

UF1

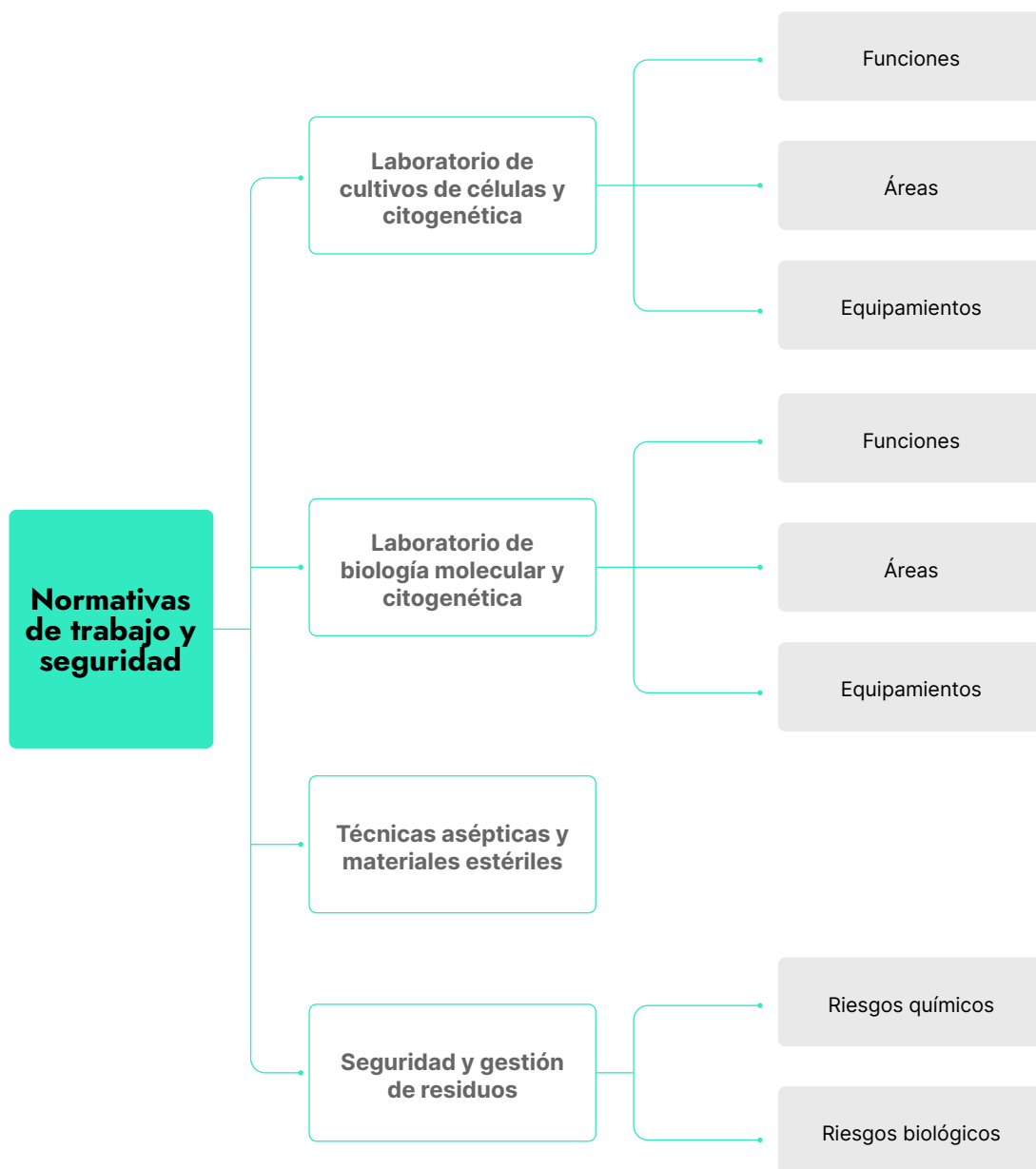
Normas de trabajo y seguridad

Biología molecular y citogenética

ÍNDICE

Mapa conceptual	03
1. Organización y funciones del laboratorio de citogenética y celular... 04	04
1.1. Funciones	04
1.2. Áreas.....	05
1.3. Equipamiento	06
A. Estufa de cultivos	06
B. Microscopio.....	06
C. Cabina de flujo laminar o cabina de seguridad	07
2. Organización y funciones del laboratorio de biología molecular 09	09
2.1. Funciones	10
2.2. Áreas	11
2.3. Equipamiento.....	11
A. Termociclador	11
B. Secuenciador	12
C. Equipo electroforético	12
D. Transiluminador	13
E. Sistemas automáticos de extracción.....	13
3. Técnica aséptica y manipulación del material estéril 15	15
3.1. Normas de manipulación	15
4. Seguridad y gestión de residuos..... 18	18
4.1. Seguridad en los laboratorios.....	18
A. Riesgos biológicos.....	18
B. Riesgos químicos	19
4.2. Gestión de residuos.....	19

Mapa conceptual



01 Organización y funciones del laboratorio de citogenética y celular

Cabe destacar que, en casi todos los centros de investigación, el laboratorio de **citogenética** se suele encontrar espacialmente separado del de **cultivos celulares** debido a que, en cada uno de ellos, las funciones son ligeramente diferentes.

