



**UD1: LOS LABORATORIOS DE
BIOLOGÍA MOLECULAR
Y CITOGÉNÉTICA**

CONCEPTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CITOGENÉTICA

**BIOLOGÍA
MOLECULAR**



Parte de la biología
que estudia la
composición,
estructura y moléculas
biológicamente
importantes



Ácidos nucleicos



CITOGENÉTICA



Parte de la genética
que estudia la
estructura, función y
comportamiento de
los **cromosomas**



Actualidad: **citogenética
molecular** (uso de técnicas de
biología molecular)



Proteínas



LABORATORIOS DE PROTEÓMICA

LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

LABORATORIO DE CITOGENÉTICA



LABORATORIOS DE GENÉTICA

EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

TÉCNICA BÁSICA: PCR (Reacción en cadena de la polimerasa)



Se trata de una técnica que nos permite, a partir de una cantidad mínima de ADN, obtener millones de copias.



Al ser considerada la herramienta molecular por excelencia, **la estructuración del laboratorio, los flujos y las formas de trabajo se van a organizar alrededor de esta técnica**



EQUIPAMIENTO ESPECÍFICO



EQUIPAMIENTO GENÉRICO

EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

TERMOCICLADOR

Aparato básico en cualquier laboratorio de biología molecular. En él se lleva a cabo la PCR. Permite realizar secuencialmente un número elevado de ciclos repetitivos programables con temperaturas diferentes y distintos tiempos de incubación.



TAPA DEL BLOQUE INCUBADOR: tapa termostatzada a $102-105^{\circ}\text{C}$ que, una vez cerrada, entra en contacto directo con la tapa de los tubos de reacción.

BLOQUE INCUBADOR: soporte metálico, con múltiples pocillos para *colocar los tubos de reacción de PCR*. Es capaz de mantener de manera homogénea, en todo su volumen, durante los tiempos que se requiera, las distintas temperaturas que se programan para cada fase y en cada uno de los ciclos de PCR. El **rango de temperaturas** que pueden alcanzar estos bloques normalmente va de **4°C a 96°C** .

EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

TERMOCICLADOR



Los distintos modelos de termocicladores que existen se diferencian principalmente en la tecnología que utilizan para calentar y enfriar este bloque:

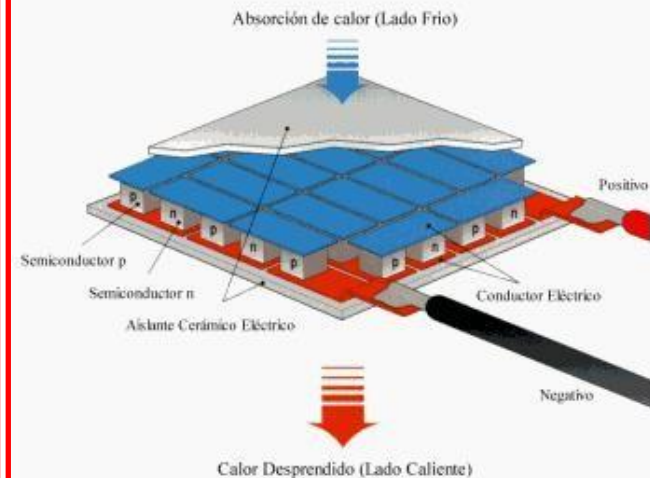
- ✓ Sistemas de aire caliente y aire frío o resistencias eléctricas (es el sistema más utilizado en los aparatos más antiguos)
- ✓ Materiales semiconductores en conjunción con el efecto Peltier (termocicladores más actuales)

EFFECTO PELTIER: es un efecto termoeléctrico que produce una transferencia de calor entre dos metales o semiconductores diferentes unidos por dos soldaduras cuando son atravesados por corriente eléctrica continua.

El **resultado final** es que uno de los semiconductores se calienta y otro se enfría. Si se invierte la polaridad de la corriente continua, también se invierte el calentamiento/enfriamiento de cada semiconductor.

Este efecto se utiliza en los termocicladores actuales para **aumentar o bajar rápidamente la temperatura del bloque de incubación**, de los tubos de reacción simplemente invirtiendo la polaridad de la corriente continua que alimenta el circuito.

Módulo Peltier



EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

TERMOCICLADORA A TIEMPO REAL



El termociclador a tiempo real además de los componentes descritos para el convencional incorpora un sistema de láser y detección de fluorescencia capaz de excitar y medir la fluorescencia emitida por cada tubo de reacción individualmente. Esta tecnología permite detectar la síntesis de productos de amplificación en tiempo real.



PCRa tiempo real o PCR cuantitativa

LA ELECTROFORESIS

FUNDAMENTOS DE LAS TÉCNICAS DE SEPARACIÓN ELECTROFORÉTICAS

La electroforesis consiste en la migración de moléculas cargadas a través de un medio, por la acción de un campo eléctrico.

Las técnicas electroforéticas se utilizan, por tanto, para separar compuestos como aminoácidos, péptidos, proteínas, nucleótidos y **ácidos nucleicos**.

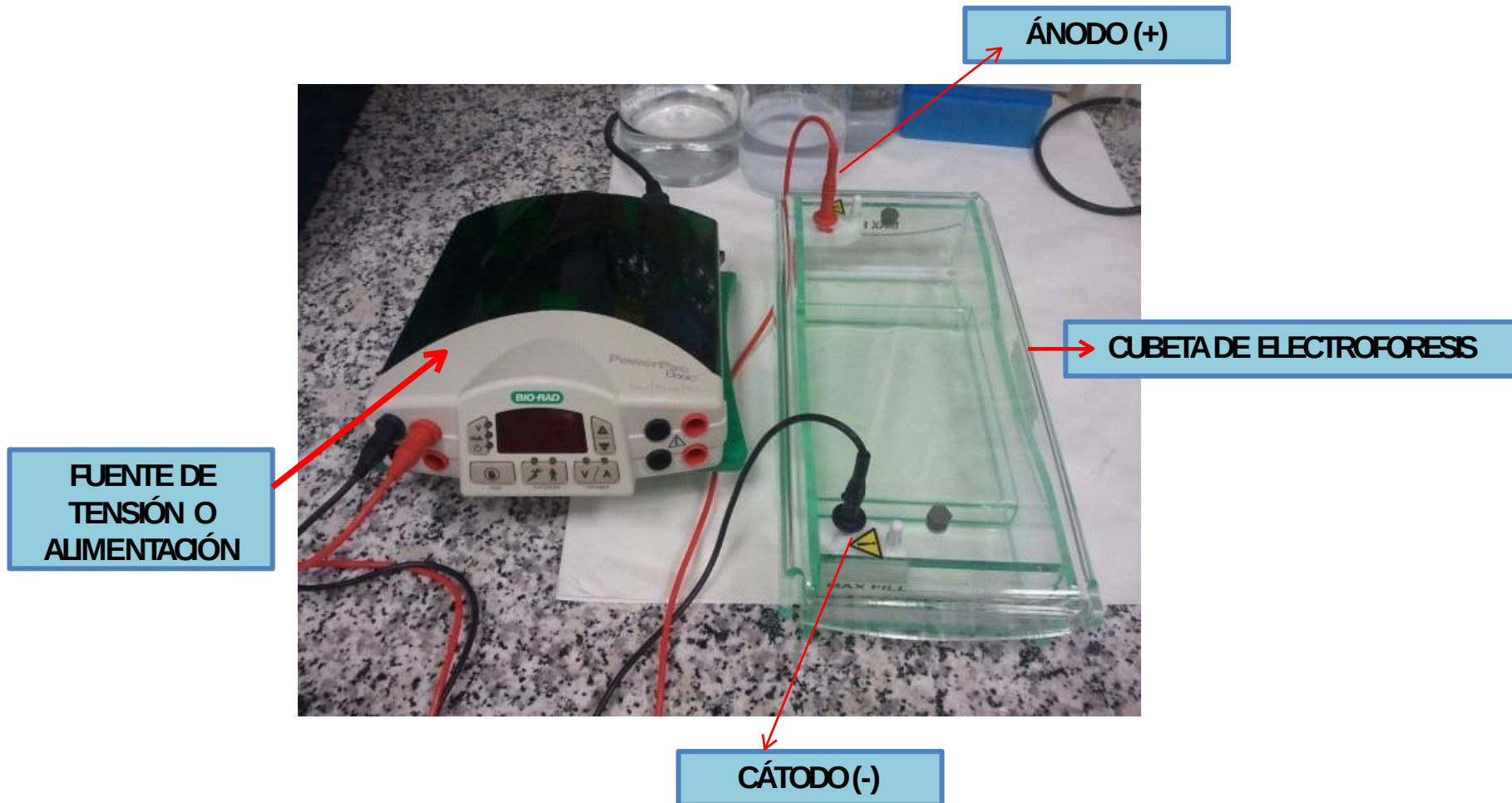
El comportamiento de una molécula en un campo eléctrico viene determinado por la movilidad electroforética, que depende directamente de la carga, de la forma y del tamaño de las moléculas.

Para llevar a cabo una electroforesis se necesitan los siguientes elementos:

- ❑ **FUENTE DE TENSIÓN O ALIMENTACIÓN**: proporciona el campo eléctrico mediante dos electrodos, el positivo (ánodo) y el negativo (cátodo), y entre ambos se establece una diferencia de potencial.
 - ❑ Las moléculas con carga negativa migran hacia el **ánodo** y las que tienen carga positiva hacia el **cátodo**.
- ❑ **CUBETA**: recipiente en cuyos extremos se sitúan los electrodos y donde se vierte el tampón de electroforesis.
- ❑ **SOPORTE ELECTROFORÉTICO**: puede ser papel, membrana o gel.

LA ELECTROFORESIS

FUNDAMENTOS DE LAS TÉCNICAS DE SEPARACIÓN ELECTROFORÉTICAS



LA ELECTROFORESIS

TIPOS DE TÉCNICAS ELECTROFORÉTICAS

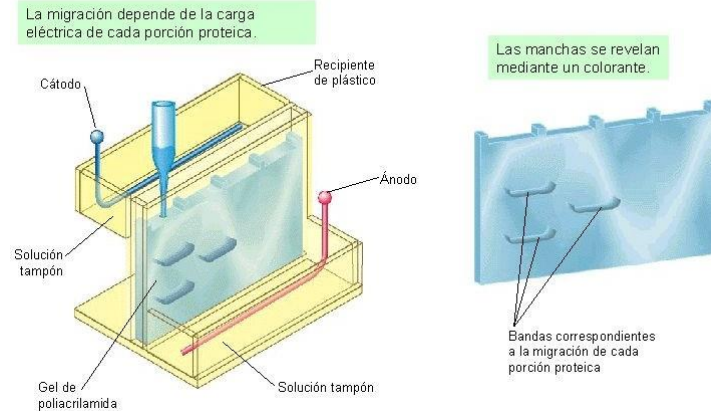
Según el tipo de soporte utilizado, hay distintas técnicas de electroforésis:

- ❑ **ELECTROFORESIS EN ACETATO DE CELULOSA**: las membranas de acetato de celulosa, respecto al papel, presentan las ventajas de que son químicamente más homogéneas y pueden transparentar, con lo que es posible cuantificar las sustancias que se separan, una vez teñidas o reveladas por densitometría de transparencia. Su aplicación principal es para separar *proteínas del suero* o *proteínograma*.
- ❑ **ELECTROFORESIS EN GEL**: Los geles permiten un principio adicional para la separación de sustancias, el tamaño, ya que modificando su concentración se consigue modificar el tamaño del poro. De esta forma, *la separación puede llevarse a cabo simultáneamente por diferencias de carga y tamaño*.
 - ✓ **GELES DE AGAROSA**: la agarosa consigue buenas resoluciones en tiempos cortos. Se utiliza fundamentalmente para separar fragmentos de ADN amplificados por PCR o para testar la integridad de ADN y ARN.
 - ✓ **GELES DE POLIACRILAMIDA**: se forman por la polimerización de los monómeros de acrilamida y bisacrilamida. Se utilizan para separar moléculas de menor tamaño con mayor poder de resolución.

LA ELECTROFORESIS

- Los ácidos nucleicos, ADN y ARN, tienen por naturaleza carga negativa.
- Si ponemos fragmentos del ADN extraído de una muestra biológica sobre un soporte poroso (gel) y aplicamos un campo eléctrico, se producirá la migración diferencial de los fragmentos a través de los poros de la matriz.
- La tinción del gel con **bromuro de etidio**, que es una sustancia fluorescente que se intercala en la molécula de ADN, y la exposición con luz ultravioleta, permite observar el resultado de ésta migración.
- El tamaño de los fragmentos de ADN se puede estimar comparándolos con el patrón de bandas que se obtiene de marcadores comerciales de peso molecular conocido.
- *La electroforesis de ADN es útil para comparar patrones de bandas de diferentes muestras biológicas.*
 - Se puede usar para comparar muestras de individuo sano frente a individuo enfermo,
 - Para identificar ácidos nucleicos de agentes infecciosos
 - Para la obtención de un fragmento determinado de ADN que, una vez localizado en el gel, puede ser extraído para análisis posteriores.

