el contador de centelleo de líquidos = 1.1×10^{-7} µCi/ml.

FÓSFORO-33 [³³P]

DATOS FÍSICOS

Energía Beta: 0.249 MeV (máximo, 100% de abundancia), 0.085 MeV (media).

Vida media física: 25.4 días.

Vida media biológica: 19 días.(40% en la radiación; 30% eliminado rápidamente por el cuerpo, decayendo el 30% restante)

Vida media efectiva: 24.9 días. (hueso).

Actividad Específica: 1,000-3,000 Ci/milimol.

Rango máximo Beta en aire: 89 cm.

Rango máximo Beta en agua/tejido: 0.11 cm.

Máximo rango en plexiglás/lucite/plástico: 0.089 cm

Valor medio en superficie (HVL): 0.30 mm (agua/tejido).

DATOS RADIOLÓGICOS

Órganos críticos (forma soluble): médula ósea.

Órganos críticos (forma no soluble o no transportable de los compuestos con ³³P): pulmón (inhalación) y tracto gastrointestinal/parte baja del intestino delgado (ingestión).

Vías de entrada: ingestión, inhalación, piel por absorción, pinchazos, heridas.

Exposición interna y externa: existe riesgo radiológico con ³³P.

Dosis equivalente comprometida (CDE): 0.5 mrem/mCi (inhalación).

- **Dosis de exposición de contaminación de la piel:** 2,910 mrem/hr/μCi/cm² (7 mg/cm² o 0.007 cm de profundidad en tejidos)
- La fracción de partículas beta de ³³P transmitida a través de la capa córnea de la piel es del 14%.
- Los tejidos con una rápida renovación celular muestran una mayor retención de la concentraciones de fósforo en las nucleoproteínas.
- El isótopo ³³P se elimina por la orina principalmente.
- Metabolismo del fósforo:
- 30% eliminado rápidamente por el cuerpo.
- 40% tiene 19 días de vida media biológica.
- 60% del ³³P (ingerido) es excretado por el organismo en las primeras 24 horas.

BLINDAJE

- No se requiere: se recomienda el uso de materiales de baja densidad, ej.: plexiglás, acrílico, lucite, plástico, madera o agua.

INSTRUMENTACIÓN DE CONTROL

- El medidor de Geiger-Müller y la sonda plana.
- El contador de centelleo de líquidos puede ser utilizado para detectar la contaminación en el papel absorbente.

DOSÍMETRO PARA MONITORIZAR LA RADIACIÓN

- No se requieren, ya que no detectan la radiación beta de baja energía del radionúclido.

INFORMACIÓN GENERAL RADIOLÓGICA DE SEGURIDAD

- Volatilidad inherente (STP): insignificante.
- La sequedad puede provocar contaminación aérea por ^{33}P .
- Control de la contaminación de las áreas de trabajo, utilizando papel absorbente o frotis para quitarla.

AZUFRE-35 [³⁵S]

DATOS FÍSICOS

Energía Beta: 167 KeV (máximo), 53 KeV (media) (100% de abundancia).
Vida media física: 87.4 días.
Vida media biológica: 623 días (sin ligar).
Vida media efectiva: 44-76 días (sin ligar).
Actividad específica: 42,400 Ci/gramo.
Rango máximo Beta en aire: 26,00 cm.
Rango máximo Beta en agua/tejido: 0.32 mm.
Máximo rango en plexiglás o lucite: 0.25 mm
Fracción de partículas beta de ³⁵S transmitidas a través de la capa córnea de la piel:12%.

DATOS RADIOLÓGICOS

Órganos críticos: testículos.

Vías de entrada: ingestión , inhalación, piel (por absorción), pinchazos, heridas.

Exposición externa: dosis profunda de partículas beta débiles de ³⁵S sin riesgo radiológico.

Exposición interna y contaminación: existe riesgo radiológico.

Dosis equivalente comprometida (CDE): 10.00 mrem/μCi (por ingestión), 0.352 mrem/μCi (por pinchazo).

Dosis efectiva comprometida (CEDE): 2.6 mrem/μCi (por ingestión) (con una vida media biológica de 90 días).

- **Límite anual de radiación (ALI)*:** 10 mCi (por ingestión de compuestos inorgánicos con ³⁵S), 6 mCi (ingestión de ³⁵S elemental), 8 mCi (ingestión de sulfuros o sulfatos/LLI)** , 10 mCi (por inhalación de vapores de ³⁵S), 20 mCi (por inhalación de sulfuros o sulfatos), 2 mCi (por inhalación de ³⁵S elemental).
- *[1.0 ALI = 10 mCi (por inhalación de vapores de ³⁵S) = 5,000 mrem CEDE]
- **[1.0 ALI = 8 mCi (ingestión de sulfuros o sulfatos/LLI) = 50,000 mrem CEDE]
- **Dosis de exposición de contaminación de la piel:** 1170-1260 mrem por 1.0 μCi/cm² (7 mg/ cm² de profundidad)
- **Ratio de dosis beta para ³⁵S:** 14.94 rad/hr (contacto) en aire por 1.0 mCi; 0.20 rad/hr (15.25 cm) en aire por 1.0 mCi.

BLINDAJE

- No se requiere (1 cm de plexiglás protege completamente de la radiación; 0.3 mm de Plexiglás y 0.2 mm de cristal da suficiente protección pero no tiene propiedades mecánicas).

INSTRUMENTACIÓN DE CONTROL

- El medidor de Geiger-Müller puede detectar usando una sonda plana o una sonda de ventana fina, se recomienda colocar la sonda a 1 cm de distancia. La eficacia del medidor Geiger-Müller es muy baja, entre un 4-6%.
- El contador de centelleo de líquidos puede ser utilizado como equipo secundario, pero no detecta si se ha eliminado la contaminación.

DOSÍMETRO PARA MONITORIZAR LA RADIACIÓN

- Dosímetro de película: no se necesitan, porque el ^{35}S beta tiene una energía muy baja, no hay riesgo de radiación externa.
- Ratio de dosis de una fuente puntual isotrópica de ^{35}S de 1.0 mCi:

➤ Distancia (cm)	➤ rad/hr
➤ 1.00	➤ 1173.6
➤ 2.50	➤ 93.7
➤ 15.24	➤ 0.2
➤ 20.00	➤ 0.01

INFORMACIÓN GENERAL RADIOLÓGICA DE SEGURIDAD

- Urinalysis (análisis de orina): no se requiere, es recomendable que tras un derrame de ^{35}S se realice una revisión médica al personal.
- Volatilidad inherente (STP): significativa para metionina y cisteína con ^{35}S .
- Durante el almacenamiento puede producirse la radiolisis de los aminoácidos marcados con ^{35}S (metionina y cisteína) y puede utilizarse plomo para evitar las impurezas volátiles. Las impurezas volátiles son pequeñas.
- El comportamiento metabólico de los compuestos orgánicos con azufre (metionina y cisteína) difiere considerablemente del de los compuestos inorgánicos.
- Los compuestos orgánicos con azufre (metionina y cisteína) se incorporan a varios metabolitos, por tanto, el azufre que entra en el organismo como compuesto orgánico es fuertemente retenido.
- La absorción fraccionada del azufre en el tracto gastrointestinal es $> 60\%$ para compuestos orgánicos con azufre. El azufre elemental es peor absorbido por el tracto gastrointestinal que los compuestos inorgánicos con dicho elemento (un 80% de todos los compuestos inorgánicos y un 10% del azufre elemental).
- El azufre elemental es retenido durante semanas por el organismo. Entra por la garganta en forma de gas (SO_2 , COS , H_2S y CS_2), el cual es trasladado totalmente y de forma instantánea al compartimento de transferencia, siendo metabolizado igual que cualquier otro compuesto orgánico con azufre que entre por vía digestiva o inhalatoria.
- Pueden contaminarse las superficies internas de los contenedores de almacenamiento y el material de trabajo (tapones, juntas o anillos de goma).
- Los viales conteniendo cisteína y metionina marcadas con ^{35}S deben abrirse bajo campana.

- Los compuestos volátiles, como aminoácidos marcados con ^{35}S , deben abrirse bajo campana.
- Los vapores de aminoácidos marcados con ^{35}S deben evitarse cuando se abran viales, durante la incubación de cultivos o células marcadas con ^{35}S , y en el almacenamiento de residuos marcados con ^{35}S .
- Puede detectarse una contaminación excesiva en las superficies internas y restos de agua de las incubadoras utilizadas para trabajar con ^{35}S . La mayor contaminación suele encontrarse en la goma que sella las tapas de las incubadoras y centrifugas.
- La ruptura del radionúclido puede ocurrir durante los procesos de congelación, evitando que haya como mucho 1.0 μCi de ^{35}S por 8.0 mCi por vial con aminoácidos marcados con ^{35}S durante el proceso de descongelación.
- Los aminoácidos marcados con ^{35}S deben manipularse en campanas específicas para trabajos con radioisótopos.
- La extracción de líquido de viales conteniendo aminoácidos marcados con ^{35}S debe hacerse con filtros de carbón activo y jeringuillas desechables. El carbón activo tiene una alta afinidad por los vapores de ^{35}S .
- Colocar carbón activo y papel absorbente en un bote o bandeja (entre 50-100 g) y colocarlo dentro de la incubadora como absorbente pasivo de los vapores con ^{35}S . Rechazar absorbentes que den lecturas en el contador superiores a las normales del área alrededor del almacenamiento de los residuos sólidos radiactivos.

IODO-125 [¹²⁵I]

DATOS FÍSICOS

- **Energía Gamma:** 35.5 KeV (7% abundancia/93% internamente convertido en gamma) (no emite beta), 27.0 KeV (113%, rayos X), 27-32 keV (14%, rayos X), 31.0 KeV (26%, rayos X).
- **Constante específica de rayos gamma:** 0.27 a 0.70 mR/hr por mCi a 1 metro (la bibliografía indica 0.27 mR/hr por mCi a 1 metro).
- Vida media física: 60.1 días.
- **Vida media biológica:** 120-138 días (yodo sin ligar) eliminación por el tiroides.
- **Vida media efectiva:** 42 días (yod sin ligar) glándula tiroidea.
- Actividad Específica: 17,400 Ci/gramo
- Actividad Específica intrínseca: 22.0 Ci/milimol.

DATOS RADIOLÓGICOS

- **Órganos críticos:** tiroides.
- **Vías de entrada:** ingestión, inhalación (la más probable), piel (por absorción), pinchazos, heridas.
- Exposición interna y externa, y contaminación: existe riesgo radiológico en el uso de ¹²⁵I.
- **Dosis equivalente comprometida (CDE):** 814 mrem/mCi (tiroides / por inhalación / clase "D") (dosis por órgano), 1185 mrem/mCi (tiroides / por inhalación / forma NaI), 910 mrem/mCi (tiroides / por inhalación), 1258 mrem/mCi (cualquier órgano / por pinchazo /adulto).
- **Dosis efectiva comprometida (CEDE):** 24 mrem/mCi (todo el cuerpo / por inhalación).

BLINDAJE

- Planchas o láminas de plomo (0.152 mm de grosor).
- Capa semirreductora: 0.02 mm.

INSTRUMENTACIÓN DE CONTROL

- Equipo de medida con una sonda con contador de centelleo de NaI de baja energía.
- El medidor de Geiger-Müller con sonda plana o sonda de ventana fina es ineficaz. Estas sondas no son útiles para el control de la contaminación; sólo tienen una eficacia del 0.1%.

DOSÍMETRO PARA MONITORIZAR LA RADIACIÓN

- Desde una fuente puntual isotrópica 1.0 mCi, sin blindaje:

➤ Distancia (cm)	➤ mrad/hr
➤ 1	➤ 156-275
➤ 10	➤ 15.5-27.5
➤ 100	➤ 0.156-0.280

(alguna bibliografía indica 0.7 mrad/hr por mCi a 100 cm)

INFORMACIÓN GENERAL RADIOLÓGICA DE SEGURIDAD

- Personas que manejen ^{125}I en la forma química de NaI y KI es necesario hacerles un escáner de tiroides para conocer la su estado antes de que empiecen a trabajar.
- La glándula del tiroides acumula entre un 20-30% del yodo radiactivo soluble que absorba el organismo. Se asume que todo el yodo radiactivo es eliminado con rapidez por la orina.
- La normativa obliga a realizar un ensayo biológico del tiroides cuando se manipulan cantidades iguales o superiores a 1 mCi en la forma química NaI o KI. Según los organismos internacionales (NCR y MSU comité), la cantidad umbral está en 0.1 mCi. El escáner de tiroides debe hacerse en, no menos de 24 horas, y una semana como máximo después de manejar esa cantidad de ^{125}I en cualquier forma. Además todos los trabajadores que asistan u observen estos trabajos, o se encuentren lo suficientemente cercanos al proceso como para poder inhalarlo (a unos metros o en la misma habitación), también deben hacerse el mismo escáner. Las mamparas de cristal de las campanas de gases son suficiente protección para este tipo de trabajos. No se recomiendan blindajes especiales, ya que alteran los flujos de aire en el interior de la campana.
- No se recomiendan blindajes especiales para este isótopo de baja energía, debido a las bajas cantidades que se manejan habitualmente.
- Utilizar cánulas adaptadoras de agujas para extraer el líquido de los viales con ^{125}I para iodizaciones. Esto previene la formación de aerosoles.
- Separar los residuos de iodizaciones (^{125}I libre) de los otros (^{125}I ligado) y almacenar en campana de gases, dentro de bolsas de cierre hermético (residuos sólidos) y en contenedores con tapadera (residuos líquidos), hasta que los recoja el gestor autorizado.
- Cubrir los tubos de ensayo con parafilm u otro tipo de tapadera para prevenir el escape de líquidos mientras se traslada o manejan fuera de la campana de gases.

GLOSARIO

- **ABSORCIÓN:** Fenómeno por el cual la radiación transmite parte o toda su energía a cualquier material a través del que pasa.
- **ACTIVIDAD ESPECÍFICA:** Radioactividad total de un radionúclido por gramo de compuesto, elemento o radionúclido radioactivo.
- **ACTIVIDAD:** Número de disgregaciones nucleares que ocurren en una cantidad dada de material por unidad de tiempo.
- **ÁREA CONTROLADA:** Área dentro del área limitada y fuera de la zona restringida, cuyo acceso está limitado por autorizaciones.
- **ÁREA DE ALTA RADIACIÓN:** Un área accesible a los trabajadores, en la cual el nivel de radiación puede resultar excesivo y un individuo puede recibir una dosis equivalente superior a 0.1 rem (1mSv) en un hora a 30 cm de la fuente de radiación o desde cualquier superficie que la radiación penetre.
- **ÁREA RESTRINGIDA:** Área de acceso controlado mediante pases con el fin de proteger al personal de la exposición a material radioactivo.
- **ATENUACIÓN:** El proceso por el cual un haz de radiación es reducido en intensidad cuando pasa a través de un material. Es la combinación del proceso de absorción y dispersión, conduce a un descenso de la densidad del flujo del haz cuando se proyecta a través de la materia.
- **BEQUERELIO:** Unidad del Sistema Internacional para la actividad en el cual el número de disgregaciones es de una disgregación por segundo. Una partícula cargada emitida por el núcleo de un átomo durante la desintegración del núcleo.
- **BREMSSTRAHLUNG:** Radiación electromagnética (rayos X) producida por la deposición de partículas cargadas en la materia. Radiación de fotones secundarios (rayos X) producida por la desaceleración de partículas cargadas a través de la materia. Normalmente asociados a emisores beta energéticos, ej.: ³²P.
- **CAPA HEMIRREDUCTORA:** El grosor de cualquier material específico para la intensidad de los rayos X o Gamma a la mitad de su valor original.
- **CONCENTRACIÓN DE AIRE OBTENIDA (DAC):** La concentración dada por un radionúclido en el aire, el cual si es inhalado por una persona de referencia, que trabaja 2000 hr al año en condiciones de trabajo ligero (rango de inhalación 1.2 m³ de aire/hr), resulta radiado por un ALI.
- **CONTAMINACIÓN POR RADIATIVIDAD:** Abandono de material radioactivo en cualquier lugar, y en particular en lugares donde su presencia puede ser dañina. El daño causado puede ser una fuente de exposición excesiva al personal o la validación de un experimento o procedimiento.
- **CURIE:** Unidad de medida de la radiactividad. Un Curie (Ci) es una cantidad de material radioactivo que se desintegra a una velocidad de 3.7 x 10¹⁰ desintegraciones por segundo (dps). Normalmente se utilizan submúltiplos de los Curies y del millicurie (mCi) (1x10⁻³ Ci o 3.7x10⁷ dps) y el microCurie (μCi) (1x10⁻⁶ Ci o 3.7x10⁴ dps).
- **DESCONTAMINACIÓN:** La reducción o retirada del material radioactivo de una estructura, área, objeto o persona. La descontaminación vendrá acompañada por (1) tratamiento de la superficie para quitar o disminuir la contaminación; (2) dejar el material almacenado para que la radioactividad decaiga como resultado de la