El objetivo del laboratorio de citogenética es el estudio de cromosomas de organismos eucariotas, en fases **metafásicas**, atendiendo a las características morfológicas y moleculares. En cambio, el laboratorio de cultivos celulares se centra en la propagación y el mantenimiento de las células de organismos, mayoritariamente pluricelulares, mediante procedimientos **in vitro**.

Pese a esto, se explicarán de manera conjunta ambos laboratorios para facilitar la comprensión de estos.

DEFINICIÓN

La **citogenética** es el estudio de la estructura y función de los cromosomas eucarióticos, principalmente metafásicos, para determinar su implicación en el desarrollo de enfermedades.

1.1. Funciones

Las técnicas que se llevan a cabo en los laboratorios de citogenética buscan estudiar el **ADN genómico** del individuo cuando se encuentra en su mayor grado de compactación para observar **variaciones en el número de cromosomas** (la ausencia o presencia de más de un cromosoma) o **modificaciones estructurales** en cada cromosoma (pérdida o ganancia de una parte de este).

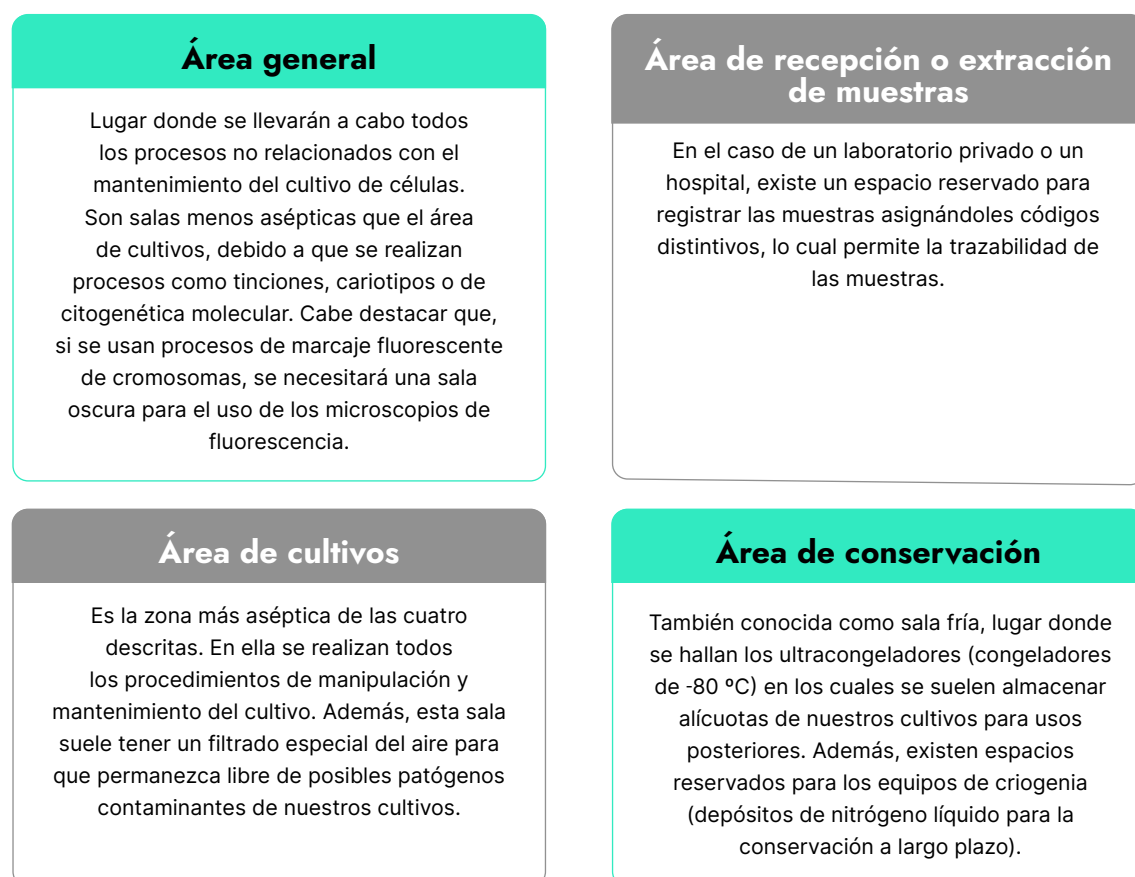
Por otro lado, las mutaciones que afectan a pequeñas regiones de los cromosomas y que, a diferencia de las anteriores, no son visibles con un **microscopio** óptico convencional, se analizan con técnicas de citogenética molecular.