Electroforesis en gel de poliacrilamida



<http://medmol.es/tecnicas/68/>

EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

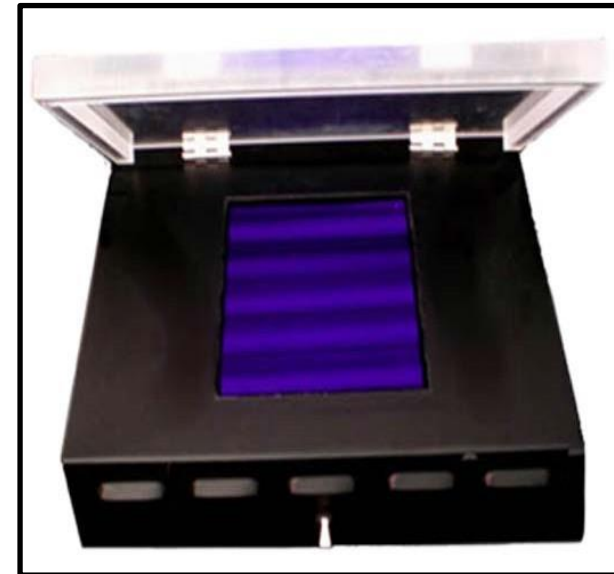
DOCUMENTADOR DE GELES

El **documentador de geles** es un equipo que permite visualizar las bandas de ácidos nucleicos en el gel después de la electroforesis y obtener una fotografía de él.

El equipo consta básicamente de:

❑ Un **transiluminador**: consiste en una fuente de luz ultravioleta situada por debajo de una superficie transparente al UV donde se coloca el gel. Cuando la luz ultravioleta ilumina el gel, el agente intercalante emite fluorescencia, visualizándose las moléculas de ácidos nucleicos.

❑ Una **cámara fotográfica** o sistema de captación de imágenes. La visualización del gel se realiza con una cámara fotográfica, adecuada para trabajar con luz UV y controlada por un software específico. Con esta cámara es posible visualizar el gel en la pantalla de un monitor, mejorar las condiciones de la imagen, obtener fotografías y realizar mediciones.



EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO

CABINA DE BIOSEGURIDAD:

Las cabinas de seguridad biológica son equipos que proporcionan una barrera de contención para trabajar de forma segura con muestras biológicas. Se les conoce igualmente bajo otras denominaciones tales como *cabinas de bioseguridad*, *campanas microbiológicas* o *campanas de flujo laminar*.

Las cabinas de flujo laminar pueden tener:

- Flujo horizontal: busca mantener estéril el preparado
- Flujo vertical: además de la esterilidad del preparado se busca la protección del trabajador.

En los laboratorios de biología molecular se deben utilizar *cabinas de flujo laminar vertical de clase II*, que protegen de contaminación a la muestra, a la persona manipuladora y al medio ambiente.



EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO

SISTEMA DE PURIFICACIÓN DEL AGUA:

CLASIFICACION DE LOS TIPOS DE AGUA SEGÚN ASTM 1193: 2001

CLASE I	Usada para procedimiento que requieren de máxima exactitud y precisión; tales como espectrometría atómica, fotometría de llama, enzimología, gas en la sangre, <u>soluciones buffer de referencia y reconstitución de materiales liofilizados usados como estándares.</u>
CLASE II	Recomendada para la mayoría de las pruebas analíticas y generales de laboratorio, tales como los análisis hematológicos, serológicos y microbiológicos; así como para métodos químicos en los que específicamente no se indique o se haya comprobado que requieren agua de calidad Tipo I. La ASTM especifica que el agua Tipo II sea preparada por <u>destilación</u> y como factor importante recomienda que esté siempre libre de impurezas orgánicas.
CLASE III	Satisfactoria para algunas pruebas generales de laboratorio; para la mayoría de los análisis cualitativos, tales como uroanálisis, procedimientos histológicos y parasitológicos; para el enjuague de muestras analíticas; preparación de soluciones de referencia; y para el lavado o enjuague de cristalería (el enjuague final de la cristalería debe hacerse con el tipo de agua especificado para el procedimiento realizado).
CLASE IV	Sirve para la preparación de soluciones y para el lavado o enjuague de cristalería.

EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO

SISTEMA DE PURIFICACIÓN DEL AGUA:

En la purificación existen distintos procesos para eliminar las impurezas; entre los más importantes se encuentran:

- *Filtración.*
- *Ultrafiltración.*
- *Destilación.*
- *Osmosis Inversa.*
- *Adsorción con carbón activado.*
- *Desionización.*

El agua ultrapura (tipo I), no se puede obtener con un solo proceso de purificación, es necesario la combinación de más de uno de ellos, para lograr la calidad deseada de acuerdo a sus características fisicoquímicas.

El laboratorio de biología molecular requiere un suministro estable de **agua purificada tipo II y agua ultrapura tipo I**

La elección de uno u otro dependerá del consumo diario de ambos tipos de agua. Cuando el consumo de ambos tipos de agua es muy bajo, se pueden adquirir como si se trataran de un reactivo más.

EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO

ESPECTROFOTÓMETRO:

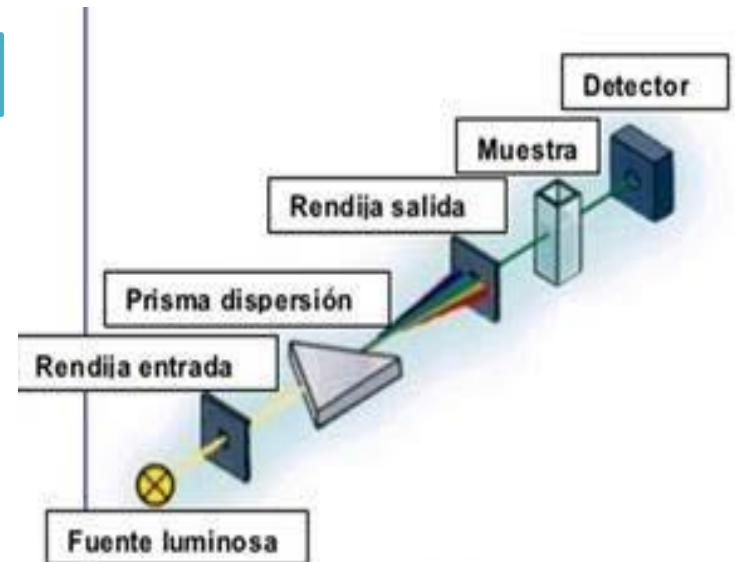
Instrumento utilizado para medir la energía absorbida o transmitida por una disolución.

Podemos determinar la concentración de la sustancia que absorbe luz dentro de la disolución.



Componentes básicos de un espectrofotómetro.

- Fuente de luz.
- Ranura de entrada.
- Monocromador.
- Rendija de salida.
- Muestra.
- Detector.

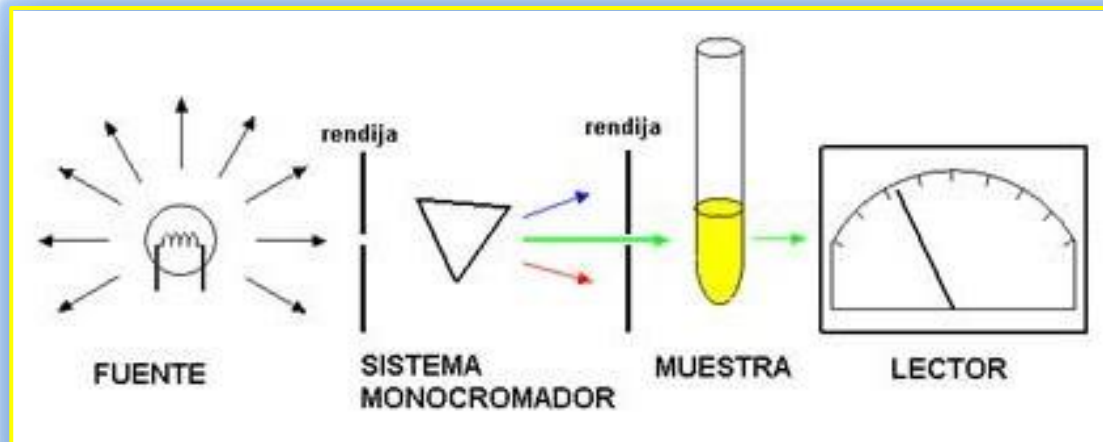


EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO: ESPECTROFOTÓMETRO

LEY DE LAMBERT – BEER

- ✓ Establece que **la concentración de una sustancia es directamente proporcional a la cantidad de luz absorbida** o inversamente proporcional al logaritmo de la luz transmitida.
- ✓ Cuando un haz de luz pasa a través de un medio, se registra una pérdida de intensidad, debido a la absorción por parte de la sustancia.
- ✓ Por lo tanto, la intensidad de un haz incidente decae exponencialmente a medida que pasa a través del absorbente.



EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO: ESPECTROFOTÓMETRO

CUBETA O CELDA DE MUESTRA

Recipiente donde se coloca la muestra líquida para la medición.

Pueden ser de distintos tipos y tamaños (cuadradas, rectangulares, redondas).

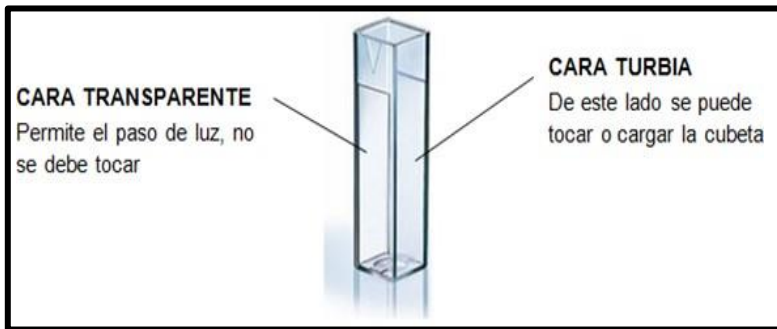
Si se utilizan cubetas redondas se deben marcar e introducir en el aparato siempre en la misma posición.

Suelen estar fabricadas en vidrio o en plástico.



EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO: ESPECTROFOTÓMETRO



La medida de la concentración de ácido nucleico de una muestra y su pureza requiere lecturas de absorbancia en un rango de longitudes de onda comprendidas entre **230 y 320 nm**, por lo que se requiere un espectrofotómetro que cubra ese rango.

Dado que en ocasiones la cantidad de muestra es muy pequeña, se han diseñado *espectrofotómetros específicos para cuantificar ácidos nucleicos* que utilizan cantidades mínimas de muestra (1 ul) basados en cubetas capilares.

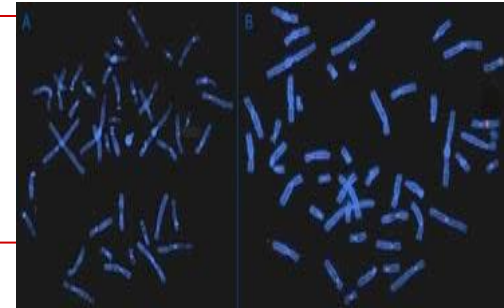


EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO: MICROSCOPIO

FUNCIÓN:

Permite **observar muestras**. En biología molecular, un microscopio de fluorescencia es imprescindible para interpretar las técnicas de **hibridación in situ fluorescente**.



TIPOS DE MICROSCOPIOS

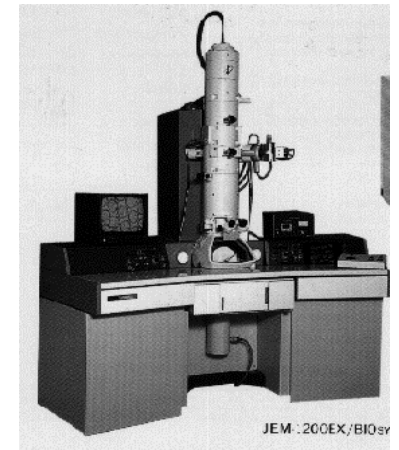
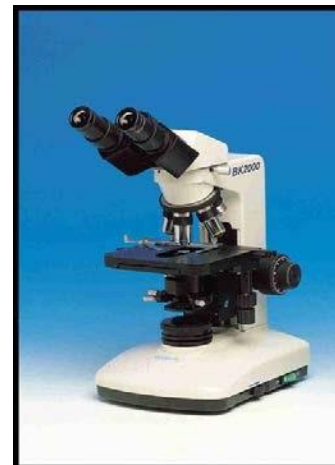
MICROSCOPIO ÓPTICO:

Emplea **luz visible** y una serie de dispositivos para mejorar la visibilidad.

- Microscopio de campo oscuro: disco opaco en el condensador.
- Microscopio de contraste de fases: diafragma en el condensador.
- Microscopio de interferencia: prisma que permite una mayor resolución.
- Microscopios de fluorescencia: fuente de luz ultravioleta.

MICROSCOPIO ELECTRÓNICO:

Utiliza un **haz de electrones**.



EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO: MICROSCOPIO

SISTEMA ÓPTICO:

OBJETIVOS: complejo sistema de lentes localizados directamente sobre el objeto que forman la imagen primaria en el microscopio, esta es después amplificada por el ocular.

Objetivo de inmersión en aceite: objetivo del microscopio que requiere usarse con aceite entre la lente del objetivo y la muestra a observar. Es el 100x y aumenta 100 veces.