- desintegración natural; (3) cubrir la zona contaminada con blindaje o atenuar la radiación emitida.
- **DESINTEGRACIÓN RADIOACTIVA:** Disgregación de los núcleos de un isótopo inestable por la emisión espontánea de partículas cargadas y/o fotones. Disminución de la cantidad de material radioactivo con el paso del tiempo, en forma de emisión espontánea del núcleo atómico, o de partículas Alfa o Beta, o radiación Gamma.
 - **DOSIMETRÍA:** La teoría y aplicación de los principios y técnicas de medida y registro de las dosis de radiación. Se emplean diversos tipos de equipos de medida: película, dosímetros termoluminiscentes, contador Geiger-Müller.
 - **DOSÍMETRO TERMOLUMINISCENTE (TLD):** Material cristalino que emite luz, si es calentado, tras haber sido expuesto a una radiación.
 - **DOSÍMETRO:** Instrumento portátil para medir o registrar la exposición total comprometida a la radiación ionizante.
 - **DOSIS ABSORBIDA:** Cantidad de energía recibida por unidad de masa de material irradiado. La unidad de la dosis absorbida es el Gray, y el Rad = 0.1 Gray = 100 ergs/gramo.
 - **DOSIS COMPROMETIDA:** La dosis total de radiación de una parte del cuerpo que resulta de la retención en el cuerpo del material radioactivo. Para estimar esta dosis comprometida, se asume que el tiempo de radiación del período de exposición del material retenido no supera los 50 años.
 - **DOSIS DE RADIACIÓN O DOSIS:** Término genérico que significa dosis absorbida, dosis equivalente, dosis efectiva equivalente, dosis equivalente comprometida, dosis efectiva equivalente comprometida o dosis equivalente efectiva total, tal y como se definen en esta sección. También puede significar, la energía transmitida a la materia por una radiación ionizante por unidad de masa de material irradiado en un punto dado. La unidad especial de dosis absorbida es el Rad.
 - **DOSIS EFECTIVA COMPROMETIDA (CEDE):** La suma de las dosis equivalentes comprometidas en un órgano del cuerpo o tejido que ha sido irradiado como resultado de la incorporación, multiplicadas cada una de ellas por el factor de ponderación tisular correspondiente, durante un período de 50 años.
 - **DOSIS EQUIVALENTE (HT):** El producto de la dosis absorbida en un órgano o tejido, ponderada en función del tipo y la calidad de la radiación. Las unidades de dosis equivalente son el Rem y el Sievert (Sv), definidas por el ICPR y aceptadas por la mayoría de los países.
 - **DOSIS EQUIVALENTE COMPROMETIDA (CDE):** La dosis equivalente para órganos o tejidos de referencia que recibirá en una radiación de material radioactivo un individuo durante un periodo de 50 años tras la radiación.
 - **DOSIS EQUIVALENTE DEL OJO:** Aplicada a la exposición externa de la lente del ojo y tomada como la dosis equivalente de un tejido profundo de 0.3 cm (300 mg/cm²).
 - **DOSIS EQUIVALENTE EFECTIVA TOTAL (TEDE):** La suma de la dosis equivalente profunda (para exposiciones externas) y la dosis efectiva comprometida (para exposiciones internas).
 - **DOSIS EQUIVALENTE EFECTIVA:** Suma de los productos de la dosis equivalente en un órgano o tejido y los factores de peso aplicables a cada uno de los tejidos y órganos del cuerpo que son irradiados.
 - **DOSIS EQUIVALENTE PROFUNDA:** Aplicado a la exposición externa de todo el cuerpo, y es la dosis equivalente a un tejido profundo de 1 cm (1000 mg/cm²).

- **DOSIS EXTERNA:** Proporción de la dosis equivalente recibida de las fuentes de radiación externas al cuerpo humano.
- **DOSIS LABORAL:** Exposición de un trabajador a la radiación ionizante. (1) en un área restringida; (2) durante su trabajo, el cual implica exposición a la radiación ionizante. Esta dosis no debe incluir las dosis recibidas por pruebas de diagnóstico o terapia.
- **EFFECTOS AGUDOS EN LA SALUD:** Efectos inmediatos de la radiación (aquellos que son observables en un corto período de tiempo) para los cuales la severidad del efecto varía con la dosis, y existen valores umbrales.
- **EFFECTOS DEGENERATIVOS DE LA SALUD:** Efectos que sobre la salud ejerce la radiación y que se manifiestan tras una larga y relevante exposición. La mayoría son estocásticos, esto es, la severidad es independiente de la dosis y la probabilidad se asume que es proporcional a la dosis, sin umbral.
- **ELECTRÓN:** Partícula elemental cargada negativamente que es un constituyente del átomo neutro. Es la unidad de electricidad negativa igual a 4.8×10^{-19} Culombios. Su masa es 0.000549 unidades de masa atómica.
- **EQUIPO PERSONAL DE CONTROL:** Equipos de medida: dosímetros de película, dosímetros termoluminiscentes, dosímetros de bolsillo, etc., diseñados para ser llevados por el personal con el fin de estimar la dosis individual recibida.
- **EXPOSICIÓN AGUDA:** Absorción de una gran cantidad de radiación (o la radiación de material radioactivo) en un corto período de tiempo.
- **EXPOSICIÓN CRÓNICA:** La absorción de la radiación o radiación con materiales radioactivos durante un largo período de tiempo, ej.: toda la vida.
- **EXPOSICIÓN:** (1) Exposición a material radioactivo o radiación ionizante; (2) Medida de la ionización producida en el aire por los rayos X ó Gamma. Es la suma de las cargas eléctricas de todos los iones de un signo producidos en el aire, cuando todos los electrones liberados por fotones en un volumen dado de aire están completamente parados, dividida por la masa del volumen de aire. La unidad de exposición es el Roentgen.
- **EXTREMIDAD:** Mano, codo, brazo bajo el codo, pie, rodilla, pantorrilla.
- **GRAY:** Unidad del Sistema Internacional de dosis absorbida en la cual la energía depositada es igual a un Julio por Kilogramo (1J/K).
- **IONIZACIÓN:** Proceso por el cual un átomo neutro o una molécula adquiere carga positiva o negativa.
- **ISÓTOPOS:** Radionúclidos que tienen el mismo número de protones en el núcleo, y tienen el mismo número atómico, pero diferente número de neutrones, y por tanto de masa atómica. Entre isótopos de un elemento tienen las mismas propiedades químicas
- **LÍMITE ANUAL DE RADIACIÓN (ALI):** Límite derivado de la cantidad de material radiactivo absorbido por el cuerpo de un trabajador adulto por inhalación o ingestión en un año. ALI es el mínimo valor de la radiación emitida por un radionúclido dado en un año, referida a un hombre que reciba una dosis equivalente comprometida de 5 rems (0.05 Sv) o de una dosis efectiva comprometida de 50 rems (0.5 Sv) a cualquier órgano o tejido.
- **MATERIAL DE BLINDAJE:** Cualquier material utilizado para absorber la radiación y que efectivamente reduce la intensidad, incluso la elimina en algunos casos: plomo, aluminio, agua, plástico, etc.
- **MATERIAL RADIOACTIVO:** Cualquier material, sólido, líquido o gaseoso, que emita radiación espontáneamente.

- MUESTRA LIMPIADORA: Muestra con el propósito de determinar la ausencia de contaminación radioactiva en la superficie. Se hace limpiando la superficie de unos 100cm^2 con un papel de filtro.
- ÓRGANO CRÍTICO: El órgano o tejido que resulta más dañado por la radiación, puede dañar la salud del individuo o de sus descendientes.
- PARTÍCULAS ALFA: Partículas fuertemente ionizantes emitidas desde el núcleo durante el decaimiento radioactivo.
- PARTÍCULAS BETA: Una partícula cargada, emitida por el núcleo de un átomo durante la desintegración del núcleo. Una partícula beta cargada negativamente es idéntica a un electrón. Una partícula beta cargada positivamente es un positrón.
- PELÍCULA: Pedazo de carrete fotográfico utilizado para la medida aproximada de la exposición a la radiación del trabajador con fines de control. La banda puede tener dos o más partes blindadas contra un tipo de radiación específica.
- RAD: Unidad de dosis absorbida. Un rad es igual a 0.1 J/kg (100ergs/gr) de material.
- RADIACIÓN ALFA: Flujo de núcleos de helio de rápido movimiento (partículas alfa), fuertemente ionizadas y radiación de débil penetración.
- RADIACIÓN BETA: Flujo de electrones a alta velocidad o positrones de origen nuclear más penetrante, pero menos ionizantes que los rayos alfa.
- RADIACIÓN GAMMA: Alta energía, radiación electromagnética de longitud de onda corta emitida por el núcleo. La radiación Gamma acompaña frecuentemente a las emisiones de alfa y beta. Los rayos Gamma son muy penetrantes y el mejor blindaje es una lámina de uranio. Los rayos Gamma tienen más energía que los rayos X. Ej., ^{125}I .
- RADIACIÓN IONIZANTE: Cualquier radiación electromagnética o de partículas capaz de producir iones, directa o indirectamente, y que pasa a través de la materia. Incluye rayo Gamma, X, partículas Alfa y Beta, electrones de alta velocidad, neutrones y otras partículas nucleares.
- RADIACIÓN: es la emisión de energía en forma de ondas o partículas. Las ondas se discriminan por su longitud y frecuencia.
- RANGO DE DOSIS: Dosis de radiación emitida por unidad de tiempo. Medida, por ejemplo, en rem/hr.
- RANGO DE EXPOSICIÓN: La exposición por unidad de tiempo, como rad/min, mrad/min, etc.
- RAYOS X: Radiación electromagnética penetrante (fotones) con una longitud de onda mucho menor que la de la luz visible. Normalmente se producen por la excitación de un campo de electrones alrededor del núcleo. Similar a los rayos Gamma.
- REM: Unidad de dosis equivalente. $1\text{ milirem (mrem)} = 0.001\text{ rem}$. Se considera igual a 1 rem : (1) una exposición de 1 rad de rayos X o Gamma, o partículas Beta; (2) la dosis absorbida de 0.05 rad de partículas más pesadas que protones y con suficiente energía para alcanzar la lente del ojo; (3) la dosis absorbida de 1 rad de neutrones o protones de alta energía.
- RESIDUO RADIOACTIVO: material sólido, líquido o gaseoso de operaciones nucleares que es o ha sido radioactivo y para el cual no hay otros usos.
- ROENTGEN: Unidad de exposición. $1\text{ Roentgen} = 2.58 \times 10^{-4}\text{ Culombios/K de aire}$
- SIEVERT: Unidad del Sistema Internacional de dosis equivalente (DE, unidad de exposición humana), es igual a 100 rem . Se obtiene de multiplicar el número de Grays por un factor de calidad, un factor de distribución y otros factores necesarios.
- VIDA MEDIA BIOLÓGICA: Tiempo requerido por el organismo para eliminar el 50% de la dosis de cualquier sustancia por el proceso normal de eliminación. Este

tiempo es aproximadamente el mismo para isótopos estables y radionúclidos de un elemento concreto.

- VIDA MEDIA EFECTIVA: Tiempo requerido por el núcleo radioactivo para disminuir su presencia en un sistema el 50% como resultado de una acción combinada de desintegración radioactiva y eliminación biológica.
- VIDA MEDIA RADIOACTIVA: Tiempo requerido por una sustancia radioactiva para que decaiga el 50% de su actividad. Cada radionúclido tiene una vida media propia.
- VIDA MEDIA: El tiempo en el cual la mitad de los átomos de una sustancia radioactiva concreta se desintegran en otra forma nuclear.

VIGILANCIA DE LA SALUD DE LOS TRABAJADORES

Bruno Papaleo, Stefano Signorini, Nicoletta Vonesch, Cinzia Lucia Ursini, Paola Tomao

Introducción

La vigilancia de la salud de los trabajadores es un término genérico, que cubre los procedimientos e investigaciones para vigilar la salud de los trabajadores, con el fin de detectar e identificar cualquier deficiencia. Los resultados de la vigilancia deben utilizarse para proteger y promover la salud de todos los trabajadores y de otros individuos en el lugar de trabajo. Los procedimientos de valoración de la salud pueden incluir -pero no están limitados-: exámenes médicos, controles biológicos, exámenes radiológicos, cuestionarios o revisiones de los datos de la salud.

La vigilancia de la salud de los trabajadores debe ser un componente esencial de los programas de protección del personal, y dichos programas deberán cumplir con los exámenes médicos prescritos por la legislación vigente. Un sistema idóneo para la vigilancia de la salud de los trabajadores incluye valoraciones de la salud individuales y colectivas, notificación y registros de los accidentes y enfermedades, notificaciones centinela de los eventos graves, investigación e inspecciones.

PRINCIPIOS DE VIGILANCIA DE LA SALUD

Propósitos y organización

La vigilancia de la salud se considera una herramienta para mantener la salud de los trabajadores y su protección, valorando la exposición y detectando efectos biológicos incipientes.

La valoración de la salud de los trabajadores es uno de los componentes principales de cualquier programa de prevención en el lugar de trabajo. Los exámenes médicos son el método más común para valorar individualmente la salud de los trabajadores.

Las consultas y exámenes médicos, como parte de un programa de prueba, sirven para cinco propósitos principales:

- Evaluación de la efectividad de las medidas de control en el lugar de trabajo.
- Detección de anomalías preclínicas o clínicas en un punto en el que la intervención es beneficiosa para la salud del trabajador.
- Prevención de posteriores deterioros en la salud del trabajador.
- Refuerzo de los métodos de seguridad en el trabajo y mantenimiento de la salud.
- Valoración de la adecuación a un tipo de actividad particular, teniendo en cuenta que se ha de adaptar el lugar de trabajo a la persona.

La vigilancia de la salud está generalmente considerada como la parte activa de la prevención secundaria, se basa en chequeos periódicos de la salud de los trabajadores con el fin de proteger su salud y prevenir las enfermedades relacionadas con el trabajo. Su propósito es identificar los cambios incipientes en el estado de salud -si es posible, todavía en el estadio subclínico- comprobando la función de los órganos y sistemas que puedan verse afectados por los factores de riesgo del ambiente de trabajo. También se propone detectar cualquier cambio en la salud, que aunque no sea consecuencia de la exposición, puede ser agravado por trabajos concretos o interferir en la actividad normal del trabajo.

La vigilancia de la salud debe ser una parte integral de los amplios planes de promoción de la salud ocupacional, debiendo estar diseñados para identificar los factores de riesgo y los tipos de exposición. La valoración del riesgo es esencial para planear los controles de salud, como indican las Directivas Europeas en este sentido.

El propósito de la vigilancia de la salud (Tabla I) es la protección de la salud y la prevención de las enfermedades del trabajo en el más amplio sentido, incluyendo la prevención del daño, y también la del disconfort cuando se hace de la forma adecuada, pudiendo servir para evitar consecuencias en el futuro. El objeto es conseguir que cuando a un trabajador se le asigne un puesto, este sea el más adecuado a sus habilidades, lo cual evitará repercusiones negativas en su salud y en la de los demás. Esto puede lograrse:

- Estableciendo para el puesto de trabajo los requisitos que debe cumplir la persona, y teniendo en cuenta la posibilidad de que pueda cambiarse de puesto.
- Valorando las condiciones que puedan constituir contraindicaciones en trabajos con riesgos específicos.
- Valorando cualquier condición que pueda empeorar en el futuro como resultado del trabajo asignado.
- Comparar las condiciones actuales con las futuras en dicho puesto.