Por ello, las funciones más destacables de un laboratorio de citogenética y cultivos celulares, las cuales se detallarán en las siguientes unidades didácticas, son:

- » Propagación celular y conservación de cultivos.
- » Recuento y viabilidad celular.
- » Tinciones, bandeo cromosómico y cariotipado.
- » Hibridación *in situ*.

1.2 Áreas

La organización de un laboratorio de citogenética y cultivos celulares viene condicionada por la **prevención de la contaminación**, y por ello se debe seguir siempre un flujo de trabajo que evite las contaminaciones. Normalmente, se suelen dividir en un área general y tres salas con ubicaciones separadas, respetando los procesos que requieren de condiciones asépticas y con presión positiva (salas **limpias**) o no asépticas y con presión negativa (salas **sucias**).



Esquema 1. Áreas de un laboratorio de citogenética y cultivo celular.

1.3. Equipamiento

La mayor parte de los equipos y materiales utilizados en citogenética y cultivos son los mismos que se pueden encontrar en un laboratorio convencional, pero existen algunos **equipos que son específicos** de estos dos laboratorios.

A. Estufa de cultivos

Este incubador de células proporciona las condiciones ambientales óptimas para el crecimiento de los cultivos. **Controla la temperatura** (normalmente, de 37 °C), **la humedad** (cercana al 95%) y la **concentración de CO₂** del interior (mantiene el pH del medio de cultivo).



Fig. 1. Estufa de cultivos.

B. Microscopio

Se suele utilizar un **microscopio óptico** con un ordenador acoplado que tiene un *software* específico para el análisis de cariotipos (conocido como cariotipador), un **microscopio invertido** para visualizar directamente las células en los frascos de cultivos (es decir, para controlar su correcto crecimiento) y, además, un **microscopio de fluorescencia** si se realizan técnicas de marcaje fluorescente. En el módulo *Técnicas generales de laboratorio* se verá con más detalle el uso y el fundamento de los microscopios.



Fig. 2. a) Microscopios ópticos. b) Microscopio invertido. c) Microscopio de fluorescencia.

C. Cabina de flujo laminar o cabina de seguridad

Equipo usado para las manipulaciones de los cultivos de células, como pueden ser **las siembras, los cambios de medio y los pases**. Su objetivo es proteger de una posible contaminación tanto al cultivo como al trabajador.



Fig. 3. Cabina de flujo laminar.

1

CASO PRÁCTICO

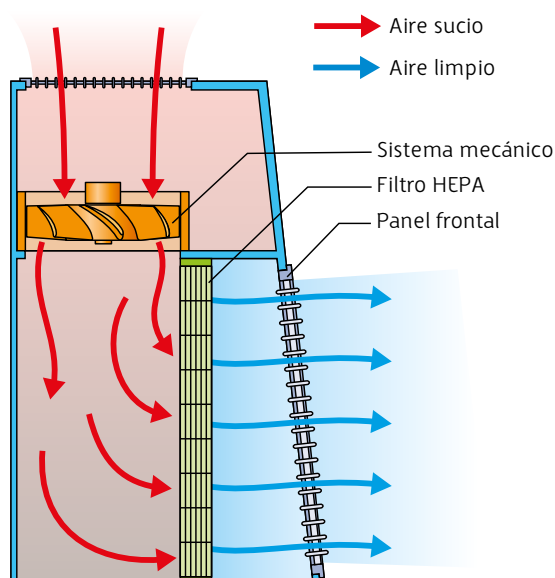


EQUIPAMIENTO DEL LABORATORIO DE CITOGÉNÉTICA

Buscar en Internet cuáles son las partes de una cabina de flujo laminar y define la función y las normas o recomendaciones de uso de cada una de ellas.

SOLUCIÓN

- Sistema mecánico. Se encarga de hacer circular el aire entrante, así como de su recirculación en el interior de la cabina.
- Filtro HEPA. Filtro de alta eficiencia que retiene micropartículas, para así limpiar el aire de posibles microorganismos o partículas contaminantes.
- Panel frontal. Mantiene la estabilidad del flujo a la vez que protege la muestra de posibles flujos de aire procedentes del exterior.



02 Organización y funciones del laboratorio de biología molecular

El **objetivo** del laboratorio de biología molecular es observar mutaciones de los ácidos nucleicos (ADN y ARN) y de las proteínas de los organismos bajo estudio. Se utilizan técnicas que desvelan las **interacciones** entre estas moléculas biológicas y que muestran el papel que desempeñan en la transmisión de la información genética.

IMPORTANTE

En este laboratorio se realizan **técnicas** como la electroforesis, la PCR (reacción en cadena de la polimerasa), la secuenciación, la clonación y la extracción-purificación de estas macromoléculas.

Hoy en día, la técnica por excelencia de los laboratorios de biología molecular es la **PCR** (sirve para amplificar los ácidos nucleicos). Pero, debido al aumento exponencial y a la disminución de precios de las técnicas de secuenciación, muchos diagnósticos o pronósticos de enfermedades se realizan mediante esta última. Para conocer más sobre las diferentes herramientas, estas se explican detalladamente en las siguientes unidades didácticas.