Objetivos secos: son aquellos en los cuales existe un espacio ocupado por aire entre la lente frontal y el cubreobjetos. Aquí se encuentran los objetivos de menor aumento como son el de 4x–10x y 40x que aumentan 4, 10 y 40 veces respectivamente.

OCULARES: sistema de lentes más cercano al ojo del observador, utilizado para amplificar más la imagen primaria transmitida por el objetivo. Suele suponer un aumento de 10x



EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO: MICROSCOPIO

SISTEMA MECÁNICO:

BASE O PIE: es la parte inferior del microscopio, está fabricada con metal pesado para evitar las vibraciones.

PLATINA: es la placa de metal ennegrecido (para la reflexión) redonda, cuadrada o de otras formas, donde se colocan las preparaciones. Puede estar fija o adosada a un carro con tornillos que le permiten movimientos de traslación para centrarla.

BRAZO: sostiene al tubo y su movimiento de traslación vertical.

TORNILLO MACROMÉTRICO: permite realizar movimientos rápidos de la platina o tubo del microscopio, para encontrar la distancia focal ([Enfoque grueso](#)).

TORNILLO MICROMÉTRICO: tiene un movimiento suave que permite hacer la imagen más nítida. ([Enfoque fino](#)).

REVOLVER mecanismo giratorio, que permite el cambio de los diferentes objetivos del microscopio.



EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO: MICROSCOPIO

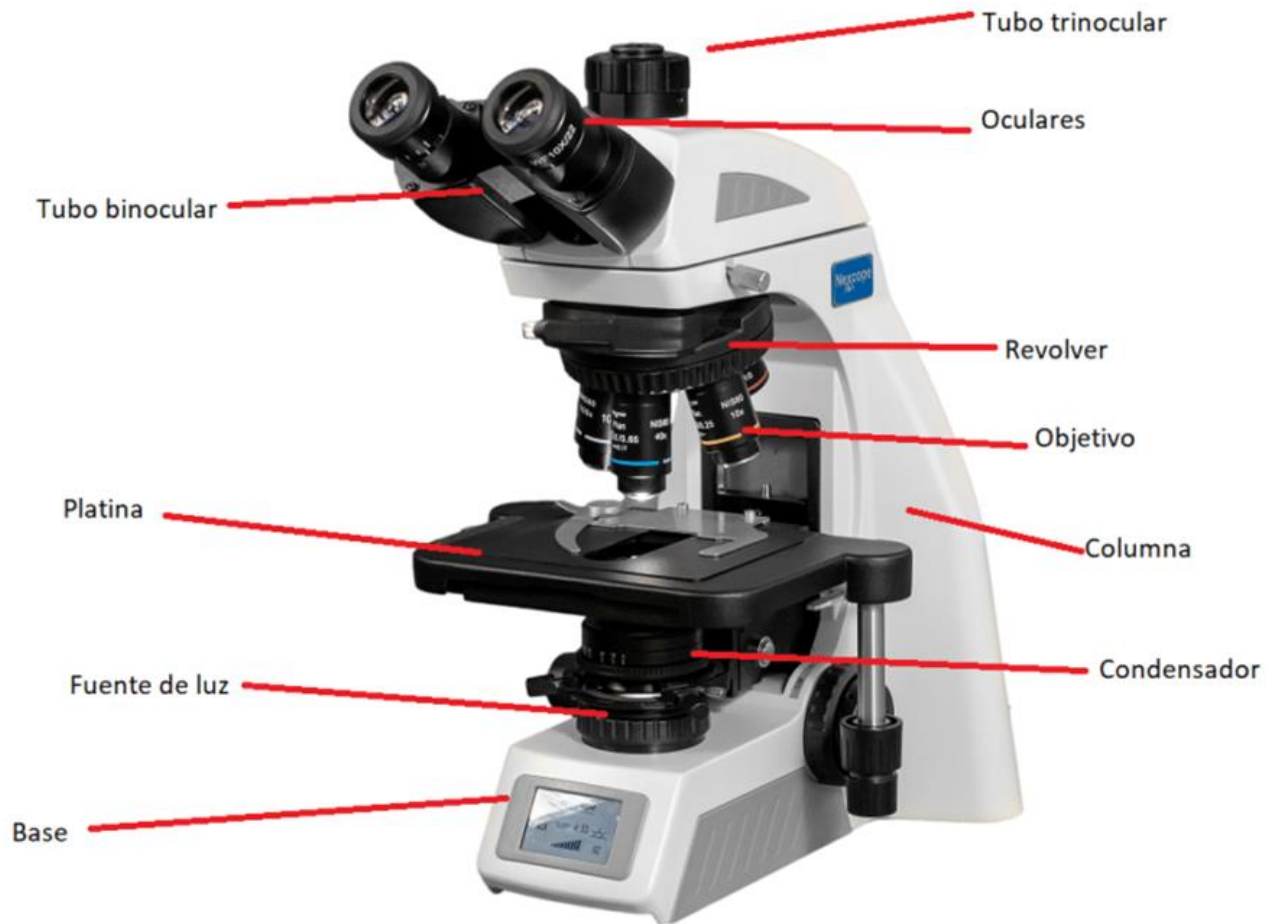
SISTEMA DE ILUMINACIÓN:

CONDENSADOR: lente o sistema de lentes de un microscopio cuya finalidad es iluminar la preparación en la parte enfocada por el objetivo de modo que el campo visual presente una iluminación uniforme. Está colocada directamente debajo de la platina del microscopio.

DIAFRAGMA - IRIS: mecanismo simple, generalmente acoplado con el condensador del microscopio, usado para variar el diámetro de una apertura.

FUENTE LUMINOSA: proporciona la luz para la observación de la muestra





EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO: MICROSCOPIO

ENFOQUE DEL MICROSCOPIO:

- Colocar la preparación sobre la platina sujetándola con las pinzas metálicas.
- Comenzar la observación con el objetivo de 10x o 40x
- Acercar al máximo la lente del objetivo a la preparación, empleando el tornillo macrométrico. Esto debe hacerse mirando directamente y no a través del ocular, ya que corre el riesgo de incrustar el objetivo en la preparación.
- Mirando a través de los oculares, ir separando lentamente el objetivo de la preparación con el macrométrico y, cuando se observe algo nítida la muestra, girar el micrométrico hasta obtener un enfoque fino.
- Girar el revólver hacia el objetivo de inmersión dejándolo a medio camino entre este y el de 40x.
- Colocar una gota mínima de aceite de inmersión sobre el círculo de luz.
- Terminar de girar suavemente el revólver hasta la posición del objetivo de inmersión.
- Mirar directamente al objetivo, subir la platina lentamente hasta que la lente toca la gota de aceite.
- Enfocar cuidadosamente con el micrométrico.

EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO: MICROSCOPIO

PRECAUCIONES Y MANTENIMIENTO:

- Una vez que se haya puesto aceite de inmersión sobre la preparación, ya no se puede volver a usar el objetivo 40 x sobre esa zona, pues se mancharía. Por tanto, si se desea enfocar otro campo, hay que bajar la platina y repetir la operación.
- Una vez finalizada la observación de la preparación, se baja la platina y se coloca el objetivo de menor aumento girando el revólver. En este momento ya se puede retirar la preparación de la platina. Nunca se debe retirar con el objetivo de inmersión en posición de observación.
- Limpiar el objetivo de inmersión con cuidado empleando un papel especial para óptica.
- Se pasará el papel por la lente en un solo sentido y con suavidad.
- Nunca hay que tocar las lentes con las manos. Si se ensucian, hay que limpiarlas muy suavemente con un papel de óptica.
- Al finalizar el trabajo, hay que dejar puesto el objetivo de menor aumento en posición de observación. Además, hay que asegurarse de que la parte mecánica de la platina no sobresale del borde de la misma y dejarlo cubierto con una funda.
- No dejar el portaobjetos puesto sobre la platina si no se está utilizando el microscopio.

EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO: MICROSCOPIO

PRECAUCIONES Y MANTENIMIENTO:

- Cuando no se esté utilizando el microscopio, hay que mantenerlo cubierto con su funda para evitar que se ensucien y dañen las lentes. Si no se va a usar de forma prolongada, se debe guardar en su caja dentro de un armario para protegerlo del polvo.
- Si el aceite de inmersión se seca y queda pegado en el objetivo, hay que limpiarlo con una mezcla de **alcohol-acetona o xilol**. No hay que abusar de este tipo de limpieza, porque si se aplican estos disolventes en exceso, se pueden dañar las lentes y su sujeción.
- Es importante no forzar nunca los tornillos giratorios del microscopio.
- El cambio de objetivo se hace girando el revólver y dirigiendo la mirada hacia la preparación para prevenir el roce de la lente con la muestra.
- Mantener limpia y seca la platina.

EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO: MICROSCOPIO

NUNCA SE DEBE...

- Emplear papel ordinario o algodón para limpiar las lentes.
- Tocar los objetivos con los dedos.
- Dejar el microscopio con aceite de inmersión en el objetivo.



EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO: AUTOCLAVE

La esterilización es una técnica de saneamiento preventivo que garantiza la eliminación total de todos los microorganismos (bacterias, hongos y virus) y sus formas de resistencia del material sometido a dicho proceso.



AGENTE	SISTEMA DE ESTERILIZACIÓN	MÉTODO
FÍSICO	Calor húmedo	Autoclave
	Calor seco	Incineración y flameado Estufa Pasteur, horno Poupinell
	Radiaciones	Ionizantes No ionizantes (infrarrojos, UV)
	Frío	Congelación
QUÍMICO	Gases	Formaldehído Óxido de etileno
	Líquidos	Glutaraldehído

EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO: AUTOCLAVE

Los aparatos de esterilización mediante calor húmedo se denominan **autoclaves o estufas de vapor**.



Son recipientes cerrados, normalmente de acero inoxidable con paredes gruesas y una superficie donde se coloca el material a esterilizar.

El mecanismo de destrucción de los microorganismos mediante la aplicación de calor húmedo o vapor se produce a través de la desnaturalización y posterior lisis de sus proteínas.

Consiste en la aplicación de vapor de agua a una presión constante, con condiciones precisas: $121^{\circ}\text{C} = 1$ atmósfera durante 20 minutos.

Para esterilizar medios de cultivo, por lo general se emplea la tindalización, que consiste en alcanzar los 100°C durante 30 minutos y repetir el ciclo 3 días consecutivos.



EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO: INCUBADOR O ESTUFA

FUNCIÓN: Sirve para **proporcionar un ambiente aislado a temperaturas más o menos altas**; es decir, desde los 30° C hasta temperaturas muy elevadas. En el laboratorio de biología molecular dependen de las muestras que se estudien o las técnicas que se apliquen

TIPOS DE ESTUFAS (Según su finalidad)

ESTUFA DE CULTIVO

Se utiliza en Microbiología para el cultivo y **crecimiento de microorganismos**.



ESTUFA DE CO₂ (con humedad controlada)

Sirve para trabajar con **cultivos celulares**.

ESTUFA DE SECADO

Sirve para la **esterilización o secado de materiales** y puede alcanzar temperaturas muy elevadas. También se denomina horno de secado o Poupinel.

EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

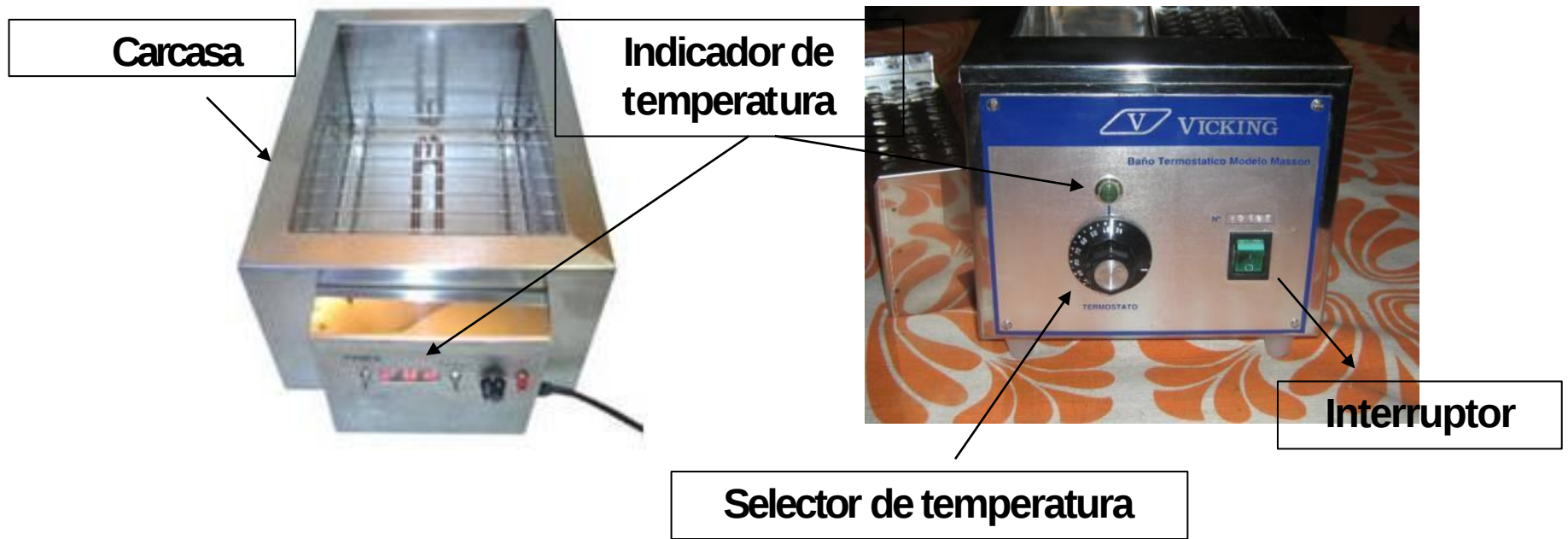
EQUIPAMIENTO GENÉRICO: BAÑO TERMOSTATIZADO

FUNCIÓN:

Mantener muestras a una temperatura determinada.