TABLA I- Principios generales de la vigilancia de la salud

- La vigilancia de la salud forma parte de la seguridad y salud en el trabajo.
- Su propósito principal es la prevención de los daños relacionados con el trabajo y las enfermedades profesionales.
- Está relacionada con los riesgos específicos en cada tipo de trabajo.
- Los procedimientos deben ser periódicamente revalorados y no deben considerarse una mera rutina.
- Sería preferible que forme parte de un servicio de salud ocupacional, organizado de acuerdo a la Convención n°. 171 (la cual desarrolla los servicios de salud ocupacional) adoptada por la OIT en 1985.

La vigilancia de la salud sigue los pasos de la valoración del riesgo. Antes de que un trabajador sea contratado ha de sufrir una valoración de su estado psicofísico para conocer si es adecuado al puesto de trabajo al que se le va destinar, -requiriéndose, por tanto, una evaluación previa de los riesgos existentes en el mismo-, esto hace necesario la utilidad del examen y posteriores chequeos de la salud. Los exámenes médicos de los trabajadores deben diseñarse basándose en la valoración del riesgo (Tabla II). Cambios en los riesgos laborales del lugar de

trabajo deben influir en el programa de vigilancia de la salud (periodicidad de visitas médicas, tipos de pruebas clínicas, vacunaciones, etc.).

TABLA II- Organización de la vigilancia de la salud

<ul style="list-style-type: none">◆ Exámenes médicos para comprobar la salud del trabajador.◆ Pruebas biológicas y otras investigaciones médicas.◆ Notificación y sistema de registro de datos.◆ Inspecciones del lugar de trabajo.◆ Investigación epidemiológica.
<p>El médico del trabajo tiene varias herramientas además de las visitas y exploraciones clínicas para evaluar la salud de los trabajadores. Éstas son:</p> <ul style="list-style-type: none">◆ Pruebas hechas antes de que el trabajador sea contratado (Pruebas pre-contrato)◆ Pruebas hechas antes de que el trabajador sea cambiado de puesto (Pruebas pre-traslado).◆ Pruebas periódicas tras ser contratado (Pruebas periódicas).◆ Pruebas tras dejar de trabajar en ese puesto o la finalización de la vida laboral.

Todos los datos sobre la salud deben ser recogidos, procesados y comunicados, con total confidencialidad y privacidad. Las conclusiones clínicas son utilizadas para la protección de la salud de los trabajadores y valorar su adecuación a un trabajo específico.

Contenidos de la vigilancia de la salud

El médico del trabajo tiene que establecer, en la visita pre-contrato o en los exámenes periódicos, aplicando los principios de la medicina del trabajo, si un trabajador es adecuado para estar expuesto a una serie de factores de riesgo. Esto conlleva la verificación de si las condiciones físicas del trabajador son compatibles con los riesgos laborales del puesto de trabajo. Dependiendo del tipo de riesgo existente, el médico debe valorar, si por sus condiciones físico-patológicas, la persona es idónea para ese trabajo:

- Condiciones que se podrían reactivar o agravar por la exposición a un factor de riesgo.
- Condiciones que podrían aumentar la absorción de un agente químico, físico y/o biológico, o bien reducir la desintoxicación fisiológica y los mecanismos de excreción.
- Condiciones que podrían confundirse con patologías resultantes de la exposición a un agente químico, físico y/o biológico, atribuibles a su acción.

Dependiendo de la naturaleza y del tipo de trabajo, la entidad del riesgo y de las condiciones físicas o mentales que puedan crear problemas de seguridad en el trabajo debemos seleccionar los EPIs a utilizar, ya que también hay patologías que limitan su utilización.

Durante las consultas y exámenes de vigilancia de la salud, el médico debe:

- Concienciar a los trabajadores de los daños y enfermedades potenciales, así como las medidas a tomar para su prevención.

- Informar a los trabajadores de las enfermedades potenciales y de las condiciones de trabajo o exposiciones que están médicamente contraindicadas, avisándoles de que pueden tener ayuda para el tratamiento o corrección de estas condiciones.
- Trasladar a los trabajadores y a los empresarios de la efectividad de las medidas de control.
- Ayudar al empresario a buscar los puestos más adecuados para cada trabajador, según sus capacidades.
- Señalar a las personas jóvenes sus aptitudes físicas y mentales con el fin de guiarlas en la elección de la profesión más adecuada.
- Prevenir la exclusión total de un trabajador de un empleo, buscar el puesto más adecuado a cada trabajador, a pesar de las contraindicaciones, en un trabajo que sea capaz de hacer, teniendo en cuenta las oportunidades de empleo que existan.

Las pruebas y exámenes médicos no deben realizarse de forma superficial, los resultados obtenidos deben ser siempre tenidos en consideración. Se deben aplicar una serie de principios básicos en la vigilancia de la salud, incluyendo:

- Seleccionar las pruebas adecuadas y que sean aceptables por los trabajadores.
- Descartar pruebas que no den datos de relevancia, especificidad y sensibilidad.
- Periódicamente revisar los programas de vigilancia de la salud como un todo y modificarlos para mejorar las condiciones de trabajo.

Los procedimientos para los exámenes médicos comprenden una historia personal y un examen clínico. También pueden incluir cuestionarios, pruebas de diagnóstico, medidas de funciones y pruebas biológicas de los niveles de exposición a agentes ambientales en el lugar de trabajo. Estos exámenes serán reveladores de la naturaleza del riesgo. Los médicos del trabajo encargados de la práctica de la salud laboral son responsables de todos los controles biológicos y de otras investigaciones médicas, así como de la interpretación de los resultados, aunque algunas pruebas pueden ser realizadas por personal de enfermería, técnicos u otro personal bajo su supervisión.

Los exámenes médicos deben hacerse cuando sean apropiados, antes o justo al comenzar un trabajo o desempeñar nuevas tareas, para recoger la información que sirva de base para la futura vigilancia de la salud.

La vigilancia de la salud debe planearse a intervalos periódicos mientras se esté trabajando, debiendo ser adecuados para los riesgos presentes en el puesto de trabajo. También deben programarse exámenes: 1) tras una ausencia prolongada por razones de salud, con el propósito de determinar posibles causas debidas al trabajo, recomendar a los trabajadores medidas de protección, y determinar si puede seguir en el puesto de trabajo, o hay que reasignarlo o rehabilitarlo; 2) a petición del trabajador, por ejemplo, cuando cambie de actividad y, en particular, cuando cambie por razones médicas.

En algunos casos, los médicos del trabajo son requeridos para realizar exámenes a trabajadores que han finalizado su contrato con la empresa, con el fin de cerrar su expediente; se tendrán en cuenta las revisiones periódicas que se le han hecho mientras trabajaba para esa empresa, y se valorarán los efectos que hayan podido producirse sobre su salud. También se realizarán exámenes a trabajadores que ya no estén en la plantilla de la empresa, pero que hayan estado sometidos a agentes que puedan provocar efectos retardados en la salud, con el propósito de diagnosticarlos precozmente y poder tratar la enfermedad, ya sea de piel, pulmón o cáncer.

Los exámenes médicos tienen como propósito prevenir y proteger, no sólo la salud de los trabajadores, sino también el acceso al trabajo, y asegurar los beneficios derivados del sistema de aseguramiento de la salud de cada país. Bajo ninguna circunstancia los exámenes médicos de los trabajadores se utilizarán como sustituto de las medidas de prevención y control de las exposiciones a agentes peligrosos. Los exámenes médicos deben utilizarse para mejorar las condiciones de trabajo y facilitar la adaptación del trabajador al puesto.

Los resultados de los exámenes periódicos, en combinación con la información ambiental de los niveles de exposición, pueden utilizarse para verificar el nivel de protección señalado por los valores límite y contribuir a su revisión. Además, dichos exámenes pueden utilizarse para identificar posibles efectos sobre la salud por: cambios en los métodos de trabajo, organización del trabajo, condiciones de trabajo, nuevas tecnologías, procesos de trabajo o nuevos productos.

En el caso de exposición a riesgos laborales específicos, además de la valoración de la salud descrita anteriormente, la vigilancia de la salud de los trabajadores deberá incluir, cuando sea apropiado, cualquier examen o investigación necesaria para detectar los niveles de exposición y efectos biológicos previos.

Cuando exista un método válido y generalmente aceptado para el control biológico de la salud de los trabajadores, para la detección precoz de los efectos que provoque sobre la salud, la evaluación de riesgos laborales específicos, debe utilizarse para identificar a los trabajadores que necesiten una revisión médica específica, tras el consentimiento individual.

Pruebas biológicas y otras investigaciones

Hay diseñadas pruebas biológicas específicas y otro tipo de investigaciones para detectar cualquier signo de desórdenes orgánicos o exposiciones potencialmente dañinas lo más pronto posible, el uso de estas pruebas está muy extendido. En la mayoría de los casos, forman parte de las revisiones médicas. Las investigaciones están sujetas al consentimiento de los trabajadores y deben realizarse de acuerdo a altos estándares, con el mínimo riesgo.

Las pruebas biológicas y otro tipo de investigaciones médicas deben realizarse bajo la supervisión de un médico y están sujetas a la confidencialidad; deben proporcionar un alto grado de protección a la salud del trabajador, debiendo presentar alta sensibilidad, especificidad y valores predictivos.

Cuando sea posible y apropiado, realizar una selección, la preferencia debe ser hacia métodos no invasivos y exámenes que no pongan en peligro la salud del trabajador. Las pruebas invasivas y los exámenes que pongan en peligro la salud del trabajador, sólo pueden recomendarse, tras una evaluación de los beneficios que puedan reportar al trabajador frente a los riesgos que conlleven, y no puede justificarse como reclamación de un seguro.

Las pruebas de control biológico, que son simples y han sido validadas como niveles de acción, son particularmente útiles en la vigilancia de la salud de los trabajadores cuando se utilizan adecuadamente, y son efectivas cuando se utilizan para el control individual y colectivo de la exposición de los trabajadores. Como siempre, no pueden ser un sustituto de la vigilancia del ambiente de trabajo y de la valoración de exposiciones individuales. En primer lugar se debe tener un criterio ambiental (límites de exposición) relacionado con el biológico (límites de exposición biológicos). Los valores generales encontrados entre el público (límites biológicos) deben ser

tenidos en cuenta, con el fin de valorar adecuadamente los resultados obtenidos en el control biológico.

La vigilancia de la salud de los trabajadores puede venir indicada en la legislación (Tabla III) o no, y puede ser obligatoria o voluntaria.

TABLA III- Principales Directivas con respecto a la vigilancia de la salud de los trabajadores

NÚMERO	MATERIA	ARTÍCULO
89/391/CEE	Directiva Marco en seguridad y salud laboral	14
90/394/CEE 97/42/CE 1999/38/CE	Riesgos con Agentes Cancerígenos 1ª modificación 2ª modificación	14 (Apdo.II)
98/24/CE	Riesgos con Agentes Químicos	10
2000/54/CE	Riesgos con Agentes Biológicos	14

Vigilancia de la salud en la investigación biotecnológica

Los trabajadores que se dedican a la investigación en biotecnología se encuentran en contacto con numerosos agentes biológicos. Los procesos de trabajo requieren que utilicen -o se expongan- a materiales orgánicos contaminados con organismos infecciosos, o potencialmente infecciosos (virus, incluyendo cadenas cancerígenas; bacterias; parásitos; hongos; cultivos celulares; muestras humanas o biológicas; animales de laboratorio; ADN recombinado, etc.).

La Directiva 2000/54/CE propone las medidas de protección de los trabajadores frente a los riesgos por agentes biológicos por manipulación de microorganismos, cultivos celulares y endoparásitos humanos capaces de causar infecciones, efectos tóxicos y alergias, incluyendo los manipulados en biotecnología. El artículo 14 indica como ha de realizarse la vigilancia de la salud de los trabajadores expuestos a agentes biológicos, sin indicar los exámenes médicos específicos. En el anexo IV recoge que el médico responsable de la vigilancia de la salud debe conocer las condiciones y circunstancias de la exposición de cada trabajador, debiéndose valorar la salud de cada trabajador, si es necesario con controles biológicos, con el fin de detectar a tiempo los efectos reversibles.

Los riesgos para la salud relacionados con la exposición laboral a organismos genéticamente modificados se concentran en tres áreas:

- * Inmunopatologías, especialmente alergias.
- * Efectos tóxicos, especialmente los relacionados con la producción de especies complejas o proteínas específicas.
- * Infecciones relacionadas con un amplio espectro de microorganismos.

Valoración del riesgo

Aunque los trabajadores tienen generalmente cuidado con los riesgos biológicos, particularmente desde que se extendieron las patologías relacionadas con el VIH, tienden a ser mucho menos sensibles con respecto a las medidas preventivas que han de tomar. Esto es especialmente cierto, con respecto a trabajos con riesgos por agentes químicos o físicos, o con aquellos factores de riesgo que generan enfermedades crónicas o degenerativas.

Algunos comentarios sobre las características y mecanismos de las enfermedades infecciosas en general, pueden ser útiles para entender la importancia de la valoración del riesgo y de las medidas de control y de prevención frente a agentes biológicos. Una infección aparece, cuando el número de agentes infecciosos alcanza un nivel, donde directamente o a través de la producción de toxinas, afecta a un número lo suficientemente grande de células -normalmente especiales o con funciones únicas- e inducen la enfermedad.

El número necesario de agentes infecciosos para pasar de infección local a una enfermedad, puede expresarse como la carga de la infección, o la mínima cantidad de agente biológicos necesarios para comenzar un proceso patógeno. Ésta varía, en cada caso, dependiendo de la patogenicidad del agente causal, y de la fortaleza del sistema inmunitario del huésped. Una pequeña infección comienza a ser enfermedad, cuando el agente causal es lo suficientemente patógeno para vencer a las defensas del huésped.

El contagio de una infección depende principalmente de la cantidad de patógenos eliminados por el organismo infectado, o presentes en el ambiente, según las rutas de transmisión y eliminación, dependiendo de cuanto tiempo puede el patógeno sobrevivir fuera de un huésped idóneo. También influye la presencia y concentración del patógeno en los fluidos biológicos -habitualmente sangre- que son transmisibles por ciertos mecanismos.

El proceso de infección conlleva diferentes etapas:

- Contaminación de la piel o membranas mucosas por el microorganismo;
- Penetración del microorganismo en los tejidos profundos y acceso al torrente sanguíneo o sistema linfático;
- Localización de ciertos órganos o tejidos;
- Infección;
- Relación dinámica entre el patógeno y el organismo huésped;
- Respuesta activa del sistema inmunológico del huésped.

Los síntomas clínicos indicativos del comienzo de la enfermedad son solamente detectables cuando la infección ha completado su período de incubación, y ya afecta a un cierto número de células o a órganos vitales.

Las rutas de transmisión que pueden aumentar el riesgo de infección en la salud de los trabajadores son:

- * Contacto directo o partículas en forma de aerosol.
- * Núcleos aerotransportados en forma de aerosoles.
- * Transmisión parenteral.
- * Transmisión oro-fecal.

La valoración del riesgo es esencial para la vigilancia de la salud, siendo uno de los criterios básicos. La valoración del riesgo biológico tiene diferentes problemas que la de los riesgos químicos o físicos, ya que éstos son cuantificables con precisión.

Parámetros de vigilancia de la salud

Para cubrir todos los puntos de un programa de vigilancia de la salud necesitamos tener en cuenta diferentes factores:

- * Peligros intrínsecos del agente biológico. Pueden variar mucho dependiendo de cómo se transmitan, su grado de infectividad, patogenicidad, transmisibilidad, etc.

- * El objetivo dificulta la medida de la exposición al agente biológico. Es generalmente complicado cuantificar e identificar las bacterias, virus, o especies de hongos dispersas en el aire, tampoco existen métodos estándar, ni parámetros de referencia. Además, estos microorganismos no están aislados, presentando una amplia variedad bioquímica y morfológica, además tienden a estar en todos los sitios, añadiendo dificultades al control ambiental.

- * No existe curvas dosis-respuesta para los agentes biológicos, por su infectividad, toxicidad y efectos alérgicos. Es imposible cuantificar el riesgo y el daño que pueden producir.

- * No se conoce la dosis umbral por debajo de la cual no hay riesgo para la salud. Para muchos microorganismos la dosis mínima de infección está en la unidad, lo que significa que el mero contacto con el agente biológico es suficiente para iniciar la infección y la enfermedad.

- * No hay límite de exposición con el que comparar el riesgo.