DEFINICIÓN

La **biología molecular** se ocupa de comprender las interacciones entre los diversos sistemas celulares, incluidas las conexiones y regulaciones entre el ADN (ácido desoxirribonucleico), el ARN (ácido ribonucleico) y la biosíntesis de proteínas. En este campo se superponen áreas de la biología y la química, como la genética o la bioquímica.

2.1. Funciones

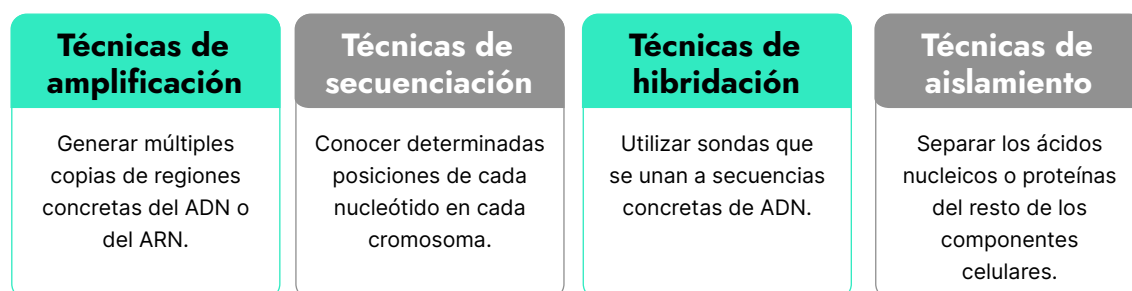
Las técnicas que se llevan a cabo en los laboratorios de biología molecular buscan descubrir las **mutaciones** que, a diferencia de las técnicas realizadas en los laboratorios de citogenética, pueden ser desde unos pocos nucleótidos hasta miles de ellos.

IMPORTANTE

Los **nucleótidos** son las unidades estructurales que forman los ácidos nucleicos y que ayudan a transmitir la información genética.

Debido a que todos los seres vivos, tanto organismos **pluricelulares** (animales, hongos, plantas y algunos protozoos) como organismos **unicelulares** (bacterias, arqueobacterias y algunos hongos y protozoos), albergan en el interior de sus células estos ácidos nucleicos, el estudio del ADN y el ARN permite analizar e identificar cualquier tipo de vida de nuestro planeta. Los **virus**, pese a no ser seres vivos, también tienen como material genético el ADN o el ARN.

Los estudios moleculares se llevan a cabo utilizando cuatro estrategias básicas:



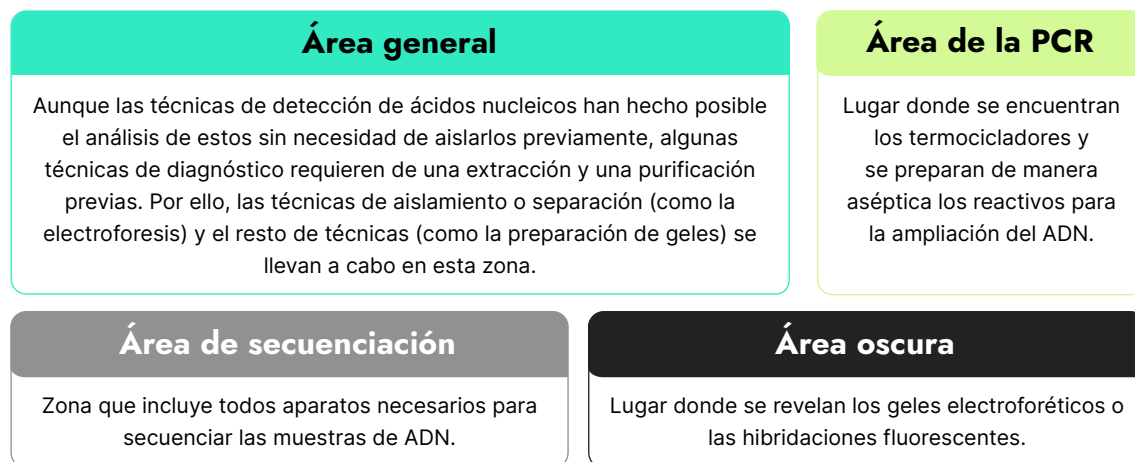
Esquema 2. Estrategias básicas empleadas en los estudios moleculares.

Por eso las funciones más destacables de un laboratorio de biología molecular, las cuales se detallarán en las siguientes unidades didácticas, son:

- » Diagnóstico y pronóstico de enfermedades mediante biomarcadores.
- » Estudios filogenéticos o evolutivos.
- » Estudios de expresión genética.
- » Modificaciones del material genético de los organismos (OMG, por sus siglas inglesas).
- » Análisis genéticos.

2.2. Áreas

En el laboratorio de biología molecular se pueden diferenciar las siguientes áreas o bancadas de trabajo:



Esquema 3. Áreas de un laboratorio de biología molecular.