El baño termostatzado permite calentar agua mediante una resistencia eléctrica que lleva en el fondo del depósito, a la temperatura que se desee, gracias a un termostato.

Esbásico para realizar todo tipo de incubaciones, digestiones y tratamientos enzimáticos.



EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO: TERMOBLOQUE Y PLACA CALEFACTORA



Termobloque o bloque calefactor de tubos

Temperatura regulable para realizar todo tipo de incubaciones, digestiones y tratamientos enzimáticos.

La placa calefactora es importante porque puede alcanzar de manera homogénea y estable temperaturas de 95-100°C para desnaturalizar el ADN de células y tejidos



Placa calefactora

EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO: CENTRÍFUGA Y MICROCENTRÍFUGA

FUNCIÓN:

Separar componentes de una mezcla heterogénea formada por uno varios sólidos que se encuentran en un líquido.

OJO: Tubos enfrentados

TIPOS DE CENTRÍFUGAS



CENTRIFUGA DE TUBOS



**CENTRÍFUGA DE EPPENDORF
(0,2 ml)**



CENTRÍFUGA DE CAPILARES

EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO: NEVERAS Y CONGELADORES



Las neveras y congeladores es fundamental para **conservar los reactivos y las muestras:**

- La mayor parte de los reactivos (sobre todo las enzimas) se conserva a -20°C
- La conservación de todas las muestras de ARN y el almacenamiento a largo plazo de muestras de ADN debe realizarse a -80°C .

EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO: BALANZAS

La **balanza** es el instrumento que se emplea para medir la masa de un cuerpo o sustancia

EXACTITUD: definimos la exactitud de una balanza como la capacidad que tiene para que los **valores** medidos se **correspondan con el valor verdadero**.

PRECISIÓN: es la capacidad que tiene para dar resultados, de **mediciones consecutivas, iguales o muy próximas**, efectuadas bajo las mismas condiciones, es decir: con el mismo procedimiento de pesada, el mismo observador, el mismo lugar de pesada, bajo las mismas condiciones ambientales y cuando la repetición de las medidas se han realizado en un período de tiempo corto.

SENSIBILIDAD: capacidad que tienen para **apreciar cantidades mínimas de masa**. Las balanzas tendrán tanta mayor sensibilidad a medida que las cantidades de masa que detecten sean menores.



EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO: BALANZAS



BALANZA ANALÍTICA
 $d = 0,1 \text{ mg}$



SEMIMICROBALANZA
 $d = 0,01 \text{ mg}$



MICROBALANZA
 $d = 0,001 \text{ mg}$



ULTRAMICROBALANZA
 $d = 0,1 \text{ }\mu\text{g}$

EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO: BALANZAS

LUGAR DE EMPLAZAMIENTO

- Deben colocarse **alejadas de ventanas y radiadores** para evitar, respectivamente, que los rayos solares o la radiación térmica las calienten.
- La habitación donde se monta la balanza no debe de ser de paso y **los rincones son los mejores lugares para instalarlas**, ya que son los lugares más firmes y con las menores vibraciones.
- **No deben montarse cerca de equipos de aire acondicionado ni de ventiladores**, así como tampoco muy cerca de las ventanas para evitar turbulencias de aire.
- Los **aparatos de iluminación deben de estar instalados no muy cerca de la mesa de pesada**, con el fin de evitar radiaciones térmicas perturbadoras para el sistema de pesada. No deben instalarse lámparas de gran potencia. Son recomendables los tubos fluorescentes.
- Los cambios de temperatura de la habitación provocan cambios en el interior de la balanza repercutiendo en su correcto funcionamiento. Se recomienda trabajar a temperaturas de entre **10°C y los 40°C**.
- Cuanto mayor sea la sensibilidad de las balanzas, más repercusión sobre ella tendrán las variaciones de humedad, por lo que se hace necesario controlarla. Se recomienda una humedad entre el **40% y 65%**.

EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO: BALANZAS

TÉCNICA DE PESADA: ANTES DE INICIAR

- Comprobar que la balanza está **limpia** y, en caso contrario, proceder a su limpieza.
- Comprobar que la balanza esté **nivelada**, es decir, colocada horizontalmente sobre la mesa de las balanzas que lleva incorporada una superficie dura y lisa. Las balanzas ofrecen la posibilidad de ser niveladas mediante las patas reguladoras y mediante la burbuja situada cerca de ellas, que debe de estar centrada.
- Comprobar que la balanza está **enchufada**.
- Colocar el interruptor en posición ON y esperar a que se estabilicen los ceros.
- Efectuar la **calibración automática interna**, si se dispone de esta función.

EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO: BALANZAS

TÉCNICA DE PESADA

- Tener en cuenta la carga máxima de peso para cada balanza.
- Colocar sobre el platillo, el vidrio de reloj o recipiente de vidrio o plástico donde vaya a efectuarse la pesada.
- Presionar sobre el botón tara y esperar a que vuelvan a aparecer los ceros estabilizados. Abrir los envases correspondientes del producto a pesar.
- Colocar, con ayuda de una espátula (sólidos) o de una pipeta (líquidos), una cantidad aproximada del producto a pesar, leer el resultado de la medición asegurándose de que este resultado sea superior a la carga mínima.
- Adicionar producto hasta conseguir el peso deseado, esperando siempre la estabilización de los dígitos entre cada operación.
- Cerrar el envase del producto (en la zona de pesadas no debe haber más de un envase abierto) y situarlo al otro lado de la balanza (de esta manera se diferencian los productos ya pesados de los que quedan por pesar). Se debe identificar siempre el producto pesado.

EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO: AGITADORES MAGNÉTICOS



FUNCIÓN: facilita la dispersión de soluciones, suspensiones o mezclas poco viscosas.

FUNCIONAMIENTO:

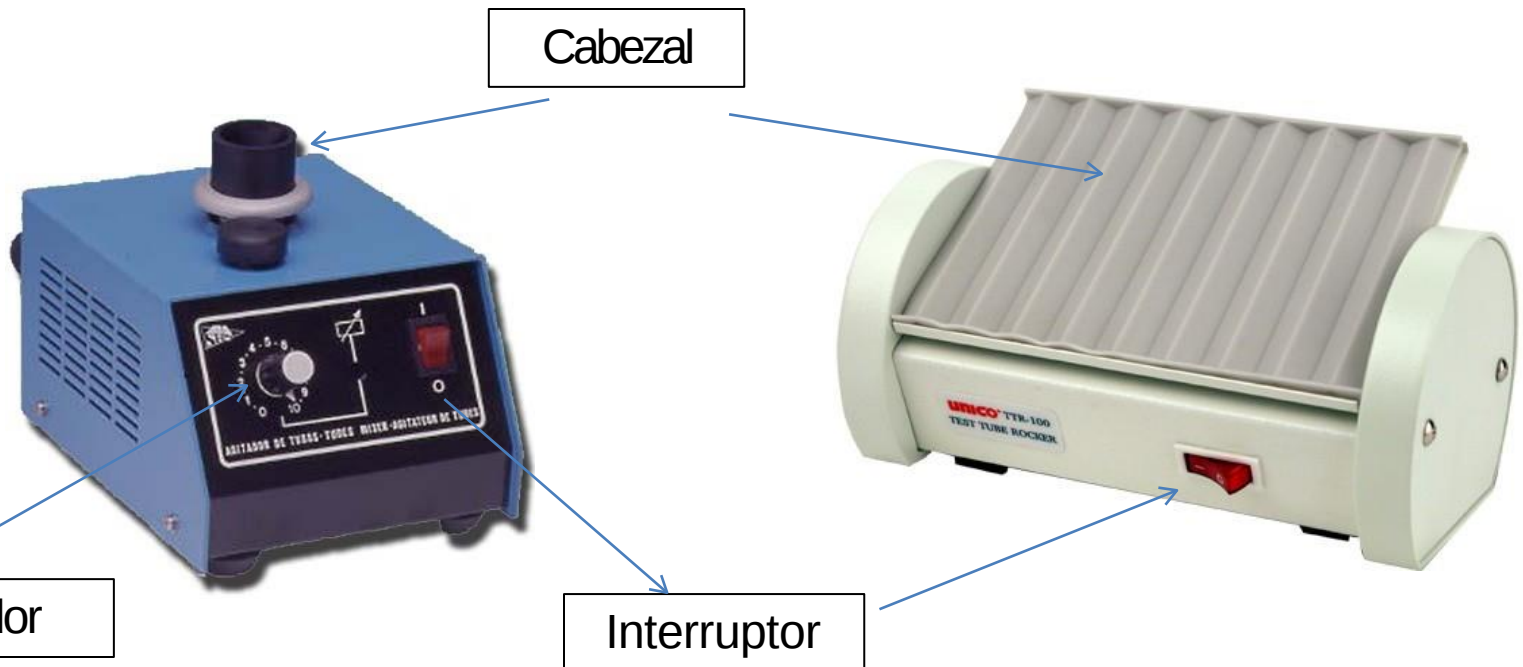
- Colocar el recipiente con el contenido que se quiere agitar sobre el plato de agitación.
- Introducir el imán en el interior para agitar el líquido.
- Conectar a la red eléctrica y encender con el interruptor, en posición ON.
- Ajustar la velocidad comenzando siempre por la más baja e ir aumentándola, hasta alcanzar la adecuada.
- Finalizada la agitación se gira el mando de velocidad hasta la posición cero.
- Apagar el interruptor y sacar el imán de su interior.

EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO: VÓRTEX O AGITADORES DE TUBOS

FUNCIÓN:

Sirve para **agitar mezclas contenidas en tubos de ensayo de modo rápido**, gracias a su movimiento vibratorio.



EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO: PH-METRO

FUNCIÓN: se utilizan para medir el pH. En el laboratorio clínico se emplean fundamentalmente para la medida del pH de reactivos, disoluciones, tampones y medios de cultivo.

FUNCIONAMIENTO:

- Encender el equipo y ajustar la temperatura de medida a la temperatura ambiente.
- Sacar el electrodo combinado de la solución conservante (KCl) y lavarlo con agua destilada; a continuación secarlo bien con un papel que no deja residuos.
- Seleccionar el botón de calibración y añadir la primera solución patrón (pH = 7)
- Lavar con agua destilada y seca con un papel que no deja residuos
- Seleccionar el botón de calibración y añadir la segunda solución patrón (pH= 4,01)
- Lavar con agua destilada y seca con un papel que no deja residuos
- Seleccionar el botón de pH y medir la solución problema, homogeneizándola.

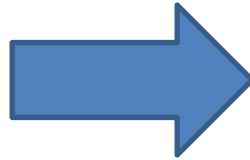
EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

EQUIPAMIENTO GENÉRICO: PH-METRO



LA ESTRUCTURA DEL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

ESTRUCTURA DEL
LABORATORIO



PCR

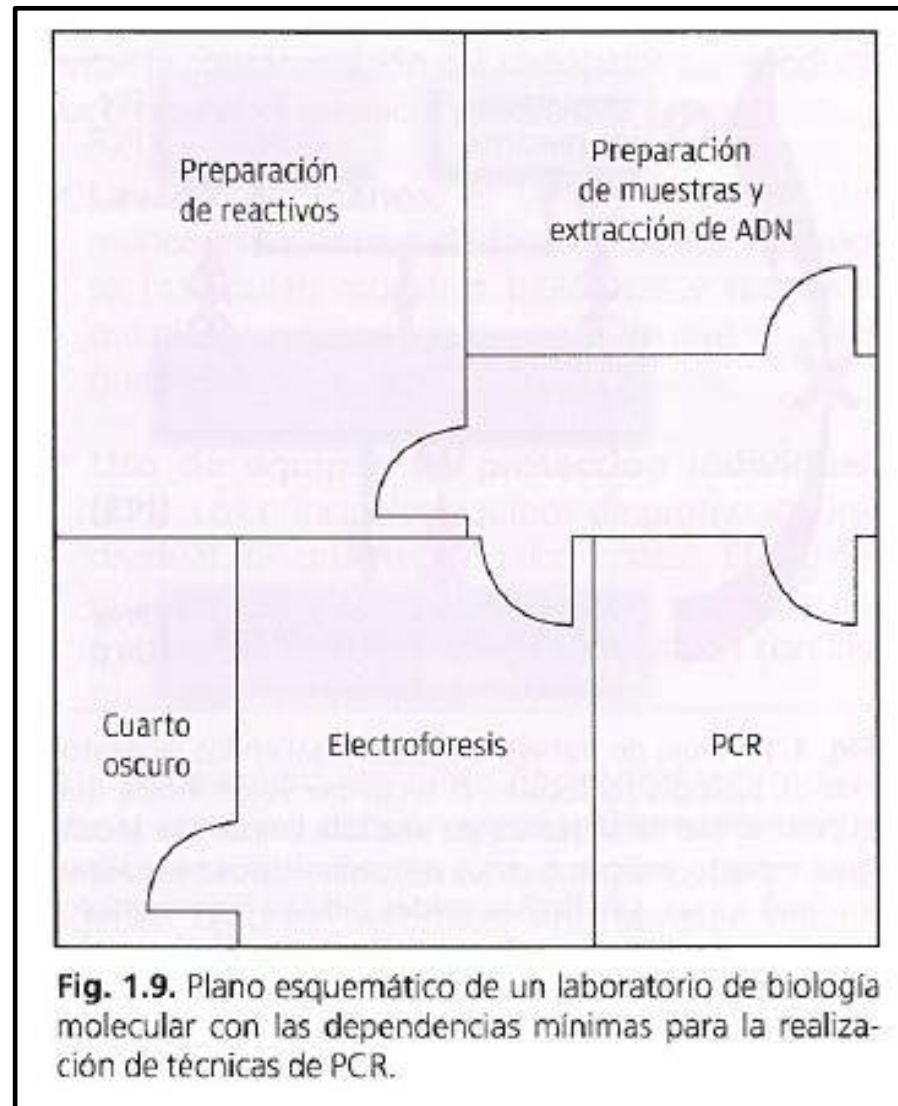
PREPARACIÓN
DE REACTIVOS

EXTRACCIÓN Y
PURIFICACIÓN DE
ADN

REACCIÓN DE
AMPLIFICACIÓN
(PCR)