- * Algunos factores son intrínsecos al trabajador, pudiendo presentar condiciones de fácil contagio de enfermedades infecciosas, tales como una inmunodeficiencia congénita o adquirida. Estas condiciones deben ser identificadas con cuidado y evaluada su severidad para cada caso individual.

Está claro que no se pueden planificar las revisiones médicas periódicas para condiciones de trabajo con agentes infecciosos. Los problemas deben ser tratados, caso por caso, cada vez que aparecen, empleando todas las "herramientas" a disposición del médico en la parte básica de vigilancia de la salud.

a) Vigilancia de exposición accidental de los trabajadores

Implica la valoración del incidente y seguimiento de los accidentes en los que haya involucración de agentes biológicos. Debe investigarse para obtener detalles del accidente, registrar como ha ocurrido -apretando cortando, teniendo contacto con piel dañada o enferma, o con membranas mucosas-.

b) Información de la vigilancia de la salud de los trabajadores

Es la principal de las medidas de prevención. En este punto son necesarias investigaciones más profundas, cuándo el trabajador fue contratado, o cuándo fue revisado frente a la exposición a agentes biológicos. En otras circunstancias, dónde se circunscriben los riesgos biológicos o resultan más fácil identificarlos, y las investigaciones pueden abordar con más precisión.

c) Historia médica

La historia médica es el primer paso en una investigación de este tipo y sirve para completar los datos familiares, psicológicos y patológicos del registro general de la salud del

trabajador. Hay muchos cuestionarios útiles en estas situaciones, debiéndose incluir la valoración de:

- Historia laboral, con una descripción del tipo de trabajo o actividad sometida a riesgos biológicos, los métodos de trabajo, clasificados según el nivel de riesgo -alto, medio, bajo- y la frecuencia -ocasional, frecuente, continuo-. Cada trabajador puede clasificarse en base al riesgo real al que esté sometido.
- Actividades extraocupacionales que conlleven riesgo biológico. Por ejemplo, trabajar en una granja, alimentar animales, caza, pesca, etc.
- Hábitos de vida o situaciones con riesgo biológico. Como ejemplos podemos poner, el uso de drogas intravenosas, "piercing", tatuajes, visitas a países extranjeros en zonas consideradas de riesgo.
- Historia de enfermedades infecciosas sufridas por el trabajador. Esto conlleva revisiones cada vez que el trabajador haya sufrido una enfermedad infecciosa en el pasado, si ha sido operado o ha sufrido pruebas de diagnóstico invasivas, diálisis, transfusiones de sangre, acupuntura, modificaciones sustanciales en la dentadura.
- Reconocimiento de estados hipersensibles. Es fundamental en los exámenes preventivos. De forma general, las condiciones individuales de hipersensibilidad a los riesgos biológicos incluyen: patologías de la piel y de las membranas mucosas, lo cual reduce las propiedades de estas barreras, inflamación, inmunodeficiencias congénitas o adquiridas, embarazo, falta de vacunación.

d) Valoración del estado inmune

El estado inmune de un trabajador puede valorarse por pruebas de laboratorio, calibradas teniendo en cuenta el ambiente de trabajo específico. Hay vacunas específicas (Tablas IV y VII) para los trabajadores que no se encuentren ya inmunizados frente a los agentes biológicos que pueda haber en su trabajo, estas vacunas pueden ser suministradas por el médico del trabajo. El médico debe estudiar cada caso individualmente, en relación con el riesgo biológico que conlleva, para establecer si el trabajador la necesita, asegurarse de su eficacia, duración de la inmunidad y cualquier contraindicación.

e) Exámenes médicos

Es importante para valorar la salud general del trabajador, comprobar los órganos y sistemas que pueden ser diana de los agentes biológicos, investigando los signos clínicos de las patologías que pueden causar la hipersensibilidad individual.

f) Pruebas de laboratorio

En el estado de prevención, pueden hacerse pruebas para valorar la salud en general. Esto incluye un análisis completo de sangre con fórmula leucocitaria, glucosa, creatinina, transaminasas, gamma-GT, electroforesis de las proteínas del suero y un análisis completo de orina.

g) Revisiones médicas periódicas

La legislación vigente no indica protocolos específicos para los trabajadores sometidos a riesgos biológicos. Los médicos deben decidir qué trabajadores deben estar bajo vigilancia y cuándo.

Conclusiones

La vigilancia de la salud es uno de los factores que junto con la valoración del riesgo, sirven claramente para controlar el riesgo biológico en el lugar de trabajo.

La vigilancia epidemiológica es la base para la vigilancia de la salud, y debería llevarse a cabo en todos los centros de trabajo, todo esto conlleva la identificación y cuantificación de los riesgos, y la clasificación, por nivel de riesgo, de las zonas de trabajo, de los trabajos y/o actividades.

Para los trabajos con manipulación de organismos genéticamente modificados (MMG), las pruebas de diagnóstico deben considerarse: la exposición, contacto o posible colonización y/o la infección por MMG y sus productos. Por ejemplo, para trabajadores que manejen MMG de clase 2, la infección causada por vectores retrovirales puede detectarse controlando la expresión de las proteínas retrovirales, buscando virus infecciosos e identificando la respuesta inmunológica a ellos. El manejo de MMG clase 1, aunque tiene pocos riesgos con efectos adversos para la salud de los humanos, puede conllevar riesgos de contaminación con productos genéticos y, aunque algunos de éstos pueden emplearse como vectores de transferencia genética en células eucarióticas, pueden (aunque es poco probable) insertarse en el genoma de los trabajadores expuestos.

Tabla IV- Agentes biológicos para los que existen vacunas.

Bordetella pertussis	Encefalitis verno-estival Rusa
Clostridium tetani	Fiebre amarilla
Corynebacterium diphtheriae	Virus de la hepatitis A, B, D
Mycobacterium africanum	Virus de la influenza A,B y C
Mycobacterium bovis	Virus del sarampión
Mycobacterium tuberculosis	Virus de las paperas
Neisseria meningitidis	Poliovirus
Salmonella paratyphi A, B, C	Monkeypox virus
Salmonella typhi	Smallpox (variola major) virus
Yersinia pestis	Whitepox (variola minor) virus
Flebovirus de la Fiebre del Valle del Rift	Virus de la Rabia
Virus de la Encefalitis de las garrapatas de Europa Central	Encefalomiелitis equina Americana oriental
Encefalitis B Japonesa	Alfavirus de Encefalomiелitis equina Americana occidental
Flaviviridae del Bosque de Kyasamur	Alfavirus de Encefalomiелitis equina Venezolana
Omsk	Rubivirus (rubeola)

Peligros químicos

El personal que trabaje en la investigación biotecnológica está expuesto a una gran variedad de agentes químicos potencialmente dañinos. Las formas de exposición difieren de otros tipos de exposiciones laborales en diversos aspectos. En primer lugar incluyen muchos agentes tóxicos para la reproducción. En segundo lugar, la toxicidad individual o combinada de estos agentes en humanos no se detecta con facilidad, y no siempre existen técnicas de descontaminación o de

destrucción, y si las hay no son utilizadas de forma habitual. Finalmente, la rápida innovación y cambios en las técnicas de investigación biotecnológica, especialmente con el desarrollo de la biología molecular, y por tanto de los cambios en los productos utilizados. Estas características, combinadas con un ambiente de trabajo muy competitivo, explican por qué el objetivo de la vigilancia de las condiciones de trabajo es extremadamente difícil en este campo, donde esencialmente se busca el grado de cumplimiento de "las buenas prácticas de laboratorio" y una vigilancia específica de la salud.

El abanico de agentes manipulados en la investigación biotecnológica incluye solventes, alquilantes, intercaladores y agentes promotores; aminas aromáticas; hormonas; metales pesados, etc. Muchas sustancias como los solventes pueden inocularse y se manipulan sin precauciones; al final de los años 70 se publicaron trabajos en los que ya aparecían los efectos adversos a largo plazo de estos agentes. En contraste, sustancias de las que se conoce su inmediata y alta toxicidad son manipuladas con gran cuidado, pero sus efectos a largo plazo y los valores umbrales de exposición son desconocidos.

El uso de campanas en los laboratorios comenzó a extenderse a partir de los años 70 y se desarrolló métodos experimentales para pequeñas cantidades de agentes químicos. Esta evolución, y probablemente una mejor protección de la piel con guantes, han reducido sustancialmente los niveles de exposición en el laboratorio, pero las fuentes siguen siendo muy numerosas.

Las múltiples exposiciones en un laboratorio hoy día, introducen una dificultad adicional en el diseño y aplicación de los estudios epidemiológicos; en contraste con los trabajadores de la industria química, el personal de los laboratorios está expuesto a una gran variedad de agentes químicos procedentes de muy diversas fuentes -bioquímicas, físicas o biológicas-, pero probablemente a mucho más bajo nivel. Esto explica por qué no se han valorado cuantitativamente estas exposiciones específicas. De hecho la mayoría de los estudios no valoran la exposición. Otra dificultad metodológica proviene del uso de los datos de mortalidad, en vez de los datos de incidencia.

Las sustancias que más se utilizan en los laboratorios actúan de forma aguda o crónica. Los efectos se relacionan con: el tiempo de exposición y la concentración en el aire, la ruta de penetración, y las propiedades físico-químicas de los contaminantes presentes. Estos efectos pueden estar influenciados por la presencia de otros agentes químicos, la ingestión de medicinas o de drogas.

En un programa de vigilancia de la salud es muy complicado tener indicadores específicos que nos muestren signos preclínicos de una sola sustancia o de exposiciones múltiples a bajas dosis.

Para algunos agentes químicos la estimación de la exposición a través del control se basa en estudios con resultados similares y reproducibles, mientras que para otros todavía no se conocen muchos parámetros. La valoración del riesgo para la salud utilizando biomarcadores de exposición sólo es posible para unas pocas sustancias químicas. En la tabla V, aparecen algunas de estas sustancias y sus biomarcadores.

Otro método es utilizar tests específicos conocidos como "indicadores de la exposición integrada", particularmente cuando no se conoce la composición exacta de las sustancias a las que se encuentra expuesto el trabajador, o cuando las concentraciones de algunas de ellas son demasiado bajas para poder ser medidas. El test para valorar la función de las enzimas

microsomiales del hígado, por ejemplo, nos da un indicador de la exposición integrada del trabajador a los disolventes orgánicos.

Tabla V- Principales agentes químicos utilizados en laboratorio, su carcinogenicidad y biomarcadores de exposición.

SUSTANCIAS QUÍMICAS EN EL LABORATORIO	BIOMARCADORES DE LA EXPOSICIÓN
Acetona	Acetona en orina
Arsénico*	Arsénico inorgánico Metabolitos en orina
Benceno*	Ácido S- fenilmercatopúrico en orina
M – Xileno	Ácido Metilhipúrico en orina
Mercurio	Mercurio Total en sangre y orina
Metanol	Metanol en orina
O – Xileno	Ácido Metilhipúrico en orina
P- Xileno	Ácido Metilhipúrico en orina
Fenol	Fenol en orina
Fenylmetilsulfonil fluoruro	Fluoruro en orina
Tolueno	O - cresol en orina, Acido hipúrico en orina y tolueno en sangre
Tricloroetileno*	Ácido Tricloroacético y tricloroetanol en orina, tricloroetanol en sangre, tricloroetileno en aire espirado y en sangre
Xileno	Ácido Metil hipúrico en orina

Riesgo de carcinogenicidad

Algunos de los productos químicos utilizados en el laboratorio son carcinógenos. La vigilancia de la salud con respecto a esta sustancia está a un paso de la estrategia de la prevención (tabla VI), la cual sólo es efectiva si, como siempre todas las medidas son aplicadas, y de forma simultánea. Desde el punto de vista de prevención si sólo se aplican algunas de ellas el resultado no será satisfactorio.

Tabla VI-Estrategia de prevención para trabajadores expuestos a carcinógenos.

• Valoración del grado, naturaleza y duración de la exposición.
• Sustituir o reducir el uso de sustancias carcinógenas.
• Adopción de sistemas cerrados.
• Reducción de la exposición al nivel más bajo técnicamente posible.
• Limitación de las cantidades de sustancias carcinógenas.
• Limitación del número de trabajadores expuestos.
• Eliminación de los carcinógenos en la fuente.
• Aplicación de procedimientos de trabajo adecuados.
• Medida de protección colectiva y/o personal.
• Prohibir comer, beber y fumar en todas las áreas donde haya el mínimo riesgo de contaminación por carcinógenos.

Una apropiada vigilancia de la salud programada, para todos los trabajadores, debe establecerse antes de la exposición, y a intervalos regulares durante la duración del trabajo. No pueden recomendarse pruebas específicas para efectos biológicos tempranos ya que su valor predictivo en la aparición de tumores es dudoso; no hay criterios válidos para atribuir cualquier cambio de los agentes específicos en el lugar del trabajo. Además aunque las pruebas dieran resultados negativos no puede asegurarse que no existan otros efectos potenciales.

Existe legislación obligando a los trabajadores a una vigilancia de la salud siempre que se hallen expuestos a agentes carcinógenos. También existen reglas generales que indican la necesidad de los exámenes de la salud, al menos una vez al año, con pruebas suplementarias apropiadas, muy útiles como oportunidad para explicar a los trabajadores el significado de las limitaciones de los procedimientos de vigilancia de la salud y las reglas generales y específicas en la prevención.

Claramente esta aproximación directa da prioridad a la prevención primaria, con quizás poca atención en las medidas secundarias. Esto parece "éticamente", pero una vez se ha identificado la exposición del trabajador a los carcinógenos, se le puede dar la mejor vigilancia que la ciencia pueda ofrecer. Por tanto, parece recomendable aumentar el uso de pruebas basadas en la detección de la carcinogénesis en sus primeros estadios, o al menos en los estados preclínicos. En los últimos años, varios métodos han sido propuestos, algunos no han sido factibles o eficaces para detectar "efectos tempranos", pero son un buen trabajo de base teórica para considerar su utilidad práctica.

Una serie de marcadores, referidos generalmente como "citogénicos", reflejan alteraciones de las secuencias genéticas de las células; estas pruebas detectan principalmente aberraciones cromosómicas, intercambios de cromátidas hermanas (SCE) y, micronucleidos. No son marcadores específicos de la respuesta biológica.

El SCE se utiliza principalmente para carcinógenos químicos y fue estudiado por primera vez en pacientes que recibieron drogas antitumorales. El SCE es inducido con precisión y no vuelve a detectarse una vez que el paciente completa la terapia. Estas aberraciones locales -en las cromátidas- están afectadas por otros factores que pueden confundir, particularmente el fumar cigarrillos, pero son consideradas más sensibles que las aberraciones cromátidas y pueden valorarse con más facilidad y rapidez. Estos marcadores de lesiones en estadios tempranos, no son específicos de ningún agente químico, por tanto no pueden ayudar a identificar, e incluso, cuantificar al agente causal.

El conteo de micronucleidos en linfocitos periféricos es incluso una prueba más rápida que el SCE y las aberraciones cromosómicas, cuando las alteraciones persisten. Como siempre es todavía difícil cuantificarlas con precisión.

Para tener una visión general de los tres indicadores citogénicos más utilizados, es esencial tener en cuenta que cada uno individualmente es al menos un marcador de la exposición personal. Se han encontrado correlaciones positivas entre su aparición y la citotoxicidad, mutaciones, transformaciones celulares y formación de tumores *in vitro* y en animales. Tienen un valor predictivo del tumor, si se encuentran en células del tallo de las plantas, como ocurre con los tumores raros, como el retinoblastoma. Es posible utilizarlos en asociación con aductos.

Se ha sugerido que una forma definitiva de encontrar aberraciones cromosómicas -cuando pueden ser detectadas- puede servir como indicador no sólo de la exposición, sino también de un efecto para la salud, pero todavía existe controversia acerca de esto. Estas aberraciones reflejan exposiciones acumulativas e indican el grupo de efectos genotóxicos. Si se confirman repetidamente en comparación con el grupo de control, pueden considerarse como una señal de alarma. Esto se debe a que en la práctica estos efectos, raramente, están muy marcados. Además en poblaciones con exposición laboral no hay una correlación significativa con este tipo de respuestas.

