

ADN RECOMBINANTE PROGRAMA DE SEGURIDAD

1.0 Introducción

Toda investigación que involucre ADN recombinante debe cumplir estas directivas. Toda persona que reciba subsidios para investigaciones que involucren ADN recombinante debe estar asociado o pertenecer a una institución que pueda y asuma las responsabilidades asignadas en estas directivas.

La conducta segura de experimentos involucrando ADN recombinante depende del investigador que conduzca tales actividades. Esta guía no puede anticipar todas las situaciones posibles, pero intenta asistir a la Institución, al Sub-Comité de Seguridad de ADN Recombinante del Comité de Seguridad, al Servicio de Higiene y Seguridad y al Investigador Responsable para determinar las acciones que deben implementarse.

El propósito de estas directivas es especificar las prácticas para la construcción y manipulación de

- Moléculas de ADN recombinante
- Organismos y virus conteniendo ADN recombinante

Definiendo ADN recombinante como:

- Las moléculas que se construyen fuera de las células vivientes juntando segmentos de ADN sintético o natural y que pueden replicarse en una célula viviente.
- Las moléculas que resultan de la replicación de las arriba descritas.

Los segmentos de ADN sintético que pudieran producir un polinucleótido o polipéptido nocivo (por ejemplo, una toxina o un agente farmacológicamente activo) se consideran equivalentes a su ADN homólogo natural. Si el segmento de ADN sintético no se expresa in vivo como un producto polipeptídico o un polinucleótido biológicamente activo estará exceptuado de estas directivas. El ADN genómico de plantas y bacterias que han adquirido un trasposón, aun si este último fue donado desde un vector recombinante ya no presente, no estarán sujetos a estas directivas a menos que el trasposón mismo contenga ADN recombinante.

2.0 Responsabilidades

Las responsabilidades generales relacionadas a la salud y seguridad en la Facultad están descritas en el Programa de Seguridad Biológica y Química en los Laboratorios, el cual ha sido aprobado por el Decano, y distribuido a los Directores de Departamento, Directores de Centros e Investigadores Responsables.

En esta sección se describen tales responsabilidades.

2.1 Decano de la Facultad

El Decano de la Facultad, por recomendación del Secretario a cargo del área de Higiene y Seguridad, fija el Programa de Seguridad para el manejo de ADN Recombinante.

2.2 Servicio de Higiene y Seguridad.

El Servicio de Higiene y Seguridad (SHyS) es el responsable de coordinar el Programa de Seguridad para el manejo de ADN Recombinante en la Facultad.

2.3 SubComité de Seguridad para el ADN Recombinante (SCSAR)

El SCSAR establece e implementa políticas que proveen conductas seguras para la investigación con ADN recombinante. El SCSAR está constituido por al menos 3 miembros quienes colectivamente deben tener experiencia y pericia en la tecnología del ADN recombinante y poseer la capacidad de establecer la seguridad de las investigaciones con ADN recombinante o identificar cualquier riesgo potencial a la salud pública o al ambiente. Al menos uno de los miembros no debe tener relación laboral con la Facultad y representar el interés de la comunidad con respecto a la salud y a la protección del medio ambiente.

El SCSAR es responsable de revisar las investigaciones con ADN recombinante realizadas en la Facultad. El SubComité autoriza la realización de aquellos proyectos de investigación que estén de acuerdo con las directivas de bioseguridad de la Facultad. Estas revisiones deben incluir:

- Una evaluación independiente de los niveles de contención requeridos por las directivas de la Facultad para la investigación propuesta.
- Evaluación de las facilidades o instalaciones, procedimientos, prácticas y entrenamiento y pericia del personal involucrado en la investigación con ADN recombinante.
- Notificación al Investigador Responsable de los resultados de la revisión del Comité.
- Revisión de la investigación con ADN recombinante realizada en la Facultad, para asegurar que se ajuste a las directivas de la misma.
- Adopción de planes de emergencia para cubrir salpicaduras accidentales y contaminación personal resultante de la investigación con ADN recombinante.
- Establecer subcomités o Comités *ad hoc* cuando sea necesario para llevar a cabo sus responsabilidades totales.

2.4 Responsable del Servicio de Higiene y Seguridad

Las obligaciones del Responsable del Servicio de Higiene y Seguridad incluyen, pero no están limitadas a:

- Realizar inspecciones periódicas para asegurar que los estándares de laboratorio sean seguidos rigurosamente (Nota: los laboratorios son periódicamente inspeccionados como parte del Programa de Seguridad).
- Reportar al SCSAR, a Medicina Laboral y a la Facultad cualquier problema significativo, violaciones a las directivas de la Facultad y enfermedades o accidentes significativos relacionados a la investigación.
- Desarrollar planes de emergencia para el manipuleo de salpicaduras accidentales y contaminaciones personales y accidentes en el laboratorio de investigación, involucrando investigaciones con ADN recombinante.