ANÁLISIS
MEDIANTE
ELECTROFORESIS

LA ESTRUCTURA DEL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR



ESTRUCTURA DEL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

SALA DE PREPARACIÓN DE REACTIVOS

- Área «**limpia**» del laboratorio (**sin ADN**)
- Preparar los reactivos que se van a utilizar en el laboratorio (se incluye reacción PCR)
- Sala con presión positiva (evita la entrada de cualquier fuente de contaminación)
- Es imprescindible cabina de bioseguridad.

SALA DE PREPARACIÓN DE MUESTRAS Y EXTRACCIÓN DE ADN

- Área «**sucia**» del laboratorio (**con ADN**)
- Sala con presión negativa (evitar que pueda escaparse material contaminante)
- Debe contar con cabina de bioseguridad y espectrofotómetro.

ESTRUCTURA DEL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

SALA DE PCR

- Imprescindible termocicladores para llevar a cabo la PCR
- Espacio de trabajo para llevar a cabo la PCR y un espacio para añadir las muestras de ADN a la mezcla de reacción.

SALA POST-PCR

- Sala «**sucia**» (fuerte importante de contaminación por productos amplificados)
- Presión negativa.
- Dispone de equipos de electroforesis y de documentación de geles.

FLUJO DE TRABAJO EN EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

PRE-PCR → PCR → POST-PCR

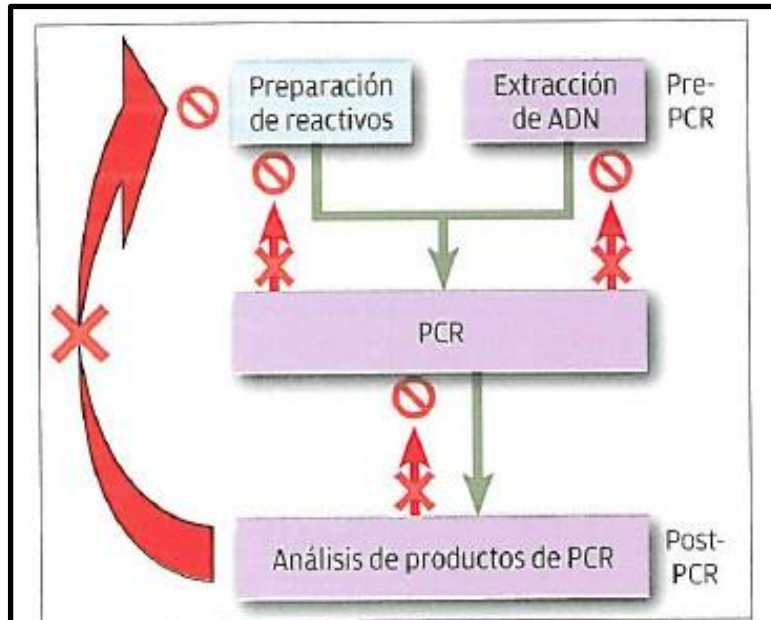


Fig. 1.10. Flujo de trabajo unidireccional en los laboratorios de biología molecular. El recuadro verde indica que el procedimiento se realiza en una sala limpia. Los recuadros morado indican que los procedimientos se realizan en salas sucias. Las flechas verdes indican flujo unidireccional correcto de muestras y trabajo. Las flechas rojas indican flujo incorrecto de muestras.

- Personal consciente de la extrema facilidad con la que se puede producir la contaminación de las muestras.
- *Flujo de trabajo unidireccional.*
- Cada área de trabajo autónoma en cuanto a infraestructura y material de trabajo.
- Evitar el retorno de cualquier material de trabajo de las áreas «sucias» a las áreas «limpias».

CONDICIONES DE TRABAJO EN EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

MINIMIZAR LA CONTAMINACIÓN DE LAS MUESTRAS

CONTAMINACIÓN: Introducción accidental en la muestra de material exógeno que altera su pureza.

CONTAMINANTES:

- ✓ Ácidos nucleicos extraños a la muestra
- ✓ Enzimas no deseadas que degradan ácidos nucleicos (nucleasas)

FUENTES DE CONTAMINACIÓN:

- **CONTAMINACIÓN CRUZADA:**
 - Material no amplificado del medio ambiente o microorganismos ambientales
 - Contaminantes del personal (células, descamación de la piel, pelo...)
- **CONTAMINACIÓN POR PRODUCTOS AMPLIFICADOS:** generados por PCR en el laboratorio (CARRYOVER)
- **CONTAMINACIÓN DE REACTIVOS COMERCIALES Y MATERIAL FUNGIBLE:** «Estéril» no implica la eliminación de ADN de microorganismos ni la activación de las enzimas.

CONDICIONES DE TRABAJO EN EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

NORMAS PARA LA MANIPULACIÓN DE MATERIALES Y REACTIVOS

- Intentar anular o prevenir las fuentes de contaminación.
- Separación física de las áreas de trabajo y flujo unidireccional.
- Utilizar reactivos y material fungible «libre de nucleasas».
- Control exhaustivo de reactivos (lote, fecha de caducidad...) y técnicas.
- Uso de buenos hábitos de trabajo en condiciones de esterilidad basados en la técnica aséptica.



TÉCNICA ASÉPTICA: conjunto de actividades encaminadas a prevenir la contaminación por microorganismos, ácidos nucleicos y nucleasas.



- Prevenir la contaminación de la muestra.
- Evitar la contaminación del trabajador por productos biológicos y químicos peligrosos.

TÉCNICA ASÉPTICA EN LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

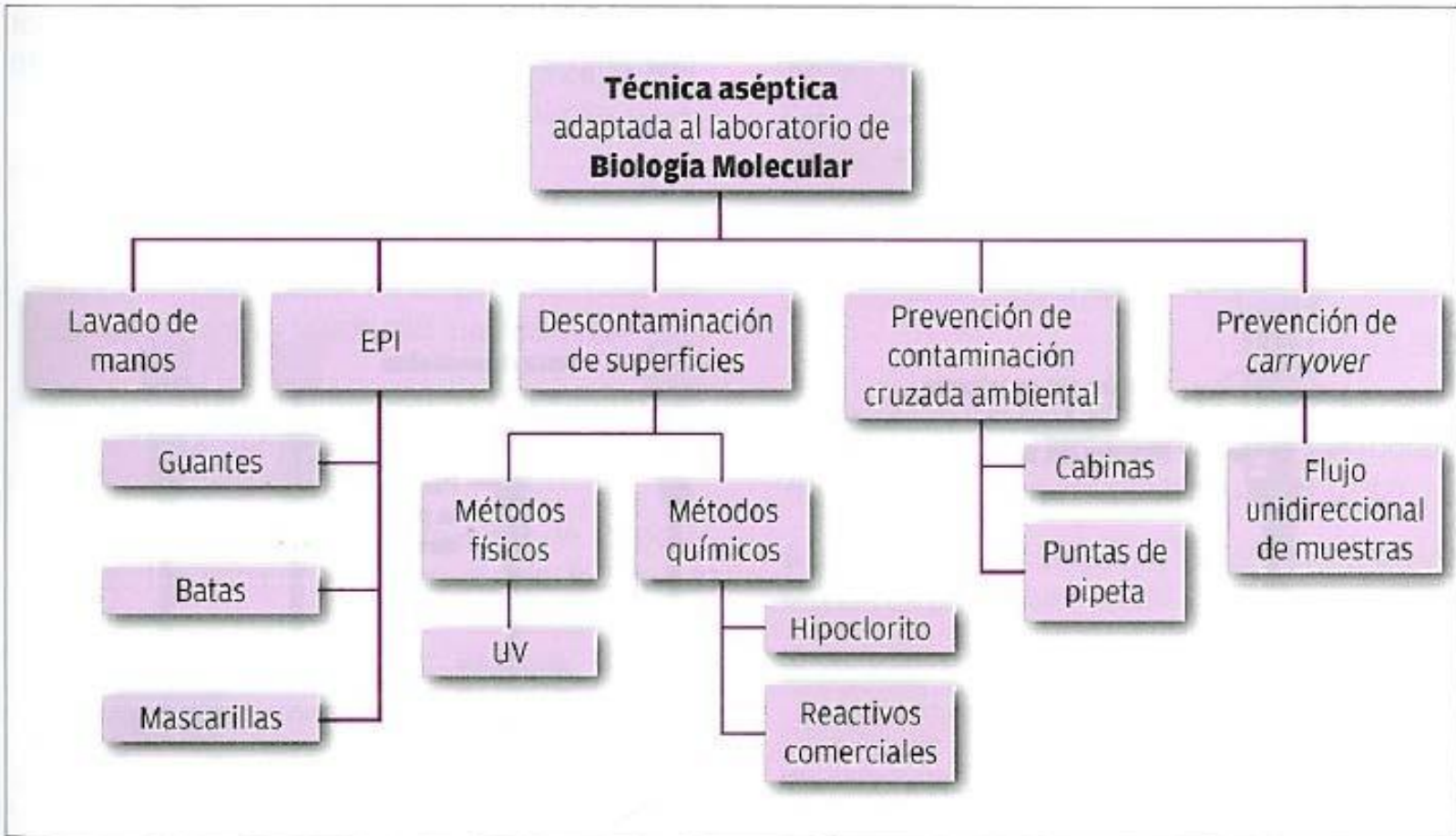


Fig. 1.11. Esquema en forma de organigrama de actividades típicas de la técnica aséptica adaptada al laboratorio de biología molecular

TÉCNICA ASÉPTICA EN LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

LAVADO DE MANOS	Muestra de higiene básica cuando se manipulan muestras biológicas y reactivos químicos (independiente del uso de guantes)
USO DE EPI	Guantes y bata
DESCONTAMINACIÓN DE SUPERFICIES	Limpieza y descontaminación de superficies de trabajo: ➤ <u>Métodos físicos</u>: UV ➤ <u>Métodos químicos</u>: hipoclorito sódico al 10% o descontaminantes comerciales.
PREVENCIÓN CONTAMINACIÓN AMBIENTAL	Imprescindible el uso de: ➤ Cabinas de bioseguridad de clase II ➤ Puntas de micropipeta especiales: ➤ <u>Puntas con desplazamiento positivo</u>: tienen un vástago que encaja en el émbolo, el cual sube y baja en el interior de la punta succionando y expulsando el fluido, sin que este toque en ningún momento el cuerpo de la pipeta ni se produzcan aerosoles. ➤ <u>Puntas con filtro</u>: tienen un filtro en su interior que impiden que los posibles aerosoles alcancen el cuerpo de la pipeta.
PREVENCIÓN DEL CARRYOVER	No revertir nunca el flujo de trabajo.

USO EFICIENTE DE LOS RECURSOS EN LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

Para una eficiente gestión de los recursos es imprescindible implantar estándares de calidad adecuados y desarrollar indicadores de calidad que permitan comprobar que funcionan correctamente.

Equipamiento e infraestructuras	Plan de mantenimiento y revisiones técnicas periódicas
Reactivos	Asegurar la trazabilidad de los reactivos, desde su recepción hasta su consumo o eliminación
Recursos humanos	Personal de nueva incorporación: adiestramiento adecuado. Plan de formación continuada (rápida evolución de tecnologías y procedimientos)
Técnicas	Trabajar con procedimientos normalizados de trabajo (PNT) buena comunicación con el clínico solicitante de la prueba
Gestión medioambiental	➤ Intentar reducir, en la medida de lo posible, los consumos de agua, electricidad y papel. ➤ Garantizar el correcto reciclado de los residuos de tipo urbano. ➤ La infraestructura básica del laboratorio deberá también estar acorde con este principio (grifos de bajo caudal, iluminación de bajo consumo, aislamiento...)