¿Cuál es la mejor forma para detectar este amplio qué oncogen está implicado y qué tumor puede inducir, podemos diseñar un plan específico con medidas de las dosis internas, incluyendo dosimetría molecular, pudiendo seleccionar de forma racional indicadores de dosis para obtener los efectos biológicos, y también indicadores de los efectos biológicos tempranos en células somáticas o germinales. Si, como siempre, no sabemos cuál es el agente específico responsable de ese tumor laboral, el problema es mucho más complicado y no tendremos soluciones prácticas. Se sugiere el uso de indicadores específicos como el de mutagenicidad urinaria y el de aberraciones cromosómicas, pero los resultados pueden ser interpretados de forma ambigua con facilidad.

Bibliografía

- * ALBERTINI R. J., ANDERSON D., DOUGLAS G. R., ET AL. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. *Mutations Research* 2000; 111 - 172
- * ALESSIO L., PORRU S. Criteri e metodi di controllo periodico dei lavoratori esposti a rischio biologico. 62° Cong. Naz. Soc. It. Med. Lav. Ig. Ind. Genova 29 settembre- 2 ottobre 1999.
- * ALESSIO L., APOSTOLI P., CRIPPA M. Esposizioni multiple
56° Cong. Naz. Soc. It. Med. Lav. Ig. Ind. Venezia 20 - 23 Ottobre 1993
- * CORDIER S., MOUSEL M. L., LE GOASTER C., ET AL. Cancer risk among workers in biomedical research. *Scand J Work Environ Health* 1995; 21: 450 - 9
- * FRANCO G., ALESSIO L., SAIA B. La sorveglianza sanitaria: dalla presunzione del rischio alla valutazione del rischio. *G. Ital. Med. Lav. Erg.* 2000; 22: 2, 156 - 161
- * RACHET B., PARTANEN T., KAUPPINEN T., SASCO A. J. Cancer Risk in Laboratory Workers: An Emphasis on Biological Research. *American journal of industrial medicine* 2000; 38: 651 - 665 (2000)
- * PIRA E., PIOLATTO P. G., SCANSETTI G. Criteri e metodi per il controllo periodico dei lavoratori esposti a cancerogeni. 62° Cong. Naz. Soc. It. Med. Lav. Ig. Ind. Genova 29 settembre - 2 ottobre 1999.

PRECAUCIONES PARA EL USO DE AGENTES BIOLÓGICOS Y QUÍMICOS

Mariangela Miele, Bernardetta Ledda, Francesca Cavalli, Dimitri Sossai

En los laboratorios de investigación biotecnológica se manipula una gran variedad de agentes químicos y biológicos que pueden ser peligrosos para la salud y el medioambiente. Una lista de todos los agentes y compuestos utilizados y de los riesgos presentes en el laboratorio puede resultar de gran utilidad. Este manual se limita a proporcionar la información que permita a los investigadores definir las precauciones que deben tomarse en su trabajo, si no vienen indicadas en la legislación en vigor.

En las tablas V y VI aparecen las principales fuentes de riesgo químico y biológico. Las tablas aportan indicaciones prácticas con el fin de evitar o disminuir la contaminación durante las operaciones de trabajo más frecuentes en los laboratorios, (David, 1997; Sambrook et al. 1989):

- Amplificación y reacción en cadena de la Polimerasa (PCR) de ADN y ARN;
- Análisis y manipulación de ADN, ARN y oligonucleótidos;
- Ceración por recombinación de hileras de ADN, preparación de insertos para la clonación;
- Extracción de ADN de animales, plantas y células bacterianas;
- Extracción de ADN plasmático;
- Introducción de ADN en células de mamíferos, plantas y células bacterianas;
- Secuenciación genética;
- Técnicas de hibridación;
- Uso de vectores en la preparación de ADN mediante fagos lisados.

Como siempre recordar que antes de utilizar un compuesto químico es necesario leer la etiqueta y la ficha de seguridad para informarse de las precauciones a tomar durante su uso.

Tabla IV. Principales agentes químicos y físicos utilizados para Descontaminación* (De), Desinfección (Di) y Esterilización*** (St)**

AGENTES FÍSICOS Y QUÍMICOS	ACTIVIDAD	VENTAJAS	USOS	OBSERVACIONES
Alcoholes (etanol, alcohol isopropílico) De, Di	<ul style="list-style-type: none"> - Desnaturalización de proteínas - Inhibición de las células - Metabolismo 	<ul style="list-style-type: none"> - Bajo costo - Baja toxicidad - Alta actividad bacteriana y micobacteriana - Pequeña actividad en virus - No interacción con detergentes 	<ul style="list-style-type: none"> - Excelente antiséptico para piel (intacta) 	<ul style="list-style-type: none"> - Inactivado por la suciedad - Póbremente inactivado por proteínas, materiales naturales y sintéticos, agua dura - Inflamable - Muy baja toxicidad para los ojos - No actividad con hongos y esporas
Aldehídos St	<ul style="list-style-type: none"> - Desnaturalización de proteínas - Alquilación de ADN y ARN 	<ul style="list-style-type: none"> - Activo en bacterias , micobacterias, esporas (sobre 40°C Formaldehído, sobre 20°C Glutaraldehído) y hongos - Muy baja actividad viral 	<ul style="list-style-type: none"> - Esterilización de instrumentos no resistentes al calor 	<ul style="list-style-type: none"> - Dependiente de la temperatura, tiempo de contacto y pH - Alta toxicidad (formaldehído es carcinogeno) - Póbremente inactivado por proteínas, materiales naturales y sintéticos, agua dura (no utilizar glutaraldehído con proteínas) - Baja toxicidad para los ojos, piel, pulmones; posible efectos alérgicos e irritantes
Clorhexidina De, Di	<ul style="list-style-type: none"> - Interacción con la membrana celular 	<ul style="list-style-type: none"> - Baja toxicidad - Sólo activo en esporas 	<ul style="list-style-type: none"> - Antiséptico local para heridas y abrasiones 	<ul style="list-style-type: none"> - Incompatible con detergentes aniónicos
Hipoclorito sódico De, Di	<ul style="list-style-type: none"> - Oxida los enlaces peptidos - Desnaturalización de proteínas 	<ul style="list-style-type: none"> - Bajo coste - Amplio rango - Fácilmente encontrable - Alta actividad en bacterias - Discreta actividad con micobacterium y esporas - Escasa actividad en virus y hongos 	<ul style="list-style-type: none"> - Desinfectante de superficies - Tratamiento del agua 	<ul style="list-style-type: none"> - Sensible al pH - Enlaces con sustancias orgánicas - Baja toxicidad para los ojos, piel, pulmones - Inactivado por proteínas - Póbremente inactivado por proteínas, materiales naturales y sintéticos, agua dura y detergentes catiónicos - No puede ser utilizado con ácidos y bases fuertes

AEDT (Ácido etilendiamín tetracético)	- Aumenta la permeabilidad de la membrana y la pared celular	- Aumenta la eficiencia de los antibióticos	- Pseudomonas - Proteus - Estafilococcus	- Baja actividad bacteriana - No tiene un amplio espectro
Óxido de Etileno	- Desnaturalización de ácidos nucleicos	- Alta actividad bacteriana	- Esterilización de instrumentos no resistentes al calor	- Carcinogénico - Tóxico - Mutagénico - Inflamable - Explosivo
Iodo Di	- Interrumpe los mecanismos de transporte de oxígeno	- Esporicida - Biocida	- antiséptico de la piel quirúrgico	- toxico - solo activo en ciertas formas
Peróxidos (peróxido de hidrógeno, -plasma, gas-) St	- Disuelve las paredes de la célula - Desnaturaliza las proteínas	- Bajo coste (peróxido de hidrógeno) - No contamina el ambiente - No es tóxico para tejidos biológicos	- Esterilización de pequeños aparatos e instrumentos del laboratorio	- Citotóxico - Baja estabilidad - Instrumentación cara (para gas de plasma) - Baja eficacia en presencia de material orgánico
Ozono Di	- Superoxígeno	- Se disuelve en agua - No deja residuos	- Desinfección con agua	- Inestable - Irritante
Fenoles Di	- Penetra a través de las paredes de la célula - Desnaturaliza las proteínas	- Penetra en superficies de madera y porosas - Alta actividad bacteriana y con hongos - Moderada actividad con micobacterias - Baja actividad vírica	- Antiséptico tópico - Desinfectante ambiental	- Tóxico - Actividad esporicida mínima - Moderadamente inactivado por materiales naturales y sintéticos - Póbremente inactivado por proteínas y agua dura - Muy baja toxicidad para la piel y ojos
Amonio cuaternario y sales fenólicas de amonio cuaternario De, Di	- Interacciona con la membrana celular y perjudica la permeabilidad	- Surfactantes que destruyen lípidos - Utilizable en superficies - No tóxico para los mamíferos	- Desinfectante ambiental	- Inactivado por lípidos - Puede liberar nitrógeno

Vapor a presión (autoclave) St	- Desnaturaliza proteínas y ácidos nucleicos	- Activo con bacterias, micobacterias, hongos y virus - Sistema de alta eficiencia esporicida	- Pequeños instrumentos - Equipos resistentes a altas presiones (1-3 bar) y altas temperaturas (120-130 °C)	- Destruye por calor materiales frágiles - Insuficiente contra organismos resistentes al vapor
Calor seco (hornos de aire caliente) -100°C durante 1h- -160°C durante 2h- -170°C durante 1h St	- Desnaturaliza proteínas y ácidos nucleicos	- Activo frente a bacterias, micobacterias, hongos y virus	- Esterilización de material que se daña con el agua o vapor (cristal, instrumentos afilados, metal)	- Destructivo para materiales que no pueden soportar las altas temperaturas por un período de tiempo
Luz Ultravioleta St	- Actúa sobre el ADN y crea dímeros de timidina	- Barato - Amplio espectro	- Esterilización de superficies, agua y aire	- Actúa en superficies, opera en amplios espacios y requiere un correcto mantenimiento con limpieza frecuente de la lámpara; una fina capa de polvo puede hacer que no funcione
Radiación Gamma St	- Desnaturaliza proteínas, ADN y las paredes de la célula	- Rápido - Amplio espectro	- Instrumentos y equipos pequeños	- Requiere un equipo caro

- *Descontaminación:** destrucción de la mayoría de los microorganismos; está siempre complementada con la esterilización o desinfección de materiales que han estado en contacto con patógenos.
- **Desinfección:** eliminación de la mayoría o todos los microorganismos patógenos (con la excepción de las esporas) para objetos inanimados. El agente utilizado se llama *desinfectante*, cuando se aplica a objetos y al ambiente, *antiseptico* para tejidos vivos (piel, mucosas, membranas) y generalmente, tiene un organismo diana específico. Normalmente el proceso de desinfección emplea sustancias químicas o pasteurización.
- ***Esterilización:** completa eliminación o destrucción de todas las formas de vida microbiana. Tiene un amplio espectro de actuación sobre: microorganismos patógenos y no patógenos, esporas y formas vegetales. El agente utilizado es llamado *esterilizante* (bactericida, germicida). Es empleado, tanto en hospitales, como en laboratorios de investigación por procesos químicos y físicos. Las aplicaciones más comunes son: esterilización por vapor (autoclave), calor seco (hornos de aire caliente), esterilización por gas (óxido de etileno, ozono), agentes químicos.

Tabla V. Principales fuentes de riesgo biológico en laboratorios de investigación

ACTIVIDAD	RIESGO	PREVENCIÓN
Hibridación	Naturaleza de la sonda y tejidos (humanos, animales o plantas). El riesgo está unido al uso de sondas y está limitado por los oligonucleotidos.	Deben aplicarse las precauciones clásicas para las muestras potencialmente infecciosas. Para evitar posibles infecciones, han de manipularse en condiciones estériles.
Inmortalización de células usando vectores virales.	El contacto con la piel puede provocar tumores. Formación de aerosoles	Precisa determinación del riesgo. Utilizar el nivel de seguridad más alto posible. Reducir la formación de aerosoles.
Manipulación de líquidos biológicos (sangre, plasma, suero) y células o tejidos de animales infectados.	Riesgo asociado a la toma de muestras y su manipulación. Formación de aerosoles	Manipularlo todo como si estuviera infectado. Evitar el contacto con la piel, células y tejidos. Reducir la formación de aerosoles. Manipular los residuos de forma adecuada.
Naturaleza de las colonias bacterianas y de las células humanas, animales y de plantas utilizadas.	Riesgo de contaminación (colonias bacterianas) y de una posible infección (células humanas, animales y de plantas). Los riesgos pueden ser debidos a la naturaleza de lo que se inserta, las células o el suero u otros agentes que pueden estimular la proliferación indeseable del cultivo. Formación de aerosoles.	Se ha comprobado la protección frente a microorganismos con el uso de guantes, máscaras (parciales o totales, para protección del tracto respiratorio) y con máscaras autónomas. *
Naturaleza del ADN (bacteriano, animal, plantas, plásmidos, genes codificados para toxinas, secuencias de naturaleza desconocida, ADN para secuenciar) y vectores.	Formación de aerosoles. Evitar el contacto con la piel y la ingestión.	Manipular en cabina de seguridad biológica con guantes y máscara. Eliminar los desechos adecuadamente para proteger el ambiente.
Naturaleza del ARN	Células: posible infección Animales: posible infección. Bacterias: riesgo de contaminación	Evitar el contacto con la piel (utilizar guantes) y su ingestión. Eliminar los desechos adecuadamente para proteger el ambiente.
Naturaleza del vector y del insertante.	Peligroso por contacto y para el ambiente.	Evitar el contacto con la piel (utilizar guantes) y su ingestión. Eliminar los desechos adecuadamente para proteger el ambiente.
Peligro específico en el uso de retrovirus	Posibilidad de contaminación por aerosoles.	Uso adecuado de los niveles de contención

Vectores bacteriófagos con insertos modificados: riesgos que conlleva la inserción de nuevas secuencias, con métodos nuevos e imprevisibles de autopropagación.	Posibilidad de contaminación por aerosoles.	Precisa determinación del nivel de contención (> L1), para evitar la difusión. Mantener la inmunodeficiencia bajo control. Evitar el contacto con la piel y aerosoles. Verificar la existencia de medidas especiales, en relación con los organismos tratados. Creación de un plan de emergencias.
---	---	--

* Para máscaras, que sean eficientes frente a partículas del tamaño de submicras (polvos y aerosoles ultrafinos), los sistemas de filtración utilizados deben tener una eficiencia de al menos el 99,99% para partículas de 0,3 micrometros (clase P3), de acuerdo a la Norma EN 143; esta es la única mascarilla eficiente frente a los riesgos biológicos. Los guantes deben ser del tipo probado con phiX-174 para protección frente a microorganismos (de acuerdo a la Norma EN 374)

Tabla VI. Principales fuentes de riesgo químico en los laboratorios de investigación

COMPUESTO	RIESGO	PREVENCION
2,3,5- Triiodobenzoico, ácido (TIBA)	Nocivo	1, 2, 3
3,5- dimetoxi -4- hidroxiacetofenona (Acetosiringona)	Irritante de los ojos, tracto respiratorio y piel.	1, 2, 4
5-Bromo-4-cloro-3-indolil-fosfato (BCIP), X-Phos	Tóxico	1, 2, 3
5-Fluoro orotico, ácido (5-FOA):	Nocivo	1, 2, 3
5-Fluorouracil	Nocivo	1, 2, 3
6-Fosfonogluconico, ácido -6-Fosfo-D-gluconato (6-Pg):	Irritante	1, 2, 4
8-Hidroxiquinolona	Nocivo	1, 2, 3
Acetonitrilo	Inflamable, tóxico.	1, 2, 3
Acrilamida	Tóxico, alergénico, carcinogénico, neurotóxico cuando no se encuentra en la forma polimerizada.	1, 2, 3
Actinomicina D	Muy tóxico	1, 2, 3
Adenina hemisulfato	Irritante	1, 2, 4
Aluminio, Cloruro de	Irritante	1, 2, 4
Amfotericin B	Nocivo	1, 2, 3
Amiprofos methyl	Nocivo	1, 2, 4
Amonio, Acetato de	Irritante	1, 2, 4
Amonio, Cloruro de	Irritante	1, 2, 4
Amonio, Hidrógeno carbonato de	Nocivo	1, 2
Amonio, Nitrato de	Irritante; oxidante Provoca reacciones violentas con sustancias reductoras	1, 2, 4
Amonio, Peroxodisulfato de (amonio, persulfato de, APS)	Irritante; oxidante Provoca reacciones violentas con sustancias reductoras	1, 2, 3
Amonio, Sulfato de	Irritante	1, 2, 4
Amsacrine	Muy tóxico	1, 2, 3
Anhidrido acético	Corrosivo Emite vapores altamente irritantes. Evitar la inhalación y el contacto con la piel y ojos	1, 2, 4
Antibióticos	Nocivo Irritante Riesgos asociados a la resistencia a antibióticos	1, 2, 3
Azul de Bromofenol (3',3'',5',5''-tetrabromofenolsulfoneftalina) sal sódica	Nocivo	1, 2, 3
BES (N,N-bis[2-hidroximetil]-2-ácido aminoetanesulfónico)	Irritante	1, 2, 4
Bleomycin sulfato	Nocivo	1, 2, 3
Borico, Ácido	Nocivo	1, 2, 3
Caesio, Cloruro	Nocivo	1, 2, 3
Calcio, Cloruro	Irritante	1, 2, 4