- Aconsejar y advertir sobre las medidas de Seguridad que deben implementarse en el laboratorio.
- Proveer asistencia técnica a los Investigadores Responsables y al SCSAR sobre procedimientos seguros.

2.5 Investigador Responsable

El Investigador Responsable es responsable de todas las conformidades con las directivas de la Facultad en la conducta del personal que trabaja con ADN recombinante. Como parte de esta responsabilidad, el Investigador Responsable debe:

- Hacer una determinación inicial de los niveles requeridos de la contención física biológica y radiológica de acuerdo con las directivas normativas de la Facultad.
- Seleccionar las prácticas microbiológica y las técnicas de laboratorio apropiadas a ser usadas por el investigador.
- Suministrar el protocolo de investigación inicial y los cambios subsecuentes (por ejemplo, cambios en la fuente de ADN o sistema vector-huésped), al SCSAR para su revisión y aprobación o desaprobación.
- Permanecer en comunicación con el CSAR a todo lo largo de la duración del proyecto.
- Hacer conocer, a todo el plantel del laboratorio, los protocolos que describen el biorriesgo potencial y las precauciones que deben tomarse.
- Instruir y entrenar al plantel del laboratorio en las prácticas y técnicas requeridas para asegurar la seguridad y los procedimientos para tratar los accidentes.
- Supervisar el desempeño de seguridad del plantel del laboratorio para asegurar que se empleen las técnicas y prácticas seguras requeridas.
- Investigar y reportar cualquier problema significativo pertinente a la operación e implementación de prácticas y procedimientos escritos al Servicio de Higiene y Seguridad, al SCSAR u otra autoridad competente.
- Corregir errores de trabajo y condiciones que puedan resultar en la liberación de ADN recombinante.
- Asegurar la integridad de los contenedores físicos (por ejemplo, cabinas de seguridad biológica) y biológicos (por ejemplo, la pureza y características genotípicas y fenotípicas).
- Iniciar o modificar investigaciones con ADN no recombinante, las cuales requieren aprobación por el SCSAR antes de su iniciación, hasta que la investigación o modificación propuesta haya sido aprobada por el mismo y haya cumplido con todos los requerimientos de la reglamentación.
- Determinar si todos los experimentos están cubiertos por la Sección E de la reglamentación de la Facultad (ver punto 3.1) y asegurar que se sigan los procedimientos apropiados, en todos los laboratorios en que se trabaje con ADN recombinante.

- Reportar cualquier problema significativo, violaciones a la reglamentación vigente, o cualquier enfermedad o accidente significativo relacionado con la investigación, al Servicio de Higiene y Seguridad, al SCSAR u otra autoridad competente, dentro de los 30 días.
- Reportar cualquier nueva información respecto de las directivas de la Facultad al SCSAR.
- Estar adecuadamente entrenado en buenas técnicas microbiológicas.
- Adherir a los planes de emergencias aprobados por el SCSAR, para el manipuleo de salpicaduras y contaminación personal.
- Cumplir con los procedimientos de transporte de moléculas de ADN recombinante.

3.0 Aprobación de los Procedimientos

La siguiente serie de políticas se aplican a todas las investigaciones con ADN recombinante, sin mirar la fuente financiera.

3.1 Documento de registro

Los Investigadores Responsables que deseen usar moléculas de ADN recombinante deben notificarlo al SCSAR, contactándose con el Servicio de Higiene y Seguridad para la información y el registro. El Investigador Responsable deberá completar el Formulario de Inscripción para Trabajar con ADN Recombinante de acuerdo a la naturaleza de las investigaciones. Una copia de las directivas en curso están disponibles en www.hys.fcen.uba.ar. Todo trabajo que se realice con ADN recombinante cae en una de las 6 categorías A, B, C, D, E y F que se listan a continuación. Si un experimento cae en las categorías A, B o C y otra cualquiera se deberán seguir las reglas apropiadas para la categoría A, B o C.