EL LABORATORIO DE CITOGENÉTICA Y CULTIVOS CELULARES

LABORATORIO DE CULTIVOS CELULARES



Propagación o crecimiento de células eucarióticas de organismos pluricelulares en medios de cultivo artificiales.



LABORATORIO DE CITOGENÉTICA



Estudio de los cromosomas de especies eucarióticas, tanto desde una perspectiva morfológica (cariotipo) como molecular (citogenética molecular)



PRINCIPAL PROBLEMA: LA CONTAMINACIÓN DE LOS CULTIVOS POR MICROORGANISMOS

LABORATORIO DE CITOGENÉTICA Y CULTIVOS CELULARES

EQUIPAMIENTO ESPECÍFICO DEL LABORATORIO DE CULTIVOS CELULARES

- **CABINA DE FLUJO LAMINAR**: se realizan todos los procesos y manipulaciones de cultivos celulares: preparación de medios, siembra de cultivos, cambio de medios. ...
- **INCUBADOR DE CO₂**: proporciona las condiciones ambientales óptimas para el crecimiento de las células en el medio de cultivo.



- **Control de la temperatura**, responsable de fijar y mantener estable la temperatura óptima para cada tipo de cultivo.
- **Recircularización del aire** interior, para homogeneizar la temperatura.
- **Control de CO₂**. El CO₂ puro se suministra comprimido en botellas presurizadas y este dispositivo lo mezcla con aire en la proporción adecuada (4-7%) y lo inyecta en el interior del incubador.
- **Control de humedad**. En el interior del incubador se requiere una humedad ambiente elevada para evitar la evaporación del medio de cultivo. Los incubadores más sencillos lo consiguen, simplemente, colocando una bandeja con agua en el suelo del incubador. Sin embargo, esta solución no es la ideal por la facilidad con la que se contamina esa agua. Por ello, los incubadores actuales incorporan un dispositivo de control de humedad que inyecta agua estéril.

LABORATORIO DE CITOGENÉTICA Y CULTIVOS CELULARES

EQUIPAMIENTO ESPECÍFICO DEL LABORATORIO DE CULTIVOS CELULARES

➤ MICROSCOPIO INVERTIDO

- La estructura del microscopio es invertida en comparación al microscopio convencional.
- La fuente de luz está ubicada por encima de la platina y el revólver de objetivos por debajo de la platina.
- El principio de funcionamiento y formación de la imagen es el mismo que el del microscopio tradicional.
- Utilizado principalmente para cultivos celulares (células vivas) sin una preparación previa y para monitorizar actividades (crecimiento, comportamiento).



➤ EQUIPO DE CRIOGENIA

- El equipo de criogenia *permite conservar a largo plazo y en forma viable muestras de células.*
- El equipo de criogenia mínimo está constituido por un tanque o depósito de nitrógeno líquido.
- Es un equipamiento imprescindible en los laboratorios de cultivos celulares, optativos en los de citogenética.



<https://youtu.be/p0T8kxvGTpw>

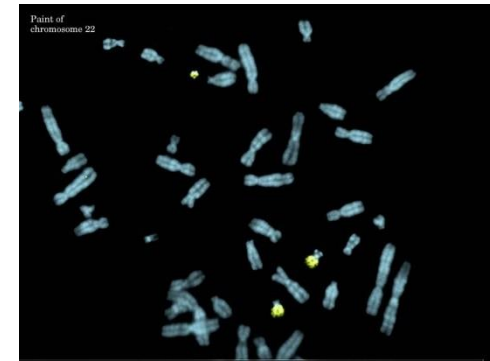
LABORATORIO DE CITOGENÉTICA Y CULTIVOS CELULARES

EQUIPAMIENTO ESPECÍFICO DEL LABORATORIO DE CITOGENÉTICA

➤ EQUIPO DE ANÁLISIS DE IMAGEN

Es básico para documentar y analizar metafases, con el fin de obtener un cariotipo.

- Microscopio óptico convencional de luz transmitida
- Cámara digital, para obtener imágenes para su posterior análisis.
- Software específico para análisis de metafases. Existen varios programas informáticos comerciales que analizan las metafases, cromosoma a cromosoma, permitiendo su reconocimiento con base en el patrón de bandas y su emparejamiento para obtener el cariotipo.



➤ MICROSCOPIO ÓPTICO CONVENCIONAL Y DE FLUORESCENCIA

- Microscopio distinto al de análisis de imagen.
- Se utiliza para recuentos de células, estudios de viabilidad y morfología celular, visualización de preparaciones de hibridación en situ...



LABORATORIO DE CITOGENÉTICA Y CULTIVOS CELULARES

EQUIPAMIENTO COMÚN DEL LABORATORIO DE CITOGENÉTICA Y CULTIVO CELULAR

➤ EQUIPO DE ESTERILIZACIÓN:

Es imprescindible la esterilidad de todo el material y de los reactivos que estén en contacto con los cultivos.

- Autoclave
- Sistema de filtración con filtros 0,22 µm para esterilizar soluciones

➤ SISTEMA DE PURIFICACIÓN DEL AGUA:

El agua utilizada para preparar reactivos y medios de cultivo tiene que ser ultrapura, estéril y libre de apirógenos.

➤ NEVERAS Y CONGELADORES

Un sistema de frío (-20°/-80°C) para conservar los distintos reactivos.

➤ OTROS EQUIPAMIENTOS:

Centrífugas, placas calefactoras, pHmetro, balanza, agitador magnético...

LABORATORIO DE CITOGENÉTICA Y CULTIVOS CELULARES

ESTRUCTURA DEL LABORATORIO CITOGENÉTICA Y CULTIVO CELULAR

SALA DE CULTIVOS

- **Sala limpia.**
- Se realizan todos los procedimientos relacionados con el cultivo celular.
- Sistema con aire filtrado y ligera presión positiva.
- Se situarán: *cabina de flujo laminar, incubadores y microscopio invertido.*

SALA DE LABORATORIO CONVENCIONAL

- **Sala sucia.**
- Procedimientos no relacionados con el cultivo celular: preparación de extensiones, tinciones, cariotipos...
- Puede tener área oscura para el microscopio.

LABORATORIO DE CITOGENÉTICA Y CULTIVOS CELULARES

ESTRUCTURA DEL LABORATORIO CITOGENÉTICA Y CULTIVO CELULAR

SALA DE FRIO

- Lo ideal es que esta sala sea una cámara frigorífica, para minimizar el consumo de nitrógeno líquido y alargar la vida de los congeladores.
- Debe de estar separada de la sala de cultivos, porque los congeladores generan bastantes turbulencias.



LABORATORIO DE CITOGENÉTICA Y CULTIVOS CELULARES

CONDICIONES DE TRABAJO: TÉCNICA ASÉPTICA

TÉCNICA ASÉPTICA QUE IMPIDA LA CONTAMINACIÓN POR MICROORGANISMOS

- Lavado frecuente de manos.
- Uso de guantes y batas desechables estériles.
- La puerta de la sala siempre debe estar cerrada.
- Uso exclusivo de material y reactivos estériles. El material desechable estéril no es intercambiable con el de otras salas.
- No introducir mecheros bunsen en las cabinas porque generan turbulencias que alteran el flujo laminar.
- Colocar en el interior de la cabina exclusivamente el material que se vaya a utilizar en la sesión de trabajo.
- No sacar el material estéril de su embalaje hasta el momento de uso, evitando tocar con el cualquier superficie.
- El material usado reutilizable de vidrio se puede colocar en un recipiente con hipoclorito al 10% hasta finalizar la sesión de trabajo. Después se lleva al laboratorio general para su limpieza y esterilización

LABORATORIO DE CITOGENÉTICA Y CULTIVOS CELULARES

CONDICIONES DE TRABAJO: TÉCNICA ASÉPTICA

TÉCNICA ASÉPTICA QUE IMPIDA LA CONTAMINACIÓN POR MICROORGANISMOS

- El material fungible utilizado en la cabina se deposita en contenedores adecuados para material contaminado, que se retiran al finalizar la sesión de trabajo.
- Restringir el acceso a la sala de cultivos exclusivamente al personal que esté realizando algún procedimiento. No se deben recibir visitas en esta sala.
- Limpieza de las cabinas de flujo laminar con etanol al 70% o desinfectante comercial apropiado para cabinas al finalizar cada sesión de trabajo.
- En las cabinas dotadas de lámpara germicida UV, esta se puede conectar después de la limpieza un máximo de 30 minutos.
- Realizar un mantenimiento programado de las cabinas (mínimo anual) que incluya comprobación del filtro HEPA.
- Limpieza y desinfección de superficies con etanol al 70% o desinfectantes apropiados.

SEGURIDAD E HIGIENE EN EL LABORATORIO

La seguridad en el trabajo recoge los procedimientos y técnicas destinadas a eliminar o disminuir el riesgo de que un trabajador sufra un accidente o enfermedad profesional.



El trabajo en un laboratorio clínico presenta una serie de **riesgos** que están relacionados principalmente con los **productos químicos** y/o **biológicos** utilizados, así como con el **material** y **aparataje** propios del tipo de laboratorio.

Por ello, la prevención de riesgos en un laboratorio y el conocimiento de las normas mínimas de seguridad e higiene son imprescindibles para minimizar la producción de accidentes que pueden tener consecuencias muy graves e incluso fatales para el trabajador.

SEGURIDAD E HIGIENE EN EL LABORATORIO

Existen unas precauciones generales mínimas sobre la prevención de riesgos en un laboratorio a tener en cuenta:

- Tener información sobre la peligrosidad de sustancias químicas y especímenes biológicos que se manipulen en el laboratorio.
- Adquirir buenas prácticas y hábitos de trabajo por parte del personal de laboratorio.
- Tener por parte del personal la cualificación laboral adecuada para el puesto de trabajo a desempeñar.
- Disponer del material de protección adecuado para las funciones que se van a desarrollar.
- Mantener los equipos de trabajo en un buen estado de funcionamiento con sus revisiones periódicas realizadas.
- Utilización por parte de los trabajadores de los medios de protección disponibles (¿Cómo se maneja un extintor?).



NORMATIVA LEGAL.NOTAS TÉCNICAS DE PREVENCIÓN

Las normas de seguridad e higiene en el laboratorio están recogidas en la **Ley de Prevención de Riesgos Laborales de 31/1995**, con sus posteriores modificaciones (La última en sept del 2022), como **RD 374/2001** sobre la protección de la salud y seguridad de los trabajadores (modificado en 2015).

NOTAS TÉCNICAS DE PREVENCIÓN (NTP):

Son documentos elaborados por los organismos oficiales competentes, con la finalidad de informar, actualizar, promocionar y difundir los temas relacionados con la seguridad y salud en el trabajo.



**Ley de Prevención de
Riesgos Laborales**

NORMATIVA LEGAL NOTAS TÉCNICAS DE PREVENCIÓN

Cada laboratorio debe recoger las normas de seguridad propias de su actividad en un **manual de seguridad** que estará a disposición de los trabajadores y que es de obligado cumplimiento.

ded
Deutscher
Entwicklungsdienst



MANUAL DE SEGURIDAD

- Consejos prácticos
- Medidas de prevención
- Comportamiento en situaciones críticas

- Las notas técnicas de prevención.
- Las fichas de seguridad de los productos químicos de riesgo.
- Las normas generales de higiene en un laboratorio.
- El uso de equipos de protección individual.
- Los elementos de protección a emplear en caso de emergencia.
- Las normas generales de seguridad en un laboratorio.
- Los sistemas de eliminación de residuos.
- Los primeros auxilios que se deben prestar a un accidentado.

PRODUCTOS DE RIESGO EN EL LABORATORIO

Casi todos los productos que se manejan en un laboratorio presentan algún tipo de riesgo, independientemente del tipo de laboratorio donde se desarrolle la actividad laboral.

Hay algunos productos que presentan riesgos especialmente peligrosos y que debemos conocer para evitar accidentes y lesiones que pueden afectar al trabajador.



O: COMBURENTE

Sustancia comburente (O): son aquellas que aumentan la combustión de sustancias inflamables.

Ejemplo: el fósforo de la cerilla

Sustancia tóxica: Producen trastornos de gravedad variable cuando entran en el organismo.

Ejemplo: acrilamida. Bromuro de etidio

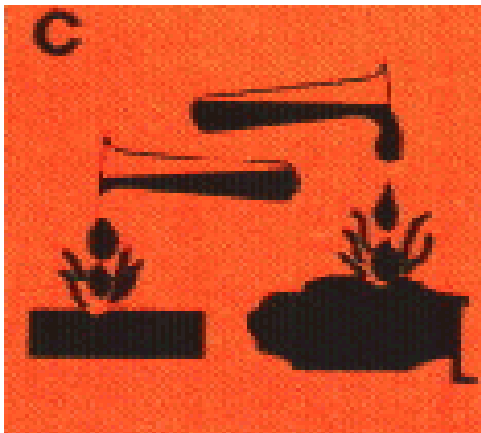


PRODUCTOS DE RIESGO EN EL LABORATORIO



Sustancias explosivas (E): explotan si son golpeados, si saltan chispas en sus proximidades o por calor excesivo.