Calcio, Nitrato	Irritante Oxidante Provoca reacciones violentas con sustancias reductoras	1, 2, 4
Carboxin (5,6-dihidro-2-metil-1,4-oxatiin-3-carboxanilida)	Nocivo	1, 2, 3
Cellular-polvo	Nocivo	1, 2, 3
CHAPS (3-[(3-colamidopropil)dimetil-amonio]-1-propanesulfonato)	Nocivo	1, 2, 3
Cloroformo	Peligroso por inhalación y contacto, especialmente cuando se encuentra mezclado con fenol.	1, 2, 3
Cloruro férrico anhidro/hidratado tetrahidratado/hexahidratado	Nocivo; Corrosivo	1, 2, 3
Cobalto, Cloruro	Nocivo	1, 2, 3
Cobre, sulfato pentahidrato anhídrido	Nocivo Peligroso para el medio ambiente, irritante	1, 2, 3. Organizar un método adecuado para su desecho como residuo
Colcemid® (N-deacetil-N-metilcolchicina)	Tóxico	1, 2, 3
Colchicina	Muy tóxico	1, 2, 3
Destomycin A	Irritante	1, 2, 4
Dietil eter	Muy Inflamable Puede formar peróxidos explosivos. Tiene efectos antisépticos.	1. Almacenar en un lugar bien ventilado, lejos de las llamas y chispas. No fumar. Evitar la acumulación de cargas electrostáticas. No tirar los residuos por el desagüe.
Dietilpirocarbonato (DEPC)	Dietilpirocarbonato (DEPC): Sustancia muy inestable que puede autodescomponerse, explotar y liberar CO ₂ . Se sospecha que es carcinógeno.	1, 2, 4. Organizar un método adecuado para su desecho como residuo
Dihydrogeno Fosfato de Amonio	Irritante	1, 2, 4
Dimetil Eter	Altamente volátil Extremadamente inflamable.	1. Manipular bajo campana. Almacenar en un local ventilado y a prueba de explosiones.
Dimetil Sulfato (DMS)	Mutagénico	1, 2, 3. Almacenar el residuo en botellas conteniendo NaOH. 5N
Dimetil Sulfoxido (DMSO)	Tóxico, evitar todo contacto.	1, 2, 3
Dimetilformamida (DMF) y Formamida	Tóxico y tóxico para la reproducción, penetra fácilmente a través de la piel causando malformaciones.	1, 2, 3. Utilizar contenedores de cristal o polipropileno, la dimetilformamida disuelve al plástico común. Organizar un método adecuado para su desecho como residuo. Almacenar en un lugar bien ventilado y seco.
Doxorubicin HCl	Tóxico	1, 2, 3
Espermidina ([N-(3-aminopropil)-1,4-diaminobutano)	Corrosivo	1, 2

Etidium Bromuro (ETB)	Polvo mutagénico y moderadamente tóxico. Evitar la inhalación	1, 2 Se descontaminan las soluciones con un oxidante fuerte.
Etil Alcohol	Peligro de explosión	1
Etilendiamina férrica (Fe-EDDHA)	Nocivo	1, 2, 3
Etilendiamina Tetracético Ácido (EDTA)-férrico, sódico y sales disódicas	Irritante	1, 2, 4
Fenol	Neurotóxico Peligroso el contacto con la piel y la inhalación, especialmente cuando se encuentra mezclado con cloroformo).	1, 2, 3. Recoger en contenedores adecuados y organizar un método adecuado para su desecho como residuo
Férrico, Sulfato	Nocivo	1, 2, 3
Floroglucinol (1,3,5-Trihidroxienzeno)	Irritante	1, 2, 4
Fluoresceína Isotiocianato (FITC)	Nocivo	1, 2, 3
Folínico, Ácido (sal cálcica):	Irritante	1, 2, 4
Formaldehído	Muy tóxico Puede provocar tumor nasal, si se inhala.	1, 2, 3. Organizar un método adecuado para su desecho como residuo
Fórmico, Ácido	Corrosivo Tóxico Se absorbe fácilmente a través de la piel.	1, 2. Organizar un método adecuado para su desecho como residuo. Almacenar en un lugar bien ventilado y seco.
Fosfato, buffer Salino-pH 7,4	Irritante	1, 2, 4
Fyto-hormonas (auxin, cytokinin, auxin-like y cytokinin-like, sintéticas o no.	Nocivo	1, 2, 3
Giemsa-solución (Azure eosin, azul de metileno):	Inflamable Tóxico	1, 2, 3
Glacial, ácido acético	Corrosivo Emite vapores altamente irritantes. Evitar la inhalación y el contacto con la piel y ojos.	1, 2, 4
Glyfosato (N-fosfonometilglycina)	Irritante	1, 2, 4
Griseofulvina	Nocivo	1, 2, 3
Guanidina hidrocloruro	Irritante	1, 2, 4
Guanidina Isocianato	Nocivo	1, 2, 3
HEPES (N-[2-hidroxietil]piperazina-N'-[2-ácido etanesulfónico])	Irritante	1, 2, 4
Hidrazina	Tóxico Explosivo en estado anhidro	1, 2. Almacenar el residuo en botellas conteniendo Cloruro Férrico 3M.
Hidroclórico, Ácido	Corrosivo Emite vapores altamente irritantes.	1, 2, 3, 4
Higromicina B	Muy tóxico	1, 2, 3
Iodoacetamida	Peligroso, si se inhala	1, 2, 3
Isoamílico, Alcohol	Peligroso por inhalación y contacto	1, 2
Isopropílico, Alcohol	Explosivo	1, 2

Jasmónico, Ácido (∇) ([∇]-1□,2□-3-oxo-2-[cis-2-penty]ciclopentaneacético ácido)	Irritante	1, 2, 4
L-Arginina	Irritante	1, 2, 4
Lysis buffers: Tris/Glucosa/EDTA	Ver TRIS, EDTA	
Magnesio, cloruro-solution	Irritante	1, 2, 4
Maleico hidrazida	Muy tóxico	1, 2, 3
Malico, Ácido-(DL)	Irritante	1, 2, 4
Manganeso Sulfato	Nocivo	1, 2, 3
Material fotográfico	Peligroso si se inhala y el contacto con la piel y ojos.	1, 2, 4
MES (2-(N-Morfolino) etanesulfónico ácido)	Irritante	1, 2, 4
Metanol (metil alcohol):	Inflamable Tóxico	1, 2, 3
Metil jasmonato Ciclopentano acético ácido (3-oxo-(2-pentemetil ester))	Nocivo	1, 2, 3
Metotrexato ((+)- Ametopterin):	Muy Tóxico	1, 2, 3
Mitomycin C	Muy Tóxico	1, 2, 3
MOPS (4-Morfolino propanesulfónico ácido):	Irritante	1, 2, 4
MTT-Tiazol azul (3-[4,5-dimetiltiazol-2-yl]-2,5-difeniltetrazolio bromuro)	Nocivo	1, 2, 3
N,N,N',N'- tetrametilenetilendiamina (TEMED)	Nocivo por inhalación e ingestión. Causa quemaduras.	1, 2, 4 No fumar
N-Cetil-N,N,N- trimetilamonio bromuro	Nocivo	1, 2, 3
Nicotinamida (vitamina PP)	Irritante	1, 2, 4
Nicotinico, Ácido (vitamina B)	Irritante	1, 2, 4
Nítrico, Ácido 65% >65%:	Corrosivo Oxidante	1, 2
NP40	Detergente Se deberá evitar el contacto con la piel	1, 2
p-Clorofenoxiacético, ácido	Nocivo	1, 2, 3
Pectinasa-polvo	Nocivo Evitar el contacto con la piel y la inhalación.	1, 2, 3
Pectoliase-polvo	Evitar el contacto con la piel y la inhalación.	1, 2, 3
p-Hidroxibenzoico, Ácido etil ester	Irritante	1, 2, 4
Piperidina	Tóxico, si se inhala	1, 2, 3
PIPES (Piperazina-N,N'-bis -2-etanesulfónico ácido]1,4-piperazina dietanesulfónico ácido)	Irritante	1, 2, 4
Plata Nitrato	Corrosivo Contaminante ambiental	1, 2, 4
Polietilén glicol (PEG, monometiléter mesilato (2.000 e 5.000))	Irritante	1, 2, 4
Potásico, acetato-solución	Irritante	1, 2, 4
Potásico, Carbonato anhidrido	Nocivo	1, 2, 3
Potásico, Cloruro-polvo	Irritante	1, 2, 4

Potásico, Hidróxido	Corrosivo	1, 2
Potásico, Ioduro	Nocivo	1, 2, 3
Potásico, Nitrato	Oxidante	1, 2
Potásico, Permanganato	Oxidante Nocivo Contaminante ambiental Corrosivo Tóxico por inhalación y contacto	1, 2, 4 Mantener alejado de materiales combustibles.
Proteinasas K-polvo	Nocivo por inhalación. También puede provocar sensibilización en contacto con la piel. Irritante de piel, ojos y tracto respiratorio.	1, 2, 3
Putrescina- 1,4-Diaminobutano dihidrocloruro)	Irritante	1, 2, 4
Ribavirina	Nocivo	1, 2, 3
Salicílico, Ácido (2-Hidroxibenzoico, Ácido)	Nocivo	1, 2, 3
SDS (Sódico Dodecil Sulfato)-polvo	Nocivo	1, 2, 3, 4
solución	Irritante	Recoger en contenedores adecuados y organizar un método adecuado para su desecho como residuo
Sódico Dodecil Sulfato (SDS, Sodico lauril sulfato):	Nocivo Peligroso por inhalación (puede causar sensibilización) e ingestión. Irritante de los ojos (puede causar serios daños), sistema respiratorio y piel.	1, 2, 3. No inhalar el polvo
Sódico Hidróxido	Corrosivo Se hidrata fácilmente con la humedad atmosférica. En contacto con el agua produce reacciones exotérmicas: prestar una particular atención cuando se preparan soluciones, especialmente si están muy concentradas.	1, 2
Sódico, Carbonato	Irritante del sistema respiratorio y piel. Causa daños muy serios a los ojos. Causa serias irritaciones	1, 2, 4 No inhalar el polvo
Sódico, Dihidrógeno fosfato	Irritante	1, 2, 4
Sódico, Nitrato	Oxidante	1, 2
TE, TAE, TBE buffers:	Ver TRIS, ácido bórico, ácido acético glacial, EDTA.	
Timerosal	Muy Tóxico	1, 2, 3
Tomate-polvo	Irritante.	1, 2, 4
Tricloroacético, Ácido (TCA)	Riesgo de irritación cutánea.	1, 2
Trietanolamina	Irritante	1, 2, 4
TRIS (Tris(hidroximetil)aminometano, 2-Amino-2-hidroximetil-1,3-propanodiol) y TRIS HCl	Irritante	1, 2, 4
Urea	Nocivo por inhalación, contacto con la piel y si es ingerido. Irritante de los ojos, sistema respiratorio y piel. Posible causa de efectos irreversibles. Posible mutágeno.	1, 2, 3 No inhalar el polvo.

Xileno	Peligroso disolvente, inflamable y tóxico (con manifestaciones a largo plazo). Nocivo por contacto.	1, 2, 4 Mantener separado de agentes oxidantes, en una zona bien ventilada.
Zinc, Sulfato	Irritante.	1, 2, 4

- 1 Manipular bajo campana
- 2 Utilizar guantes
- 3 Utilizar protectores del sistema respiratorio, mascarar o mascarillas.
- 4 Utilizar gafas o pantallas faciales

Bibliografía

- David, J.C. Eléments de sécurité en biologie moléculaire. Flammarion Médecine-Sciences. (1997).
- Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T. Molecular cloning - A laboratory manual, 2nd edition. (1989).

ANEXO I

Clasificación de agentes biológicos

(Anexo III, de la Directiva 2000/54/CE)

1. Conforme al ámbito de aplicación de la Directiva, sólo deben incluirse en la clasificación los agentes que se sabe causan enfermedades infecciosas en los seres humanos. Cuando sea preciso, se añadirán indicaciones del riesgo tóxico y alergénico de los agentes. No se han tenido en consideración los agentes patógenos para animales y plantas que se sabe no afectan al hombre. En la elaboración de esta lista de agentes biológicos clasificados no se han tenido en cuenta los microorganismos genéticamente modificados.
2. La clasificación de los agentes biológicos se basa en el efecto de dichos agentes sobre los trabajadores sanos. No se tienen en cuenta de manera específica los efectos particulares sobre trabajadores cuya sensibilidad pueda verse afectada por alguna causa, como patología previa, medicación, trastornos inmunitarios, embarazo o lactancia. El riesgo adicional para dichos trabajadores debe considerarse parte de la evaluación del riesgo establecida por la Directiva. En determinados procedimientos industriales, trabajos de laboratorio y actividades en locales destinados a animales que suponen o pueden suponer la exposición de los trabajadores a agentes biológicos de los grupos 3 o 4, las medidas de prevención técnica que se tomen deberán ser conformes con lo dispuesto en el artículo 16 de la presente Directiva.
3. Los agentes biológicos que no han sido clasificados en los grupos 2 a 4 de esta lista no están implícitamente clasificados en el grupo 1.
En el caso de los agentes que comprenden numerosas especies de conocida patogenicidad para el ser humano, la lista recoge las especies que se ven más frecuentemente involucradas en enfermedades, y una referencia de orden más general indica que otras especies pertenecientes al mismo género pueden afectar a la salud. Cuando en la clasificación de agentes biológicos se menciona un género entero, se entenderá que las especies y cepas calificadas de no patógenas para los trabajadores quedan excluidas de la clasificación.
4. Cuando una cepa esté atenuada o haya perdido genes de virulencia bien conocidos, no será necesariamente aplicable la contención requerida por la clasificación de su cepa madre, a condición de que se efectúe una evaluación adecuada del riesgo potencial que presenta en el lugar de trabajo.
Éste es el caso, por ejemplo, de cuando dicha cepa vaya a utilizarse como producto o parte de un producto con fines profilácticos o terapéuticos.

5. La nomenclatura de los agentes clasificados utilizada para establecer esta primera clasificación refleja y es conforme a los acuerdos internacionales más recientes y vigentes sobre taxonomía y nomenclatura de agentes en el momento de su elaboración.
6. Esta lista de agentes biológicos clasificados refleja el estado de los conocimientos en el momento de su preparación. Deberá actualizarse cada vez que deje de reflejar el estado de los conocimientos.
7. Los Estados miembros procurarán que todos los virus que ya hayan sido aislados en los seres humanos y que no hayan sido evaluados y clasificados en el presente anexo se clasifiquen como mínimo en el grupo 2, salvo en caso de que los Estados miembros puedan demostrar que dichos virus no pueden provocar enfermedades en el hombre.
8. Algunos agentes biológicos clasificados en el grupo 3 e indicados en la adjunta lista con dos asteriscos pueden presentar un riesgo de infección limitado para los trabajadores debido a que normalmente no son infecciosos a través del aire. Los Estados miembros evaluarán las medidas de contención aplicables a determinados agentes biológicos habida cuenta de la naturaleza de las actividades específicas en cuestión y de la cantidad del agente biológico de que se trate, a fin de determinar si en circunstancias particulares se puede prescindir de algunas medidas.
9. Los imperativos en materia de contención que se derivan de la clasificación de los parásitos se aplicarán únicamente a las distintas etapas del ciclo del parásito que puedan ser infecciosas para las personas en el lugar de trabajo.
10. Esta lista contiene además indicaciones específicas cuando los agentes biológicos pueden causar reacciones alérgicas o tóxicas, cuando una vacuna eficaz está disponible o cuando es conveniente conservar durante más de diez años las listas de los trabajadores que han estado expuestos.