Cabe destacar que no todos los laboratorios cuentan con estas cuatro salas y que depende de la especialización de cada centro de investigación.

2.3. Equipamiento

Al igual que en los laboratorios de citogenética, casi todos los equipos y materiales utilizados en biología molecular son los mismos que se pueden encontrar en un laboratorio convencional, pero existen algunos **equipos que son específicos** de este laboratorio.

A. Termociclador

Equipo donde se lleva a cabo la PCR. Permite programar ciclos repetitivos con diferentes temperaturas y tiempos, lo cual permite la correcta ampliación de fragmentos de ADN. Algunos, como los termocicladores a tiempo real, permiten observar en cada momento la ampliación. Este termociclador es el más utilizado en el diagnóstico del SARS-CoV-2 (que provoca la enfermedad de la COVID-19 en humanos).



Fig. 4. Termociclador convencional (izquierda) y NanoDrop (derecha).

B. Secuenciador

Aparato que permite conocer la secuencia de nucleótidos de una determinada región de ADN. Actualmente, existen múltiples tipos de secuenciadores basados en sistemas electroforéticos (primera generación), en sistemas de amplificación de cadenas cortas (segunda generación) o en sistemas de nanosensores (tercera generación). Todos ellos son ampliamente utilizados y cuentan con características específicas.



Fig. 5. Secuenciador de segunda generación.

C. Equipo electroforético

Herramienta usada para la separación específica por tamaño de ácidos nucleicos y proteínas atendiendo a la carga eléctrica de cada molécula. Esta separación se hace mediante la carga previa de las muestras en geles de agarosa (baja resolución) o geles de poliacrilamida (alta resolución).

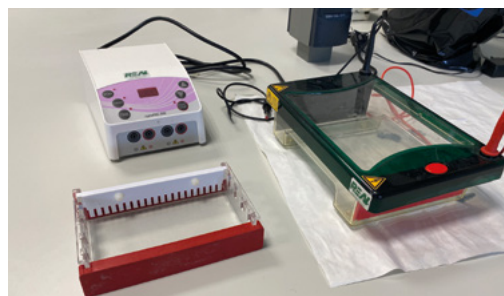


Fig. 6. Aparato de electroforesis.

D. Transiluminador

Equipo que permite revelar con luz ultravioleta la posición de las moléculas separadas previamente por electroforesis.

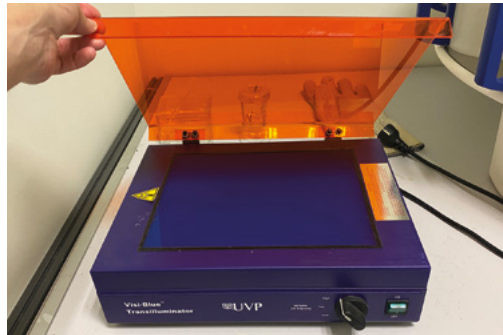


Fig. 7. Transiluminador.

E. Sistemas automáticos de extracción

Debido al alto uso y demanda de las técnicas moleculares y a la importancia de minimizar las contaminaciones producidas por los técnicos, los aparatos de extracción y purificación automática de ADN y ARN están incrementado su aparición en los laboratorios de biología molecular. Pero, debido a su elevado coste, algunos laboratorios todavía siguen realizando este proceso de manera manual.



Fig. 8. Equipo automático de extracción.