Ejemplo: cartuchos de los fuegos artificiales.



Sustancias corrosivas (C): son capaces de destruir materiales diversos al entrar en contacto con ellos. Entre estos materiales se encuentran los tejidos de los seres vivos, ropas...

Ejemplo: ácido sulfúrico.

PRODUCTOS DE RIESGO EN EL LABORATORIO



Irritante
Irritant
Irritant

Xi

Sustancias irritantes (Xi): al entrar en contacto con los ojos, la piel y el aparato respiratorio producen lagrimeo, enrojecimiento e irritación en general. Los vapores de estas sustancias también son importantes.

Ejemplo: amoníaco.



Sustancias inflamables (F): sustancias que arden con mucha facilidad.

Ejemplo: gas butano y gas propano.

PRODUCTOS DE RIESGO EN EL LABORATORIO

Sustancias nocivas para el medio ambiente

(N): si se liberan sin control, producen daños en los ríos, el mar, la atmósfera.

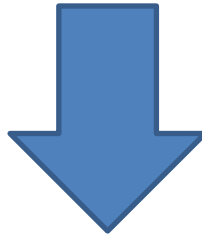
Ejemplo: vertidos de aceites y grasas domésticas por el fregadero.



Productos con riesgo biológico: proceden de animales o personas afectadas por enfermedades transmisibles.

Ejemplo: esputo de un enfermo tuberculoso, la sangre de un enfermo con sida o hepatitis B.

PRODUCTOS DE RIESGO EN EL LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR



Como ejemplos de sustancias peligrosas habituales en los laboratorios de biología molecular y citogenética se pueden mencionar los siguientes:

- **Inflamables:** alcoholes
- **Tóxicos y muy tóxicos:** acrilamida, bromuro de etidio, formamida
- **Carcinógenos:** acrilamida, formaldehido
- **Mutágenos:** acrilamida, bromuro de etidio
- **Teratógenos y/o perjudiciales para la fertilidad:** acrilamida, formamida, tetrametil urea

PRODUCTOS DE RIESGO EN EL LABORATORIO

La identificación de los productos químicos peligrosos se realiza con dos documentos :

- **ETIQUETAS DE SEGURIDAD**
- **FICHAS DE SEGURIDAD**

ETIQUETAS DE SEGURIDAD:

Es la primera información que recibe el trabajador del laboratorio y la cual permite identificar el producto en el momento de su uso.

La etiqueta debe aparecer obligatoriamente en los envases de todos los productos químicos de riesgo y está regulada en la Ley de Prevención de Riesgos Laborales.

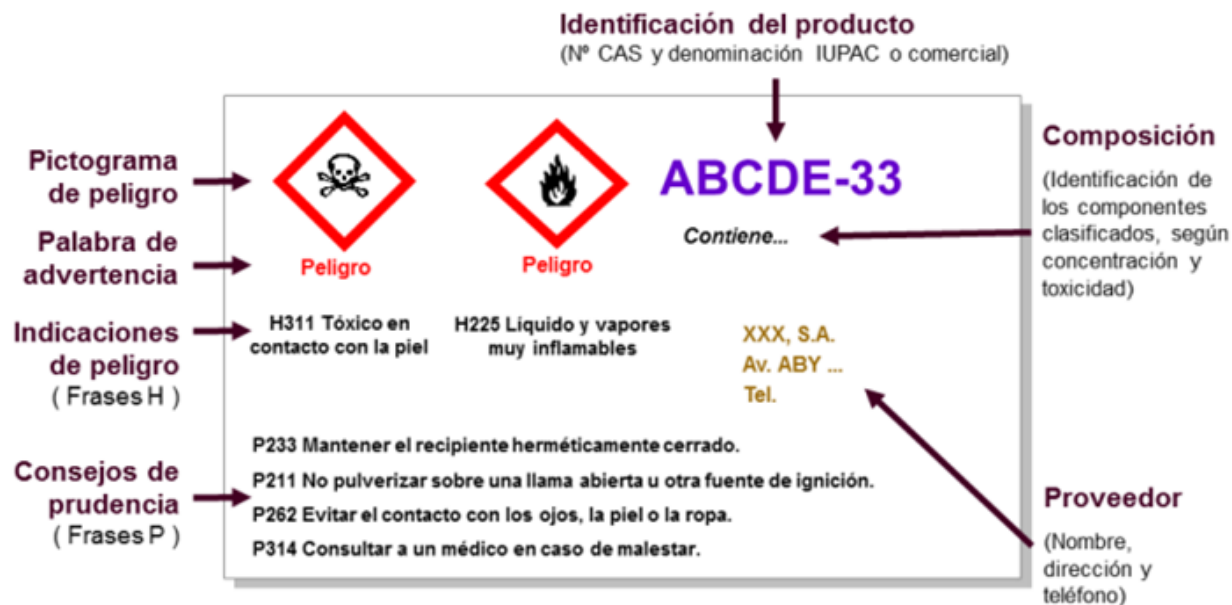
Toda etiqueta debe contener la siguiente información:

- **Nombre del producto químico.**
- **Nombre, dirección y teléfono del fabricante o distribuidor.**
- **Pictogramas según el tipo de sustancia peligrosa que contenga el envase.**
- **Frases H :** indican los **riesgos específicos** de las sustancias peligrosas.
- **Frases P :** indican los **consejos de precaución** y prudencia relativos al uso de sustancias peligrosas.

PRODUCTOS DE RIESGO EN EL LABORATORIO

ETIQUETA DE SEGURIDAD

Elementos de la etiqueta CLP/Nueva:



PRODUCTOS DE RIESGO EN EL LABORATORIO

FICHA DE SEGURIDAD

FICHA DE SEGURIDAD:

Contiene información detallada acerca de los riesgos que tiene ese producto en concreto.

Recoge hasta 16 epígrafes de **datos**, entre los que se encuentran:

- **Identificación del producto.**
- **Peligros que puede ocasionar su manipulación.**
- **Consejos sobre su manipulación y almacenamiento.**
- **Medidas de protección necesarias para su manipulación.**
- **Primeros auxilios que se deben prestar en caso de accidente.**
- **Informes de toxicología.**
- **Propiedades físico-químicas del producto.**

NORMAS GENERALES DE HIGIENE EN EL LABORATORIO

Las pautas higiénicas básicas de comportamiento para cualquier laboratorio son:

- Deben **lavarse las manos** al **entrar** y **salir** del laboratorio y siempre que se produzca algún contacto con productos químicos o biológicos.
- Deben utilizarse **jabón y toallas de un solo uso** para el lavado de manos. No es recomendable usar pastilla de jabón, sino jabón con dispensador.
- Debe emplearse **ropa y calzados adecuados**. La bata siempre se tiene que llevar abrochada y se debe renovar y limpiar de forma regular y siempre que sea necesario.
- Deben usarse **gafas de seguridad y guantes** si la peligrosidad de los productos a manejar lo requiere.
- El **cabello** debe llevarse siempre **bien recogido**.
- Está totalmente **prohibido ingerir alimentos o bebidas** en el laboratorio, así como fumar o masticar chicle, salvo en las zonas destinadas a ello.
- **No se debe pipetear con la boca**, sino usar los aspiradores o peras de seguridad.
- **No** se tienen que **tocar con la mano ni oler los productos químicos** utilizados.
- Se deben **retirar** de la mesa los **objetos personales**.
- **No** se den **guardar alimentos o bebidas en los refrigeradores destinados a productos químicos o reactivos**.

NORMAS GENERALES DE HIGIENE EN EL LABORATORIO

LAVADO DE MANOS

El lavado de manos es una costumbre obligada, sobre todo en prevención de riesgos biológicos.

El lavado de manos es esencial para la autoprotección y para evitar ser vehículo de transmisión.

¿Cuándo deben lavarse las manos?

- Siempre que se manchen con sangre, fluidos o cualquier tipo de sustancia.
- Después de quitarse los guantes.
- Antes de abandonar el laboratorio.
- Antes de comer, beber, fumar etc...
- Si usamos lentes de contacto, antes de cambiarlas.
- De forma periódica durante el trabajo.



EQUIPOS DE PROTECCIÓN EN EL LABORATORIO

Los **equipos de protección individual (EPI)** son los accesorios que el trabajador debe llevar para su protección frente a los riesgos de su puesto de trabajo.

El uso de estos equipos está regulado por el RD 733/95



EPIS

LA BATA

Es un elemento de protección individual destinado a proteger la ropa de las posibles salpicaduras de los productos químicos y/o biológicos que se manejan en el laboratorio y en la oficina de farmacia.

Se debe de llevar **siempre abrochada** y es conveniente que sea de **manga larga**.

EQUIPOS DE PROTECCIÓN EN EL LABORATORIO



LAS GAFAS:

Se usan para proteger los ojos del trabajador de las posibles salpicaduras con productos irritantes o cáusticos y también para protegerlo de posibles radiaciones nocivas.

Si el trabajador utiliza lentillas, se debe de tener en cuenta que en caso de accidente es difícil retirarlas de los ojos para lavarlos y pueden, además, retener partículas de polvo que pueden producir lesiones en el globo ocular.



LOS GANTES:

Los guantes se utilizan para la protección de la piel de las manos y evitar así que entren en contacto con productos irritantes, tóxicos o nocivos para el manipulador.

Es conveniente no llevar anillos con el uso de guantes, salvo que sean lisos y sin salientes.

Los guantes son de uso obligado en los laboratorios biosanitarios.

EQUIPOS DE PROTECCIÓN EN EL LABORATORIO

LAS MASCARILLAS:

Las mascarillas se usan para evitar la entrada de gases tóxicos o partículas al aparato respiratorio.

Constan de dos partes: filtro y adaptador facial.

El filtro es el componente que retiene los elementos nocivos y el adaptador permite un ajuste adecuado a cada usuario.



EQUIPOS DE PROTECCIÓN EN EL LABORATORIO

EQUIPOS DE PROTECCIÓN EN CASO DE EMERGENCIA

Estos sistemas son empleados para actuar rápidamente en situaciones de urgencia tras un accidente en el laboratorio.

FUENTES LAVA OJOS:

Son un sistema para descontaminar rápidamente los ojos y la cara.

Están formados por dos boquillas que proporcionan un chorro de agua a baja presión que se aplica en la base de la nariz para arrastrar el producto que se ha introducido en el ojo.

Su uso es fundamental si se producen salpicaduras de productos cáusticos a los ojos.



EQUIPOS DE PROTECCIÓN EN EL LABORATORIO

DUCHAS DE SEGURIDAD:

Es el sistema más habitual utilizado en la actualidad ante accidentes con quemaduras químicas y es recomendable que su funcionamiento vaya asociado a una alarma acústica, con el fin de alertar al resto del personal sobre la existencia de una emergencia.

El grifo de apertura nunca debe ser un grifo estándar, sino un dispositivo de muy fácil apertura, como una cadena o un tirador.

Es fundamental revisar las instalaciones periódicamente para asegurarnos de su adecuado funcionamiento en caso de necesidad.



EQUIPOS DE PROTECCIÓN EN EL LABORATORIO



MANTA IGNÍFUGA:

Se utiliza en casos de fuegos pequeños y cuando se prende la ropa



EXTINTORES:

Son dispositivos que contienen en su interior sustancias que al ser proyectadas sobre el fuego hacen que este se apague.

El tipo de sustancia que portan depende del tipo de fuego existente.

En los laboratorios los extintores que más se usan contienen CO_2 .

EQUIPOS DE PROTECCIÓN EN EL LABORATORIO

DERRAME EN EL LABORATORIO

NEUTRALIZACIÓN

Depende de las características químicas del producto derramado

ABSORCIÓN

El material absorbente que se use dependerá de la naturaleza del derrame. Algunos ejemplos son: serrín, carbón activo, absorbentes comerciales, celulosa...

ELIMINACIÓN

El residuo se utiliza en un envase adecuado y se elimina en el contenedor específico.

Durante la realización de estas actividades:

- Debe restringirse el acceso al laboratorio
- Las personas responsables de la recogida deben estar equipadas con los EPI adecuados al producto derramado.
- Se debe tener especial cuidado con derrames de líquidos inflamables y volátiles.

NORMAS GENERALES DE SEGURIDAD EN EL LABORATORIO

- Deben conocerse la toxicidad y los riesgos de los compuestos y productos con los que se trabaje.
- No se deben transportar tubos de ensayo o frascos con reactivos en los bolsillos de la bata. Para ello, se emplearán los soportes adecuados destinados a ello.



- Todos los productos biológicos deben ser tratados como si fueran infecciosos.
- No calentar directamente los recipientes de vidrio a la llama.
- Los frascos de reactivos se deben tapar inmediatamente después de su uso y los tapones deben colocarse en la mesa boca arriba.
- Al terminar una tarea, se deben recoger los materiales y reactivos empleados y colocarlos en sus lugares de almacenaje adecuados.

NORMAS GENERALES DE SEGURIDAD EN EL LABORATORIO



- Es de uso obligatorio las vitrinas o campanas extractoras cuando se manipulen productos ácidos, corrosivos, irritantes, tóxicos.
- En los procesos de mezclado de agua y sustancias ácidas, añadir siempre el ácido sobre el agua.