Estas indicaciones están sistematizadas en una serie de notas identificadas como sigue:

A: Posibles efectos alérgicos.

D: La lista de los trabajadores expuestos a este agente biológico deberá conservarse durante más de diez años a partir de la última exposición de la que se tenga noticia.

T: Producción de toxinas.

V: Vacuna eficaz disponible. Las vacunaciones preventivas se deberán realizar teniendo en cuenta las recomendaciones prácticas que figuran en el anexo VII.

BACTERIAS y afines

Nota: Para los agentes que figuran en esta lista, la mención “spp” hace referencia a las demás especies de las que se sabe que son patógenas para el hombre.

Agente biológico	Clasificación	Notas
Actinobacillus actinomycetemcomitans	2	
Actinomadura madurae	2	
Actinomadura pelletieri	2	
Actinomyces gerencseriae	2	
Actinomyces israelii	2	
Actinomyces pyogenes	2	
Actinomyces spp	2	
Arcanobacterium haemolyticum (Corynebacterium haemolyticum)	2	
Bacillus anthracis	3	
Bacteroides fragilis	2	
Bartonella bacilliformis	2	
Bartonella (Rochalimea) spp.	2	
Bordetella bronchiseptica	2	
Bordetella parapertussis	2	
Bordetella pertussis	2	V
Borrelia burgdorferi	2	
Borrelia duttonii	2	
Borrelia recurrentis	2	
Borrelia spp	2	
Brucella abortus	3	
Brucella canis	3	
Brucella melitensis	3	
Brucella suis	3	
Campylobacter fetus	2	
Campylobacter jejuni	2	
Campylobacter spp	2	
Cardiobacterium hominis	2	
Chlamydia pneumoniae	2	
Chlamydia trachomatis	2	
Chlamydia psittaci (cepas aviares)	3	
Chlamydia psittaci (cepas no aviares)	2	
Clostridium botulinum	2	T
Clostridium perfringens	2	
Clostridium tetani	2	T.V.
Clostridium spp	2	
Corynebacterium diphtheriae	2	T.V.
Corynebacterium minutissimum	2	
Corynebacterium pseudotuberculosis	2	
Corynebacterium spp	2	
Coxiella burnetii	3	
Edwardsiella tarda	2	
Ehrlichia sennetsu (Rickettsia sennetsu)	2	

Ehrlichia spp	2	
Eikenella corrodens	2	
Enterobacter aerogenes/cloacae	2	
Enterobacter spp	2	
Enterococcus spp	2	
Erysipelothrix rhusiopathiae	2	
Escherichia coli (excepto las cepas no patógenas)	2	
Escherichia coli, cepas verocitotóxicas (por ejemplo O157:H7 u O103)	3 (*)	T
Flavobacterium meningosepticum	2	
Fluoribacter bozemanae (Legionella)	2	
Francisella tularensis (tipo A)	3	
Francisella tularensis (tipo B)	2	
Fusobacterium necrophorum	2	
Gardnerella vaginalis	2	
Haemophilus ducreyi	2	
Haemophilus influenzae	2	
Haemophilus spp	2	
Helicobacter pylori	2	
Klebsiella oxytoca	2	
Klebsiella pneumoniae	2	
Klebsiella spp	2	
Legionella pneumophila	2	
Legionella spp	2	
Leptospira interrogans (todos los serotipos)	2	
Listeria monocytogenes	2	
Listeria ivanovii	2	
Morganella morganii	2	
Mycobacterium africanum	3	V
Mycobacterium avium/intracellulare	2	
Mycobacterium bovis (excepto la cepa BCG)	3	V
Mycobacterium chelonae	2	
Mycobacterium fortuitum	2	
Mycobacterium kansasii	2	
Mycobacterium leprae	3	
Mycobacterium malmoense	2	
Mycobacterium marinum	2	
Mycobacterium microti	3 (*)	
Mycobacterium paratuberculosis	2	
Mycobacterium scrofulaceum	2	
Mycobacterium simiae	2	
Mycobacterium szulgai	2	
Mycobacterium tuberculosis	3	V
Mycobacterium ulcerans	3 (*)	
Mycobacterium xenopi	2	
Micoplasma caviae	2	
Micoplasma hominis	2	
Mycoplasma pneumoniae	2	
Neisseria gonorrhoeae	2	
Neisseria meningitidis	2	V
Nocardia asteroides	2	

Nocardia brasiliensis	2	
Nocardia farcinica	2	
Nocardia nova	2	
Nocardia otitidiscaviarum	2	
Pasteurella multocida	2	
Pasteurella spp	2	
Peptostreptococcus anaerobius	2	
Plesiomonas shigelloides	2	
Porphyromonas spp	2	
Prevotella spp	2	
Proteus mirabilis	2	
Proteus penneri	2	
Proteus vulgaris	2	
Providencia alcalifaciens	2	
Providencia rettgeri	2	
Providencia spp	2	
Pseudomonas aeruginosa	2	
Burkholderia mallei (Pseudomonas mallei)	3	
Burkholderia pseudomallei (Pseudomonas pseudomallei)	3	
Rhodococcus equi	2	
Rickettsia akari	3 (*)	
Rickettsia canada	3 (*)	
Rickettsia conorii	3	
Rickettsia montana	3 (*)	
Rickettsia typhi (Rickettsia mooseri)	3	
Rickettsia prowazekii	3	
Rickettsia rickettsii	3	
Rickettsia tsutsugamushi	3	
Rickettsia spp	2	
Bartonella quintana (Rochalimaea quintana)	2	
Salmonella arizonae	2	
Salmonella enteritidis	2	
Salmonella typhimurium	2	
Salmonella paratyphi A, B, C	2	V
Salmonella typhi	3 (*)	V
Salmonella (otras variedades serológicas)	2	
Serpulina spp	2	
Shigella boydii	2	
Shigella dysenteriae (tipo 1)	3 (*)	T
Shigella dysenteriae, con excepción del tipo 1	2	
Shigella flexneri	2	
Shigella sonnei	2	
Staphylococcus aureus	2	
Streptobacillus moniliformis	2	
Streptococcus pneumoniae	2	
Streptococcus pyogenes	2	
Streptococcus suis	2	
Streptococcus spp	2	
Treponema carateum	2	

Treponema pallidum	2	
Treponema pertenue	2	
Treponema spp	2	
Vibrio cholerae (incluido El Tor)	2	
Vibrio parahaemolyticus	2	
Vibrio spp	2	
Yersinia enterocolitica	2	
Yersinia pestis	3	V
Yersinia pseudotuberculosis	2	
Yersinia spp	2	

VIRUS

Adenoviridae	2	
Arenaviridae		
Complejos virales LCM-Lassa (arenavirus del Viejo Continente)		
• Virus de Lassa	4	
• Virus de la coriomeningitis linfocítica (cepas neurotrópicas)	3	
• Virus de la coriomeningitis linfocítica (otras cepas)	2	
• Virus Mopeia	2	
• Otros complejos virales LCM-Lassa	2	
Complejos virales Tacaribe (arenavirus del Nuevo Mundo):		
• Virus Guanarito	4	
• Virus Junin	4	
• Virus Sabia	4	
• Virus Machupo	4	
• Virus Flexal	3	
• Otros complejos virales Tacaribe	2	
Astroviridae	2	
Bunyaviridae		
• Virus Belgrade (también conocido como Dobrava)	3	
• Virus Bhanja	2	
• Virus Bunyamwera	2	
• Virus Germiston	2	
• Virus Oropouche	3	
• Virus sin nombre (antes Muerto Canyon)	3	
• Virus de la encefalitis de California	2	
Hantavirus:		
• Hantaan (Fiebre hemorrágica de Corea)	3	
• Virus Seoul	3	
• Virus Puumala	2	
• Virus Prospect Hill	2	
• Otros hantavirus	2	

Nairovirus:		
• Virus de la fiebre hemorrágica de Crimea/Congo	4	
• Virus Hazara	2	
Flebovirus:		
• de la Fiebre del valle Rift	3	V
• Virus de los flebótomos	2	
• Virus Toscana	2	
• Otros bunyavirus de patogenicidad conocida	2	
Caliciviridae		
• Virus de la hepatitis E	3(*)	
• Virus Norwalk	2	
• Otros Caliciviridae	2	
Coronaviridae	2	
Filoviridae:		
• Virus Ebola	4	
• Virus de Marburg	4	
Flaviviridae:		
• Encefalitis de Australia (Encefalitis del Valle Murray)	3	
• Hepatitis G	3 (*)	D
• Virus de la encefalitis de las garrapatas de Europa Central	3(*)	V
• Absettarov	3	
• Hanzalova	3	
• Hypr	3	
• Kumlinge	3	
• Virus del dengue tipos 1-4	3	
• Virus de la hepatitis C	3(*)	D
• Encefalitis B japonesa	3	V
• Bosque de Kyasamur	3	V
• Mal de Louping	3(*)	
• Omsk (a)	3	V
• Powassan	3	
• Rocio	3	
• Encefalitis verno-estival rusa (a)	3	V
• Encefalitis de St Louis	3	
• Virus Wesselsbron	3(*)	
• Virus del Nilo occidental	3	
• Fiebre amarilla	3	V
• Otros flavivirus de conocida patogenicidad	2	
Hepadnaviridae:		
• Virus de la hepatitis B	3(*)	V, D
• Virus de la hepatitis D (Delta) (b)	3(*)	V, D
Herpesviridae:		
• Cytomegalovirus	2	
• Virus de Epstein-Barr	2	

• Herpesvirus simiae (virus B)	3	
• Herpes simplex virus tipos 1 y 2	2	
• Herpesvirus varicella-zoster	2	
• Herpesvirus humano 7	2	
• Herpesvirus humano 8	2	D
• Virus linfotrópico humano B (HBLV-HHV6)	2	
Orthomyxoviridae:		
• Virus de la influenza tipos A, B y C	2	V (c)
• Ortomixovirus transmitidos por garrapatas: Virus Dhori y Thogoto	2	
Papovaviridae:		
• Virus BK y JC	2	D (d)
• Virus del papiloma humano	2	D(d)
Paramyxoviridae:		
• Virus del sarampión	2	V
• Virus de las paperas	2	V
• Virus de la enfermedad de Newcastle	2	
• Virus de la parainfluenza tipos 1 a 4	2	
• Virus respiratorio sincitial	2	
Parvoviridae:		
• Parvovirus humano (B 19)	2	
Picornaviridae		
• Virus de la conjuntivitis hemorrágica (AHC)	2	
• Virus Cocksackie	2	
• Virus Echo	2	
• Virus de la hepatitis A (enterovirus humano tipo 72)	2	V
• Poliovirus	2	V
• Rinovirus	2	
Poxviridae:		
• Buffalopox virus (e)	2	
• Cowpox virus	2	
• Elephantpox virus (f)	2	
• Virus del nódulo de los ordeñadores	2	
• Molluscum contagiosum virus	2	
• Monkeypox virus	3	V
• Orf virus	2	
• Rabbitpox virus (g)	2	
• Vaccinia virus	2	
• Variola (major & minor) virus	4	V
• "Whitepox" virus (variola virus)	4	V
• Yatapox virus (Tana & Yaba)	2	
Reoviridae:		
• Coltivirus	2	
• Rotavirus humanos	2	
• Orbivirus	2	

• Reovirus	2	
Retroviridae:		
• Virus de inmunodeficiencia humana	3(*)	D
• Virus de las leucemias humanas de las células T (HTLV) tipos 1 y 2	3(*)	D
• Virus SIV(h)	3(*)	
Rhabdoviridae:		
• Virus de la rabia	3(*)	V
• Virus de la estomatitis vesicular	2	
Togaviridae:		
Alfavirus:		
• Encefalomiелitis equina americana oriental	3	V
• Virus Bebaru	2	
• Virus Chikungunya	3(*)	
• Virus Everglades	3(*)	
• Virus Mayaro	3	
• Virus Mucambo	3(*)	
• Virus Ndumu	3	
• Virus O'nyong-nyong	2	
• Virus del río Ross	2	
• Virus del bosque Semliki	2	
• Virus Sindbis	2	
• Virus Tonate	3(*)	
• De la encefalomiелitis equina venezolana	3	V
• De la encefalomiелitis equina americana occidental	3	V
• Otros alfavirus conocidos	2	
• Rubivirus (rubeola)	2	V
Toroviridae	2	
Virus no clasificados:		
• Morbillivirus equino	4	
• Virus de la hepatitis todavía no identificados	3(*)	D
Agentes no clasificados asociados a encefalopatías espongiiformes transmisibles (TSE)		
• La enfermedad de Creutzfeldt-Jakob	3(*)	D(d)
• Variante de la enfermedad Creutzfeldt-Jakob (CJD)	3 (*)	D(d)
• Encefalopatía espongiiforme bovina (BSE) y otras TSE de origen animal afines (i)	3 (*)	D(d)
• El síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker	3(*)	D(d)
• Kuru	3(*)	D(d)

PARÁSITOS

Acanthamoeba castellani	2
Ancylostoma duodenale	2
Angiostrongylus cantonensis	2
Angiostrongylus costaricensis	2

Ascaris lumbricoides	2
Ascaris suum	2
Babesia divergens	2
Babesia microti	2
Balantidium coli	2
Brugia malayi	2
Brugia pahangi	2
Capillaria philippinensis	2
Capillaria spp	2
Clonorchis sinensis	2
Clonorchis viverrini	2
Cryptosporidium parvum	2
Cryptosporidium spp	2
Cyclospora cayetanensis	2
Dipetalonema streptocerca	2
Diphyllobothrium latum	2
Dracunculus medinensis	2
Echinococcus granulosus	3(*)
Echinococcus multilocularis	3(*)
Echinococcus vogeli	3(*)
Entamoeba histolytica	2
Fasciola gigantica	2
Fasciola hepatica	2
Fasciolopsis buski	2
Giardia lamblia (Giardia intestinalis)	2
Hymenolepis diminuta	2
Hymenolepis nana	2
Leishmania brasiliensis	3(*)
Leishmania donovani	3(*)
Leishmania ethiopica	2
Leishmania mexicana	2
Leishmania peruviana	2
Leishmania tropica	2
Leishmania major	2
Leishmania spp	2
Loa loa	2
Mansonella ozzardi	2
Mansonella perstans	2
Naegleria fowleri	3
Necator americanus	2
Onchocerca volvulus	2
Opisthorchis felinus	2
Opisthorchis spp	2
Paragonimus westermani	2
Plasmodium falciparum	3(*)
Plasmodium spp (humano y simico)	2
Sarcocystis suihominis	2
Schistosoma haematobium	2
Schistosoma intercalatum	2
Schistosoma japonicum	2

Schistosoma mansoni	2
Schistosoma mekongi	2
Strongyloides stercoralis	2
Strongyloides spp	2
Taenia saginata	2
Taenia solium	3(*)
Toxocara canis	2
Toxoplasma gondii	2
Trichinella spiralis	2
Trichuris trichiura	2
Trypanosoma brucei brucei	2
Trypanosoma brucei gambiense	2
Trypanosoma brucei rhodesiense	3(*)
Trypanosoma cruzi	3
Wuchereria bancrofti	2

HONGOS

Aspergillus fumigatus	2	A
Blastomyces dermatitidis (Ajellomyces dermatitidis)	3	
Candida albicans	2	A
Cladophialophora bantiana (antes: Xylohypha bantiana, Cladosporium bantianum o trichoides)	3	
Cándida tropicalis	2	
Coccidioides immitis	3	A
Cryptococcus neoformans var. neoformans		
(Filobasidiella neoformans var. neoformans)	2	A
Cryptococcus neoformans var. gattii (Filobasidiella bacillispora)	2	A
Emmonsia parva var. parva	2	
Emmonsia parva var. crescens	2	
Epidermophyton floccosum	2	A
Fonsecaea compacta	2	
Fonsecaea pedrosoi	2	
Histoplasma capsulatum var capsulatum (Ajellomyces capsulatus)	3	
Histoplasma capsulatum duboisii	3	
Madurella grisea	2	
Madurella mycetomatis	2	
Microsporium spp	2	A
Neotestudina rosatii	2	
Paracoccidioides brasiliensis	3	
Penicillium marneffeii	2	A
Scedosporium apiospermum (Pseudallescheria boidii)	2	
Scedosporium prolificans (inflatum)	2	

Sporothrix schenckii	2	
Trichophyton rubrum	2	
Trichophyton spp	2	

- (a) Encefalitis vehiculada por la garrapata.
- (b) El virus de la hepatitis D precisa de otra infección simultánea o secundaria a la provocada por el virus de la hepatitis B para ejercer su poder patógeno en los trabajadores. La vacuna contra el virus de la hepatitis B protegerá, por lo tanto, a los trabajadores no afectados por el virus de la hepatitis B, contra el virus de la hepatitis D (Delta).
- (c) Sólo por lo que se refiere a los tipos A y B.
- (d) Recomendado para los trabajos que impliquen un contacto directo con estos agentes.
- (e) Se pueden identificar dos virus distintos bajo este epígrafe: un género “buffalopox” virus y una variante de “vaccinia” virus.
- (f) Variante de “cowpox”.
- (g) Variante de “vaccinia”.
- (h) No existe actualmente ninguna prueba de enfermedad humana provocada por otro retrovirus de origen símico. Como medida de precaución, se recomienda un nivel 3 de contención para los trabajos que supongan una exposición a estos retrovirus.
- (i) No hay pruebas concluyentes de infecciones humanas causadas por los agentes responsables de las TSE en los animales. No obstante, para el trabajo en laboratorio se recomiendan medidas de contención para los agentes clasificados en el grupo de riesgo 3 (*) como medida de precaución, excepto para el trabajo en laboratorio relacionado con el agente identificado de la tembladera (scrapie) de los ovinos, para el que es suficiente un nivel 2 de contención.