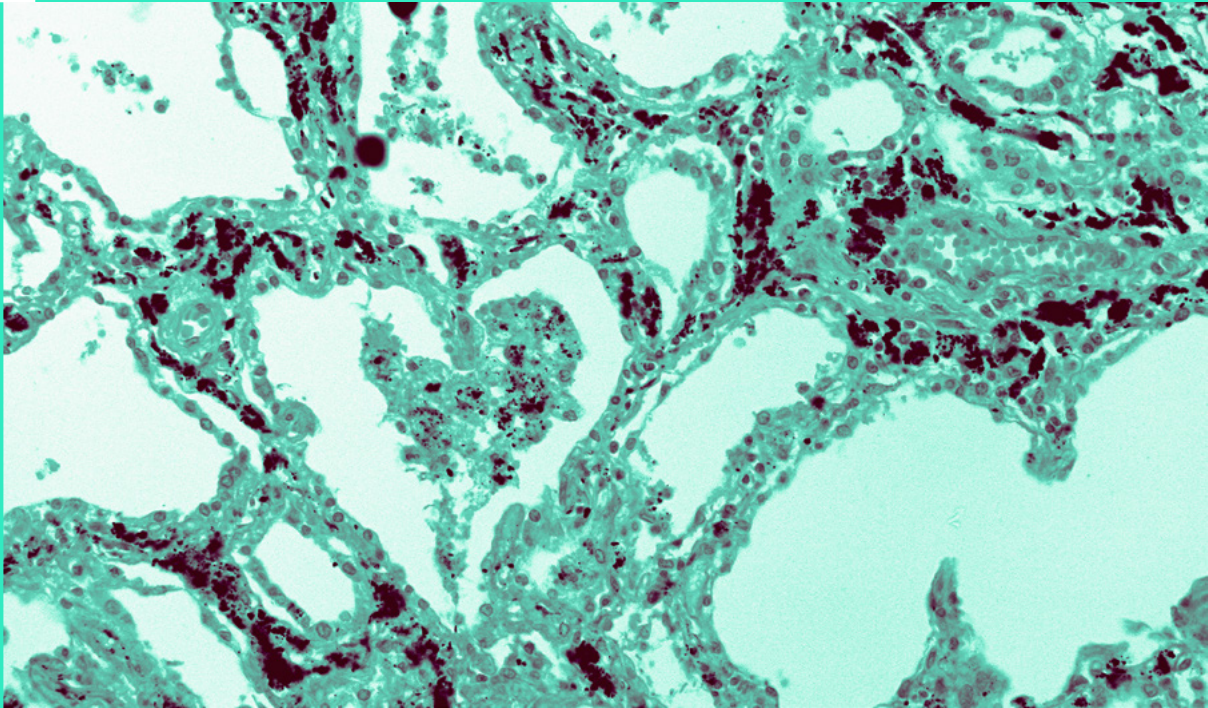


VÍDEOLAB

Para consultar el siguiente video sobre **Instrumentos esenciales del laboratorio de Biología Molecular**, escanea el código QR o [pulsa aquí](#).

2

CASO PRÁCTICO



DETECTANDO EL PATÓGENO

Trabajando como técnico en una empresa privada, un cliente con neumonía (desconoces si vírica o bacteriana) te pregunta si con técnicas de biología molecular podrías detectar el patógeno causante de su enfermedad.

Razona tu respuesta indicando las estrategias básicas que podrías utilizar.

SOLUCIÓN

Con los conceptos descritos en esta unidad, existen dos posibles respuestas:

1. Mediante una PCR (que se realiza en el termociclador) se puede determinar con precisión el agente causante de la enfermedad. Para ello, se amplifican varias secuencias específicas de virus y bacterias a partir de una muestra del paciente. Y después, se corren los productos de amplificación en un gel para revelar cuál es el agente causante de la enfermedad. Con termociclador a tiempo real, el proceso sería más rápido.
2. Se secuencian los ADN presentes en la muestra del paciente y se buscan en una base de datos, de virus y de bacterias, qué secuencias tienen relación con la sintomatología de la neumonía.

Técnica aséptica

03 y manipulación del material estéril

Como cabría esperar, cualquier operación realizada en los laboratorios de citogenética o de biología molecular se debe llevar a cabo en **condiciones asépticas**. Es sabido que convivimos con multitud de microorganismos que habitan en todas las superficies de nuestro alrededor y cuya presencia accidental en las muestras puede alterar los resultados.

DEFINICIÓN

La asepsia es la ausencia completa de microorganismos o el estado libre de infección. Las técnicas asépticas buscan disminuir la posibilidad de contaminación en los procedimientos rutinarios del laboratorio.

Por ello, en los análisis moleculares o citogenéticos se intentan reducir al máximo las fuentes de contaminación utilizando materiales estériles y manipulando con cuidado los **reactivos** necesarios para los análisis correspondientes.

3.1. Normas de manipulación

A continuación, se detallarán los **hábitos más comunes** para preservar las condiciones de esterilidad en los laboratorios de citogenética y biología molecular.

En los **laboratorios de cultivos celulares**, es muy fácil introducir por accidente microorganismos, como bacterias o virus, dentro de los frascos de crecimiento de nuestras células, lo que provoca, en un último estadio, la muerte de estas. Por eso siempre se debe trabajar dentro de las **cabinas de flujo laminar** y seguir un conjunto de normas como las que se detallan y que tienen como objetivo prevenir la contaminación.

1. Uso de guantes y batas estériles, y lavado de manos y antebrazos con agentes desinfectantes.

- 2.** Limpieza de las superficies de trabajo y del material necesario con etanol al 70%.
- 3.** Uso de materiales y reactivos esterilizados de fábrica o autoclavados previamente.
- 4.** Antes de empezar la técnica, colocar todos los materiales con su envoltorio dentro de la cabina de flujo. No quitar el envoltorio hasta su uso.
- 5.** Evitar la presencia de personal que no realice ningún procedimiento.
- 6.** Al finalizar, desechar cada material en su contenedor específico y dejar la zona de trabajo con la luz ultravioleta durante un periodo de tiempo (radiación germicida).

Por otro lado, en el **laboratorio de biología molecular** las contaminaciones pueden deberse a la introducción de **ácidos nucleicos exógenos** o de **enzimas** que degradan el ADN o ARN (conocidas como nucleasas). Cualquier presencia de ambos tipos de contaminantes puede provocar resultados erróneos o no interpretables.