- Los transvases de líquidos de un recipiente a otro se deben hacer lentamente y usando un embudo.
- Si algún reactivo se derrama en la mesa, se debe retirar rápidamente de ella, neutralizándolo si es necesario con el producto adecuado.
- Se deben emplear centrífugas con tapa para evitar proyecciones y accidentes. No se debe intentar detener la centrífuga con la mano.
- La colocación de productos en el almacén debe seguir las normas de incompatibilidad

NORMAS GENERALES DE SEGURIDAD EN EL LABORATORIO

					
	+	-	-	-	+
	-	+	-	-	-
	-	-	+	-	+
	-	-	-	+	0
	+	-	+	0	+

+	Se pueden almacenar juntos
0	Solamente podrán almacenarse juntos, adoptando ciertas medidas
-	No deben almacenarse juntos

GESTIÓN DE RESIDUOS

LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y CITOGÉNICA



PLAN DE GESTIÓN DE RESIDUOS TÓXICOS Y PELIGROSOS



- Medidas para la recogida selectiva
- Clasificación de residuos
- Almacenamiento temporal....



Medidas para la gestión de:

- ✓ Residuos biosanitarios especiales
- ✓ Residuos químicos
- ✓ Residuos citotóxicos
- ✓ Residuos radioactivos

MARCO LEGAL RESIDUOS SANITARIOS EN GALICIA

En Galicia la legislación al respecto queda concretada en el Decreto 38/2015 del 26 de Febrero por el que se establece la normativa para la gestión de los residuos de los establecimientos sanitarios de la Comunidad Autónoma de Galicia.



OBJETIVO:

- ✓ *Regular*, dentro de la Comunidad Autónoma de Galicia, *la gestión* (separación, manipulación, transporte, almacenamiento y eliminación) *de los residuos procedentes de la actividad sanitaria* con el fin de prevenir los riesgos que dicha gestión genera, tanto para las personas directamente expuestas a ellos, como para la salud pública y el medio ambiente.
- ✓ *Reducir* en lo posible *la cantidad de residuos producidos en los centros sanitarios* que requieran un tratamiento especial.
- ✓ Adaptación a la *normativa vigente* en cada momento.

MARCO LEGAL RESIDUOS SANITARIOS EN GALICIA: DEFINICIONES

Residuos sanitarios: cualquier sustancia u objeto generados por las actividades sanitarias de los cuales se desprenda o tenga la intención u obligación de desprenderse su poseedor, en virtud de las disposiciones legales en vigor en esta materia.

Actividades sanitarias: las desarrolladas en hospitales, clínicas, consultas médicas, centros sociosanitarios, laboratorios de análisis clínicos, de salud pública y de investigación médica, centros de atención primaria y de planificación familiar, centros de salud y cualquier otro que tenga relación con la salud humana. Serán consideradas, asimismo, actividades sanitarias, las correspondientes a centros, servicios y establecimientos veterinarios asistenciales y centros de investigación animal.

Centro sanitario: establecimiento, de titularidad pública o privada, donde se realizan actividades sanitarias.

Gestión de residuos: conjunto de actividades encaminadas a dar a los residuos el destino final más adecuado de acuerdo con sus características. Comprende las operaciones de manipulación, segregación, recogida, envasado, almacenamiento, transporte, tratamiento y eliminación de los mismos.

Gestión intracentro: comprende las operaciones de gestión que se lleven a cabo *en el interior de los centros sanitarios*.

Gestión extracentro: comprende las operaciones de gestión que se lleven a cabo *en el exterior de los centros sanitarios* y especialmente las desarrolladas a partir de la recogida de los mismos, incluyendo el transporte, tratamiento y eliminación.

MARCO LEGAL RESIDUOS SANITARIOS EN GALICIA

Segregación: separación y clasificación de los residuos en función de criterios establecidos de acuerdo con su peligrosidad real.

Tratamiento: toda actividad que, a través de procesos químicos, físicos o biológicos, persigue la anulación de la toxicidad y demás características nocivas y peligrosas para la salud humana, recursos naturales y medio ambiente, contenidas potencialmente en los residuos generados por las actividades sanitarias.

Eliminación: toda actividad que suponga el confinamiento definitivo de los residuos.

Productor: el titular del centro de cuya actividad se derive la generación de residuos sanitarios. En el caso de centros públicos sanitarios gestionados por el Servicio Gallego de Salud se considera productor a este, u. identidad adscrita con personalidad jurídica propia.

Transportista: toda persona física o jurídica que efectúe operaciones de recogida y transporte exterior de residuos sanitarios desde los centros que los generan hasta una instalación de tratamiento o eliminación.

Residuo sanitario biocontaminado: residuo peligroso específico de la actividad sanitaria que, debido a su contaminación con agentes patógenos o por contener altas concentraciones de microorganismos, es de potencial riesgo para las personas que entren en contacto con ellos.

CLASIFICACIÓN RESIDUOS SANITARIOS GALICIA

RESIDUOS SANITARIOS NO PELIGROSOS:

CLASE I: Residuos domésticos. Son *residuos generados en los centros sanitarios similares a los producidos en los hogares.*

CLASE II: Residuos no domésticos. Son *residuos generados en los centros sanitarios diferentes de los producidos en los hogares.* Se incluyen en esta clase:

- ✓ **Clase IIa:** residuos específicos de la actividad sanitaria, que son los generados en los centros sanitarios, diferentes de los producidos en los hogares, como resultado de la actividad sanitaria propiamente dicha.
- ✓ **Clase IIb:** residuos no específicos de la actividad sanitaria, que son los generados en los centros sanitarios, diferentes de los producidos en los hogares, y que no son resultado de la actividad sanitaria propiamente dicha.

CLASIFICACIÓN RESIDUOS SANITARIOS GALICIA

RESIDUOS SANITARIOS PELIGROSOS:

CLASE III: Residuos sanitarios biocontaminados, son *residuos que requieren una gestión diferenciada tanto en el interior de los centros como en el exterior*, en todas las etapas de la gestión.

Se incluyen en esta clase:

- Residuos procedentes de la actividad sanitaria de ***pacientes afectados por patologías relacionadas en el anexo I*** del presente decreto.
- Residuos de ***cultivos o reservas de agentes infecciosos*** y material de desecho en contacto con ellos, incluyendo los ***filtros de alta eficacia de las campanas de flujo laminar***.
- Residuos de ***vacunas con agentes vivos o atenuados***.
- Residuos de ***animales de experimentación, cadáveres y restos anatómicos de animales infectados*** o inoculados con agentes infecciosos responsables de las patologías incluidas en el anexo I del presente decreto.

CLASE IV: : Residuos de *citotóxicos y citostáticos*, son residuos de citostáticos y citotóxicos y todo material utilizado en su preparación o en contacto con ellos.

CLASE V: *Otros residuos peligrosos*, son los residuos peligrosos generados en los centros sanitarios no incluidos en las clases III y IV.

ANEXO I

•Cualquier residuo de materiales, objetos o sustancias que estén en contacto con pacientes afectados de las siguientes enfermedades infecciosas:

Febres hemorrágicas víricas, tales como: Fiebre hemorrágica del Congo-Orimea; Fiebre de Lasa; Marbug; Ébola; Fiebre hemorrágica argentina (Junin); Fiebre hemorrágica boliviana (Machupo).

Complejo encefalítico transmitido por artrópodos vectores (arbovirus): Absettarow, Hanzalova, Hypr, Kumlinge, Kiasanur Forest Disease, fiebre hemorrágica de Omsk, Russian spring-summer encephalitis.

Herpes virus simiae (Monkey Bvirus); *Rabia: Carbunco* (Bacillus anthracis); *Muermo: Mieloidosis: Difteria: Tularemia: Viruela* (erradicada); *Creutzfeld-Jakob u otras producidas por priones*.

•Residuos contaminados con heces de pacientes afectados por las siguientes infecciones: Cólera; Disentería amebiana.

•Residuos contaminados con secreciones respiratorias de pacientes con las siguientes infecciones: Tuberculosis; Fiebre Q.

•Filtros de diálisis de máquinas reservadas a pacientes portadores de las siguientes infecciones de transmisión sanguínea: Hepatitis B; Hepatitis C; Virus de la inmunodeficiencia humana.

•Residuos de actividades de análisis o experimentación microbiológica, contaminados con agentes infecciosos o productos biológicos derivados, tales como:

– *Cultivos de agentes infecciosos y material de desecho en contacto con ellos:* placas de Petri, hemocultivos, extractos líquidos, caldos, instrumental contaminado, etcétera.

– *Reservas de agentes infecciosos.*

– *Vacunas vivas o atenuadas*, salvo materiales manchados de un solo uso.

•Residuos de cadáveres, partes del cuerpo y otros residuos anatómicos de animales de experimentación que sean inoculados con los agentes infecciosos responsables de las infecciones que se citan en los puntos 1, 2, 3 y 4, así como residuos procedentes de los lechos de estabulación de tales animales.

PROCEDIMIENTOS DE GESTIÓN DE RESIDUOS

GESTIÓN DE RESIDUOS SANITARIOS: es el conjunto de actividades por las que se da a los residuos sanitarios el final más adecuado, tanto dentro del centro sanitario (*gestión intracentro*) como fuera del mismo (*gestión extracentro*).

Esta gestión comprende las operaciones de:

- Segregación y recogida de los residuos.
- Almacenamiento.
- Transporte.
- Tratamiento.
- Recuperación y valorización cuando sea posible.
- Eliminación.



OBJETIVOS DE LA GESTIÓN:

1. **Minimizar** los residuos (Intentar que la cantidad de residuos generados sea la menor posible)
2. **Reciclar o reutilizar** cuando sea posible.
3. **Prevenir riesgos** (clasificar adecuadamente según su peligrosidad).
4. **Tratar solo los residuos infecciosos o tóxicos** (desinfectar, esterilizar, incinerar...)
5. **Disminuir costes** (menor tratamiento, menor necesidad de instalaciones)
6. **Aminorar la contaminación atmosférica.**

PROCEDIMIENTOS DE GESTIÓN DE RESIDUOS

- Los residuos sanitarios, debidamente separados y envasados, podrán almacenarse en lugares específicamente habilitados a este fin. *Queda prohibido depositar los residuos en otro lugar que no sean los almacenes habilitados para esta finalidad, así como el depósito de las bolsas a la intemperie.*
- Las condiciones del almacenamiento se ajustarán a lo establecido por la consellería competente en materia de medio ambiente.
- El transporte de los residuos en el interior de los centros sanitarios deberá responder a *criterios de rapidez, higiene, inocuidad y seguridad*, evitando o minimizando acciones o manipulaciones que puedan implicar cualquier tipo de riesgo para el personal encargado de su recogida y transporte interior, personas trabajadoras y usuarias.

PROCEDIMIENTOS DE GESTIÓN DE RESIDUOS

GESTIÓN DE LOS RESIDUOS DE LA CLASE I

Los residuos domésticos se separarán de manera selectiva y conforme a la normativa vigente en materia de residuos, y a lo establecido en los planes de residuos que sean de aplicación y en las ordenanzas municipales que correspondan.

GESTIÓN DE LOS RESIDUOS DE LA CLASE II

- Los residuos no domésticos se recogerán en envases o recipientes que faciliten su tratamiento y en condiciones que eviten los riesgos para la salud humana y el medio ambiente.
- Las bolsas de plástico destinadas a la recogida y almacenaje de residuos deberán ser opacas, impermeables y lo suficientemente resistentes como para, de una manera segura, contener la clase de residuo para la que fueron diseñadas.
- La gestión de los residuos de cortantes y punzantes de la clase IIa se realizará de igual modo que la de los residuos sanitarios de la clase III.

PROCEDIMIENTOS DE GESTIÓN DE RESIDUOS

GESTIÓN DE LOS RESIDUOS DE LA CLASE III Y IV

- Estos residuos se recogerán en *recipientes adecuados al tipo de residuos y al punto de producción*, y que cumplan las siguientes características:
 - *Rígidos y de libre sustentación.*
 - *Opacos, impermeables y resistentes a la humedad.*
 - *Resistentes a perforación interna o externa.*
 - *Provistos de cierre hermético.*
 - *Composición que garantice que en su destrucción se eviten o minimicen las emisiones tóxicas.*
- Solo podrán ser reutilizados los recipientes utilizados para contener residuos de la clase III, y después de someterse a un proceso de preparación para la reutilización que deberá ser autorizado de la manera prevista en el artículo 15.
- Los *recipientes y los contenedores utilizados en el almacenamiento y transporte intracentro se etiquetarán de acuerdo con lo establecido en la normativa general de residuos*. Se rotularán con los pictogramas de biorriesgo o citotóxico, o con ambos, y con sus textos asociados, cuando contengan residuos de estas clases, tales como los que aparecen en el anexo VI.
- Los *residuos cortantes y punzantes se depositarán en envases específicos* y dispondrán de dispositivos de seguridad que impidan su apertura.

ANEXO VI

Pictograma de citotóxico



PICTOGRAMA DE BIORRIESGO



PROCEDIMIENTOS DE GESTIÓN DE RESIDUOS

GESTIÓN DE LOS RESIDUOS DE LA CLASE V

El envasado, etiquetado y separación de estos residuos se hará según la legislación vigente para este tipo de residuos y, en concreto, según la Ley de residuos y suelos contaminados, y la Ley de residuos de Galicia.