ANEXO II. DIRECTIVAS EUROPEAS

SEGURIDAD Y SALUD EN EL TRABAJO

- **Directiva 83/477/CEE del Consejo** de 19 de septiembre de 1983 sobre protección a los trabajadores frente a los riesgos relacionados con la exposición al Amianto en el trabajo (primera Directiva específica con arreglo al artículo 8 de la Directiva 80/1107/CEE).
- **Directiva 86/188/CEE del Consejo** de 12 de mayo de 1986 sobre protección a los trabajadores frente a los riesgos relacionados con la exposición al ruido en el trabajo
- **Directiva 89/391/CEE del Consejo** de 12 de junio de 1989 relativa a la aplicación de las medidas para promover la mejora de la seguridad y salud de los trabajadores en el trabajo.
- **Directiva 89/654/CEE del Consejo** de 30 de noviembre de 1989, por la que se establecen las disposiciones mínimas de seguridad y salud de los lugares de trabajo. (primera Directiva específica con arreglo al artículo 16 de la Directiva 89/391/CEE).
- **Directiva 89/655/CEE del Consejo** de 30 de noviembre de 1989, por la que se establecen las disposiciones mínimas de seguridad y salud para la utilización de los trabajadores en el trabajo de los equipos de trabajo. (segunda Directiva específica con arreglo al artículo 16 de la Directiva 89/391/CEE).
- **Recomendación de la Comisión 90/326/CEE**, de 22 de mayo de 1990, relativa a la adopción de una lista europea de enfermedades profesionales.
- **Directiva 91/382/CE del Consejo** de 25 de junio de 1991, por la que se modifica la Directiva 83/477/CEE sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos debidos a la exposición al amianto durante el trabajo (segunda Directiva particular con arreglo al artículo 8 de la Directiva 80/1107/CEE).
- **Directiva 92/85/CE del Consejo**, de 19 de octubre de 1992, relativa a la aplicación de medidas para promover la mejora de la salud en el trabajo de la trabajadora embarazada (décima Directiva específica con arreglo al artículo 16 de la Directiva 89/391/CEE).
- **Directiva 95/63/CE del Consejo** de 5 de diciembre de 1995, que modifica a la

Directiva 89/655/CEE del Consejo de 30 de noviembre de 1989, por la que se establecen las disposiciones mínimas de seguridad y salud para la utilización de los trabajadores en el trabajo de los equipos de trabajo. (segunda Directiva específica con arreglo al artículo 16 de la Directiva 89/391/CEE).

- **Comunicación de la COM (2000)466**, de final del 5 de octubre del 2000 de la Comisión sobre las directrices para la evaluación de los agentes químicos, físicos y biológicos, así como los procedimientos industriales considerados como peligrosos para la salud o la seguridad de la trabajadora embarazada, que haya dado a luz o en período de lactancia.
- **Directiva 90/270/CEE del Consejo** de 29 de mayo de 1990; sobre las disposiciones mínimas de seguridad y salud relativas al trabajo con equipos que incluyen pantallas de visualización (quinta Directiva específica con arreglo al apartado 1 del artículo 16 de la Directiva 89/391/CEE).

SEÑALIZACIÓN DE SEGURIDAD

- **Directiva 92/58/CEE del Consejo** de 24 de junio de 1992, por la que se establecen las disposiciones mínimas en materia de señalización de seguridad y salud en el trabajo. (novena Directiva específica con arreglo al apartado 1 del artículo 16 de la Directiva 89/391/CEE).

EQUIPOS DE PROTECCIÓN INDIVIDUAL

- **Directiva 89/656/CEE del Consejo** de 30 de noviembre de 1989, por la que se establecen las disposiciones mínimas de seguridad y salud para la utilización de los trabajadores en el trabajo de los equipos de protección individual. (tercera Directiva específica con arreglo al apartado 1 del artículo 16 de la Directiva 89/391/CEE).
- **Directiva 89/686/CEE del Consejo** de 21 de diciembre de 1989, sobre aproximación de la legislación de los Estados Miembro sobre los equipos de protección individual.

BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO

- **Directiva 88/320/CEEC del Consejo** de 9 de junio de 1988 sobre inspección y verificación de buenas prácticas de laboratorio (BLP).
- **Directive 90/18/CEE de la Comisión** modificando los Anexos de la Directiva del Consejo 88/320/CEE.

- **Directiva 99/11/CE de la Comisión** de 8 de marzo de 1999, adaptando al progreso de la técnica los principios de las buenas prácticas de laboratorio en especial la Directiva 87/18/CEE relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas aplicables en materia de aplicación de los principios de buenas prácticas de laboratorio la verificación de sus aplicaciones en los tests con sustancias químicas (Texto de la EEA fundamentalmente).
- **Directiva 99/12/CE de la Comisión** de 8 de marzo de 1999, adaptando al progreso técnico por segunda vez los Anexos de la Directiva 88/320/CEE del Consejo sobre inspección y verificación de buenas prácticas de laboratorio (BLP). (Texto de la EEA fundamentalmente).

SUSTANCIAS PELIGROSAS

- **Directiva 67/548/CEE del Consejo**, de 27 de junio de 1967, relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas en materia de clasificación, envasado y etiquetado de sustancias peligrosas.
- **Directiva 76/907/CEE de la Comisión** de 14 de julio de 1976, adaptando al progreso técnico la Directiva 67/548/CEE del Consejo, de 27 de junio de 1967, relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas en materia de clasificación, envasado y etiquetado de sustancias peligrosas.
- **Directiva 79/831/CEE del Consejo** de 18 de septiembre de 1979, adaptando al progreso técnico por sexta vez la Directiva 67/548/CEE del Consejo, de 27 de junio de 1967, relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas en materia de clasificación, envasado y etiquetado de sustancias peligrosas.
- **Directiva 88/379/CEE del Consejo** de 7 de junio de 1988, relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas en materia de clasificación, envasado y etiquetado de preparados peligrosos.
- **Directiva 90/394/CEE del Consejo** de 28 de junio de 1990, relativa a la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes carcinógenos durante el trabajo (sexta Directiva específica con arreglo al apartado 1 del artículo 16 de la Directiva 89/391/CEE).
- **Directiva 91/322/CEE de la Comisión** de 29 de mayo de 1991, estableciendo una lista indicativa de valores límite en aplicación de la Directiva 80/1107/CEE sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos

relacionados con la exposición a agentes químicos, físicos y biológicos durante el trabajo.

- **Directiva 92/32/CEE del Consejo** de 30 de abril de 1992, adaptando al progreso técnico, por séptima vez, la Directiva 67/548/CEE del Consejo, de 27 de junio de 1967, relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas en materia de clasificación, envasado y etiquetado de sustancias peligrosas.
- **Directiva 96/94/CE de la Comisión** de 18 de diciembre de 1996, relativa al establecimiento de una segunda lista valores límite de carácter indicativo mediante la aplicación de la Directiva 80/1107/CEE del Consejo sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes químicos, físicos y biológicos durante el trabajo.
- **Directiva 97/42/CE del Consejo** de 27 de junio de 1997, por la que se modifica por primera vez la Directiva 90/394/CEE relativa a la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes carcinógenos durante el trabajo (sexta Directiva específica con arreglo al apartado 1 del artículo 16 de la Directiva 89/391/CEE).
- **Directiva 98/24/CE del Consejo**, de 7 de abril de 1998, relativa a la protección de la salud y la seguridad de los trabajadores contra los riesgos relacionados con los agentes químicos durante el trabajo (catorce Directiva específica con arreglo al apartado 1 del artículo 16 de la Directiva 89/391/CEE).
- **Directiva 1999/38/CE del Consejo** de 29 abril de 1999, modificando por segunda vez la Directiva 90/394/CEE relativa a la protección de los trabajadores contra los riesgos y por la que se amplía su ámbito de aplicación a los mutágenos.
- **Directiva 2000/39/CE de la Comisión**, de 8 de junio de 2000, por la que se establece una primera lista de valores límite de exposición profesional indicativos en aplicación de la Directiva 98/24/CE del Consejo relativa a la protección de la salud y la seguridad de los trabajadores contra los riesgos relacionados con los agentes químicos durante el trabajo.

PROTECCIÓN FRENTE A RIESGOS BIOLÓGICOS

- **Directiva 2000/54/CE del Parlamento Europeo y del Consejo** de 18 de septiembre del 2000, sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo

UTILIZACIÓN CONFINADA DE MICROORGANISMOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (MMG).

- **Directiva 90/219/CEE del Consejo**, de 23 de abril de 1990, relativa a la utilización confinada de microorganismos modificados genéticamente.
- **Directiva 90/220/CEE del Consejo** de 23 de abril de 1990, sobre liberación intencional en el medio ambiente de organismos modificados genéticamente

- **Decisión 91/448/CEE de la Comisión** de 29 de julio de 1991, relativa a las líneas directrices para la clasificación referida al artículo 4 de la Directiva 90/219/CEE.
- **Directiva 94/51/CEE de la Comisión** de 7 de noviembre de 1994, adaptando al progreso técnico la Directiva 90/219/CEE , relativa a la utilización confinada de microorganismos modificados genéticamente.

- **Directiva 96/134/CE de la Comisión** de 16 de enero de 1996, modificando la Decision 91/448/CE relativa a las líneas directrices para la clasificación referida al artículo 4 de la Directiva 90/219/CEE, relativa a la utilización confinada de microorganismos modificados genéticamente.

- **Directiva 98/81/CE del Consejo**, de 26 de octubre de 1998, por la que se modifica la Directiva 90/219/CEE relativa a la utilización confinada de microorganismos modificados genéticamente.

- **Decisión 2000/608/CE de la Comisión** de 27 de septiembre de 2000, relativa a las notas de ayuda para la guía del procedimiento de evaluación en el Anexo III de la Directiva 90/219/CEE, relativa a la utilización confinada de microorganismos modificados genéticamente.

- **Decisión 2001/204/CE del Consejo** de 8 de marzo de 2001, completando la Directiva 90/219/CEE estableciendo criterios de seguridad para la salud del hombre y del medioambiente, de los tipos de microorganismos modificados genéticamente (Texto de la EEA fundamentalmente).

RADIOPROTECCIÓN

- **Directiva 89/618/Euratom del Consejo** de 27 de noviembre 1989 , relativa a la protección de la salud y las medidas aplicables en el caso de emergencia radiológica.

- **Directiva 90/641/Euratom del Consejo** de 4 de diciembre de 1990, relativa a la protección operacional de los trabajadores exteriores con riesgo de exposición a radiaciones ionizantes por intervención en zona controlada.
- **Directiva 96/29/Euratom** de 13 de mayo de 1996, por que se establecen las normas básicas relativas a la protección sanitaria de los trabajadores y de la población contra los riesgos que resultan de las radiaciones ionizantes.
- **Directiva 97/43/Euratom** de 30 de junio de 1997, sobre protección de la salud frente a los riesgos derivados de las radiaciones ionizantes en exposiciones médicas.

TRANSPORTE

- **Directiva 92/118/CEE del Consejo** de 17 de diciembre de 1992, por la que se establecen las condiciones de policía sanitaria y sanitarias aplicables a los intercambios y a las importaciones en la Comunidad de productos no sometidos, con respecto a estas condiciones, a las normativas comunitarias específicas a que se refiere el capítulo I del Anexo A de la Directiva 89/662/CEE y, por lo que se refiere a los patógenos, de la Directiva 90/425/CEE.
- **Directiva 93/75/CEE del Consejo** de 13 de septiembre de 1993, sobre condiciones mínimas exigidas a los buques con destino a los puertos marítimos de la Comunidad, o que salgan de los mismos y transporten mercancías peligrosas o contaminantes.
- **Directiva 94/55/CE del Consejo** de 21 de noviembre de 1994, sobre la aproximación de las legislaciones de los Estados Miembros con respecto al transporte de mercancías peligrosas por carretera.
- **Directiva 96/35/CE del Consejo** de 3 de junio de 1996, sobre el acuerdo y cualificación del Consejero de Seguridad para el transporte de mercancías peligrosas por carretera, ferrocarril y vía marítima.
- **Directiva 96/39/CE de la Comisión** de 19 junio de 1996, por la que se modifica la Directiva 93/75/CEE sobre condiciones mínimas exigidas a los buques con destino a los puertos marítimos de la Comunidad, o que salgan de los mismos y transporten mercancías peligrosas o contaminantes.
- **Directiva 96/49/CE del Consejo** de 23 de julio de 1996, sobre la aproximación de las legislaciones de los Estados Miembros con respecto al transporte de mercancías peligrosas por ferrocarril.

- **Directiva 96/86/CE de la Comisión** de 13 de diciembre de 1996, por la que se adapta al progreso técnico la Directiva 94/55/CE del Consejo, sobre la aproximación de las legislaciones de los Estados Miembros con respecto al transporte de mercancías peligrosas por carretera.(Texto con relevancia EEA).
- **Directiva 96/87/CE de la Comisión** de 13 de diciembre de 1996, por la que se adapta al progreso técnico la Directiva 94/55/CE del Consejo, sobre la aproximación de las legislaciones de los Estados Miembros con respecto al transporte de mercancías peligrosas por ferrocarril.(Texto con relevancia EEA).
- **Directiva 97/34/EC de la Comisión** de 6 de junio de 1997, por la que se modifica la Directiva 93/75/CEE sobre condiciones mínimas exigidas a los buques con destino a los puertos marítimos de la Comunidad, o que salgan de los mismos y transporten mercancías peligrosas o contaminantes.
- **Directiva 2000/61/CE del Consejo y del Parlamento Europeo** de 10 de octubre del 2000, que modifica la Directiva 94/55/CE, sobre la aproximación de las legislaciones de los Estados Miembros con respecto al transporte de mercancías peligrosas por carretera.

RESIDUOS

- **Directiva 75/442/CEE del Consejo** de 15 de julio de 1975, sobre residuos.
- **Directiva 91/156/CEE del Consejo** de 18 de marzo de 1991, modificando la Directiva 75/442/EEC del Consejo sobre residuos.
- **Directiva 91/689/CEE del Consejo** de 15 de julio de 1991, sobre residuos peligrosos.
- **Directiva 94/62/CE del Consejo y del Parlamento Europeo** de 20 de diciembre de 1994, sobre empaquetado y empaquetado de residuos.
- **Directiva 96/59/CE del Consejo** de 16 de septiembre de 1996, relativa a la eliminación de Policlorobifenilos y Policloroterfenilos.

ANIMALES UTILIZADOS PARA EXPERIMENTACIÓN Y OTROS FINES CIENTÍFICOS.

- **Directiva 86/609/CEE del Consejo**, de 24 de noviembre de 1986, relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados Miembros respecto a la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos.

- **Decisión del Consejo 1999/575/CE**, de 23 de marzo de 1998, relativa al Convenio Europeo sobre protección de los animales vertebrados utilizados para experimentación y otros fines científicos.