IMPORTANTE

Las contaminaciones más comunes las producen:

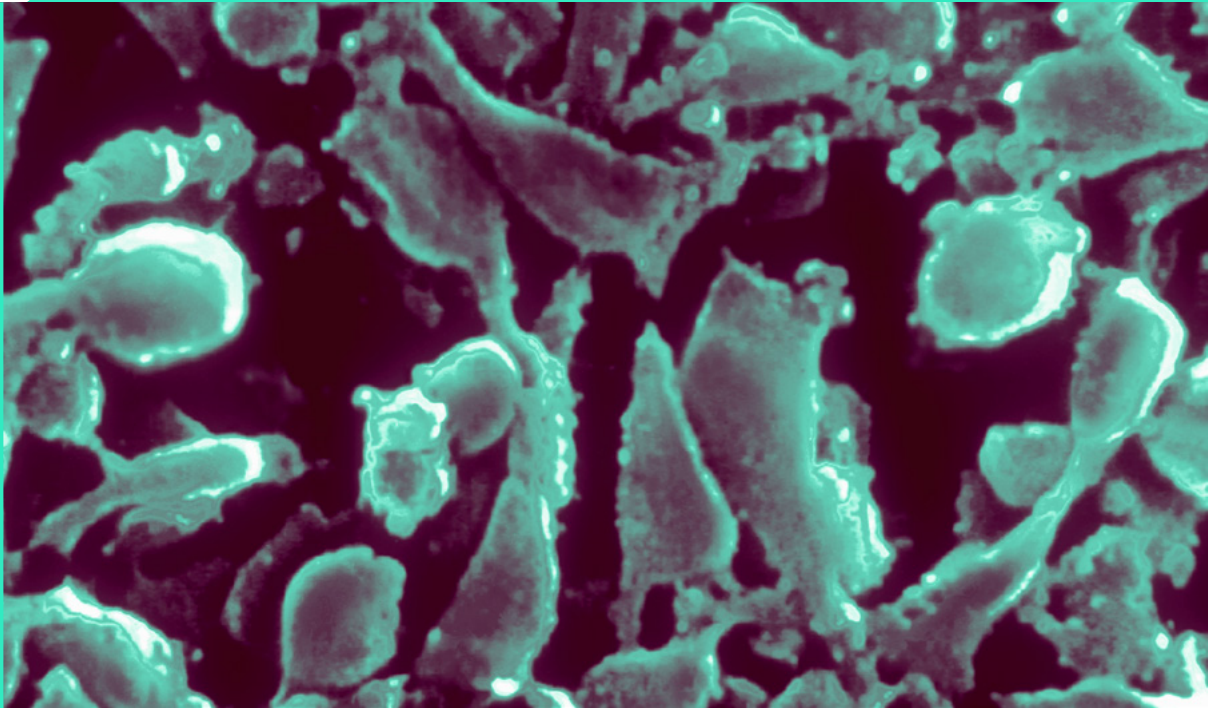
- » Materiales o reactivos contaminados por microorganismos.
- » Contaminantes de las superficies de trabajo.
- » Material genético del propio técnico.
- » Contaminación por *carry-over* (introducción de productos de ampliaciones previas).

Para evitar las contaminaciones descritas anteriormente, se citan normas básicas de los laboratorios de biología molecular.

- 1.** Uso de guantes y batas estériles.
- 2.** Limpieza de superficies con etanol al 70%, hipoclorito sódico o descontaminantes comerciales.
- 3.** Uso de puntas con filtro y de materiales libres de nucleasas.
- 4.** Evitar *carry-over*, para lo cual no se utilizarán los mismos materiales en diferentes muestras o técnicas.

3

CASO PRÁCTICO



CONTAMINACIÓN DE LAS CÉLULAS

Una compañera de trabajo ha estado realizando varios cultivos durante semanas y te has fijado en que no ha seguido las normas básicas. Por ello, coges un frasco de células y lo analizas en el microscopio invertido, donde observas que el cultivo está contaminado por micoplasmas (bacterias sin pared celular).

¿Qué errores piensas que ha podido realizar tu compañera y qué estrategias básicas podrías utilizar para revertir el problema?

SOLUCIÓN

- Los errores más frecuentes son: no desinfectar las superficies de trabajo con etanol, no realizar una buena técnica de lavado de manos previa a la técnica, uso de material no esterilizado o contaminación por otros cultivos o incluso del propio medio.
- Las estrategias serían: añadir o aumentar la concentración de un antibiótico específico al medio con las células y, en el caso de que no surta efecto, se deberá eliminar ese cultivo y descongelar un pase nuevo si se tuvieran alícuotas de pases previos.

04 Seguridad y gestión de residuos

IMPORTANTE

La **seguridad** trata de evitar que los **riesgos físicos, químicos y biológicos** puedan dañar al técnico o afecten al medio exterior por la liberación de agentes nocivos. En cambio, los **planes de gestión de residuos** incluyen la **recogida selectiva y el almacenamiento** de contaminantes hasta su eliminación por parte de la empresa oportuna.