- **Categoría A:** Experimentos Mayores, como por ejemplo la transferencia deliberada de una cualidad resistente a drogas a un microorganismo que no se conozca que adquiere esa cualidad en forma natural si la adquisición de la misma puede comprometer el uso de la droga para controlar enfermedades en humanos, medicina veterinaria o agricultura.
- **Categoría B:** Experimentos que involucran la clonación de moléculas con LD₅₀ menores a de 100 ngrs/Kg de peso corporal (La dosis letal 50 se define como la dosis administrada a animales de experimentación que mata al 50% de los mismos en un dado lapso de tiempo). Por ejemplo la formación deliberada de ADN recombinante que contenga genes para la biosíntesis de una molécula tóxica letal (ej. Toxina de botulismo, tétanos, difteria, neurotoxina de *Shigella dysenteriae*) para vertebrados con LD50 de menos de 100ngrs/Kg de peso corporal
- **Categoría C:** Experimentos que involucran la transferencia deliberada de ADN recombinante o ADN o ARN de ADN recombinante en uno o mas receptores humanos (transferencia de genes humanos).
- **Categoría D1:** Experimentos que involucran el uso de agentes de Riesgo 2 (requieren nivel de seguridad BL2), Riesgo 3 (requieren nivel de seguridad BL3), Riesgo 4 (requieren nivel de seguridad BL4) o agentes restringidos como sistema vector-huésped.
- **Categoría D2:** Experimentos en los que ADN de agentes de Riesgo 2 (requieren nivel de seguridad BL2), Riesgo 3 (requieren nivel de seguridad BL3), Riesgo 4 (requieren nivel de seguridad BL4) o agentes restringidos es clonado en un sistema vector-huésped formado por procariótidos nanopatogénicos o eucariótidos menores.

- **Categoría D3:** Experimentos que involucran el uso de ADN o ARN de virus infecciosos o defectuosos en presencia de un virus auxiliar en sistemas de cultivos celulares.
- **Categoría D4:** Experimentos que involucran animales completos en los que el genoma del animal ha sido alterado por introducción estable de ADN recombinante o ADN derivado, en la línea germinal (animales transgénicos) y experimentos que involucran microorganismos modificados por ADN recombinante testeados en animales completos.
- **Categoría D5:** Experimentos que involucran plantas completas en los que las plantas han sido modificadas por ingeniería genética por métodos de ADN recombinante y esas plantas son usadas para otros propósitos experimentales, para propagar dichas plantas o para usar esas plantas en conjunto con microorganismos o insectos que contienen ADN recombinante.
- **Categoría D6:** Experimentos que involucran mas de 10 litros de cultivo.
- **Categoría E:** Los experimentos no clasificados en las categorías A, B, C, D o F y que se realizan con niveles de bioseguridad 1 son considerados en la categoría E.
- **Categoría F:** Experimentos exentos. Las siguientes moléculas de ADN recombinantes están exentas de los controles de registro:
 - F1: Aquellas que no están en organismos o virus.
 - F2: Aquellas que consisten completamente de segmentos de ADN de una fuente única de ADN no-cromosómica o viral, sin importar que uno o más de los segmentos sea un sintético equivalente.
 - F3: Aquellas que consisten completamente de segmentos de ADN de un huésped procariótico incluyendo sus “indigenous plasmids”o virus cuando se propagan sólo en el huésped original (o una cadena relacionada cercana de la misma especie), o cuando es transferido a otro huésped por medios fisiológicos bien establecidos.
 - F4: Aquellas que consisten completamente de segmentos de ADN de un huésped eucariótico incluyendo sus cloroplastos, mitocondria o “plasmids” (pero exceptuando virus) cuando se propagan sólo en ese huésped (o una cadena relacionada cercana de la misma especie).
 - F5: Aquellas que consisten completamente de segmentos de ADN de diferentes especies que intercambian ADN por procesos fisiológicos conocidos, sin importar que uno o más de los segmentos sea un sintético equivalente.
 - F6: Aquellos que no presentan un riesgo significativo para la salud o el ambiente.

3.2 Informe

Se requiere que los Investigadores Responsables llenen un Informe de todas las investigaciones con ADN recombinante. Además, los Investigadores Responsables deben llenar uno nuevo o corregir el documento de Registro cuando haya cambios en sus protocolos de investigación que difieran significativamente de los previamente presentados y aprobados por el SCSAR.

3.3 Entrenamiento

Los Investigadores Responsables que realizan experimentos con ADN recombinante bajo las directivas de esta Facultad deben llenar un formulario donde declaren la experiencia y entrenamiento de todos los Investigadores Activos, con él incluido.

3.3 Cambios en la investigación aprobada

Los Investigadores Responsables que deseen modificar los procedimientos (experimentos) con ADN recombinante, regulados por las directivas de la Facultad, son responsables de notificarlo al SCSAR y las modificaciones deben ser aprobadas antes de implementar nuevos procedimientos.

4.0 Inspecciones del laboratorio

Los laboratorios en que se realicen investigaciones con ADN recombinante requieren aprobaciones específicas según el nivel de riesgo implícito, que están reguladas por las directivas de la Facultad.

El SHyS inspecciona y audita los laboratorios recién registrados que trabajen con nivel de bioseguridad 2 (NB2) .

Los laboratorios recién registrados y que requieren nivel de bioseguridad 3 (NB3) serán evaluados y certificados por el SCSAR . El equipo de inspección del SCSAR debe comprender 2 miembros del SCSAR y un representante del SHyS, Estos laboratorios serán auditados anualmente por el SCSAR.