Todos los procesos realizados en las áreas de trabajo se rigen según los **protocolos normalizados de trabajo o PNT**, documentos que describen con precisión la manera de proceder en los laboratorios para que cualquier técnico desarrolle su función acorde a los criterios de seguridad y calidad establecidos por la normativa vigente.

Además, todo el personal de laboratorio debe tener acceso directo a **los manuales de seguridad** para tratar de minimizar los riesgos ante cualquier situación. Suelen existir copias impresas de estos en una de las salas de los laboratorios.

4.1. Seguridad en los laboratorios

Los laboratorios de citogenética y biología molecular hacen uso de múltiples reactivos y agentes biológicos susceptibles de causar daño durante su manipulación. Por eso los riesgos **biológicos** y **químicos** presentan mayor relevancia que los riesgos físicos.

A. Riesgos biológicos

DEFINICIÓN

Los **riesgos biológicos** son aquellos susceptibles de originar cualquier tipo de infección, toxicidad o alergia, a través de la exposición accidental de toda entidad biológica (virus, bacterias, hongos y protozoos) capaz de reproducirse o de transferir su material genético.

Estos agentes se clasifican, en función del riesgo de infección, en cuatro grupos:



Esquema 4. Clasificación de los agentes biológicos.

B. Riesgos químicos

DEFINICIÓN

Los **riesgos químicos** son elementos o compuestos químicos que presentan un riesgo para la salud de los trabajadores, debido a sus propiedades fisicoquímicas o toxicológicas.

Estas sustancias con peligro químico, que se suelen encontrar en los laboratorios de citogenética y biología molecular, se clasifican en varios grupos atendiendo a su naturaleza.

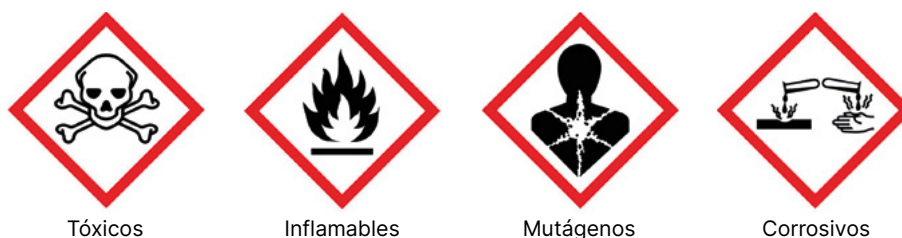


Fig. 9. Tipos de riesgos químicos.

4.2. Gestión de residuos

Los laboratorios de citogenética y biología molecular generan gran variedad de residuos (**biosanitarios, químicos, citotóxicos y radioactivos**) con **alta peligrosidad y escaso volumen** que hacen que deban almacenarse previamente en las propias instalaciones bajo unas condiciones mínimas de seguridad.

Toda adecuada gestión de los contaminantes requiere de una aplicación estricta de los criterios de calidad y seguridad reflejada en los PNT. Por ello, cualquier plan de gestión debe abarcar las siguientes características:

Identificación	Todos los contenedores deben estar identificados para su correcto uso. Además, los residuos deben clasificarse en función de su peligrosidad.
Almacenamiento	Los residuos, dependiendo su naturaleza, deben depositarse en los diferentes contenedores. Se suelen usar códigos de colores para facilitar el trabajo del técnico. Ejemplo de ello son residuos líquidos como colorantes de tinciones que deben almacenarse en garrafas para ácidos o bases fuertes, dependiendo de su naturaleza.
Transporte y eliminación	Se debe depositar en recipientes etiquetados adecuadamente.
Protocolo frente a accidentes	Todos los trabajadores deben conocer cómo actuar ante vertidos o derrames y qué hacer en caso de emergencia.

Esquema 5. Características de un plan de gestión de residuos.

Por último, se muestran los recipientes más habituales en los laboratorios de biología molecular y citogenética.

Tipo de residuo	Residuos biosanitarios y residuos citotóxicos.	Residuos biosanitarios y biológicos.	Residuos líquidos.
Color del recipiente	Amarillo.	Negro.	Garrafas para soluciones acuosas u orgánicas.
Imagen			

Tabla 1. Recipientes más habituales en función del tipo de residuo que contienen.

4

CASO PRÁCTICO



RIESGOS QUÍMICOS

A partir de los siguientes pictogramas, debes nombrarlos según el riesgo químico que representan. Si alguno no aparece reflejado en el temario, deberás usar las herramientas web de que dispongas.



SOLUCIÓN



GHS01 - Explosivo



GHS02 - Inflamable



GSH03 - Oxidante



GSH04 - Gas presurizado



GHS05 - Corrosivo



GHS06 - Tóxico



GHS07 - Tóxico,
irritante, narcótico,
peligroso



GHS08 - Peligroso para
el cuerpo, mutágeno,
carcinógeno, reprotóxico



GHS09 -
Dañino para el
medio ambiente

X T A R T
FP SALUD