



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Diseño e implementación de un laboratorio de bioseguridad 2 (BSL2) para cultivo de células animales en el Laboratorio de Ingeniería Química de la Universidad Nacional de Colombia

Ing. Eliana Lozano Romero

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería Química y ambiental
Bogotá, Colombia

2017

Diseño e implementación de un laboratorio de Bioseguridad 2 (BSL2) para cultivo de células animales en el laboratorio de Ingeniería Química

Ing. Eliana Lozano Romero

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Ingeniería Química

Director:

Ph.D., M.Sc., Ing. Rubén Darío Godoy Silva

Línea de Investigación en Bioprocesos

Grupo de Investigación en Procesos Químicos y Bioquímicos

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería Química y Ambiental

Bogotá, Colombia

2017

Pray that your loneliness may spur you into finding something else to live for, great enough to die for.

Dag Hammarskjold

“I was never one to patiently pick up broken fragments and glue them together again and tell myself that the mended whole was as good as new. What is broken is broken, and I’d rather remember it as it was at its best than mend it and see the broken pieces as long as I lived”

Margaret Mitchell

Agradecimientos

A nivel académico y profesional agradezco...

... a mi alma mater, la Universidad Nacional de Colombia y a cada una de las instancias que hicieron posible la realización de este trabajo de investigación; particularmente agradezco a la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Colombia y su programa de Maestría en Ingeniería Química por la oportunidad que me brindó de realizar mis estudios de Posgrado.

... a Colciencias y al programa de Beca-Pasantía Jóvenes Investigadores 2012 mediante el cual resulté beneficiada durante una parte de esta investigación.

... al Grupo de Investigación en Procesos Químicos y Bioquímicos por permitirme, desde su coordinación, aprender toda la labor administrativa que implica desarrollar ciencia, y tecnología en nuestro país.

... al Ingeniero Rubén Darío Godoy, director de este proyecto, por su asesoría y acompañamiento.

...a mis docentes de posgrado: Rodrigo Jiménez, Carlos Garzón, Edgar Reyes, Nohora Vega, Pedro Nel Pacheco y Pedro de Brito, por tan excelentes cursos y todo lo aprendido. Agradezco a mis mentores los ingenieros Pedro Bejarano y Marcelo Riveros, porque con el más profundo respeto, admiro sus carreras académicas y profesionales y siempre me han manifestado su apoyo durante este arduo viaje. Agradezco al Ingeniero Paulo César Narváez, por el interés, apoyo y el empujón final que hizo este trabajo posible.

... al Ingeniero Héctor Cifuentes, director de Laboratorios de la Sede Bogotá, por sus ideas, aporte y apoyo en el proceso de concepción de este proyecto.

A nivel personal agradezco...

... a mi familia por haber soportado, en contra de sus deseos, mi huida de la vida laboral durante “algunos” años de estudios de posgrado y todo el tiempo que no pasé con ellos durante este tiempo. Agradezco a mi madre Claudia Romero, por su apoyo y compañía porque nunca permitió que me sintiera sola. Profundamente agradezco a mi hermano Javier Antonio porque somos y siempre seremos “nosotros dos contra el mundo”.

... a mis amigos: Santiago Rodríguez por su apoyo y porque aun estando a kilómetros o mundos de distancia siempre reiremos y lloraremos el uno por el otro; Luis Eduardo Romero por todas las charlas, cenas y planes en los que me escuchaba, por todas las buenas ideas que tuvimos para “el otro” proyecto y por las que vendrán; Carolina Real por siempre estar ahí; Fernanda Castrillón por ser cómplice en las aventuras de estos años; y Ruth Lancheros por ser mi compañera de aventuras en el laboratorio y porque sufrimos juntas nuestras tesis.

... a todos mis compañeros del Posgrado, particularmente a: Astrid Nausa, Nevardo Bello, Miguel Santaella, Andrés Rivera, German Castro, Mario Noriega, Dionisio Malagón por las risas y los momentos compartidos.

... a Nathalie Camacho, David Capera, y Ximena Ruíz porque disfruté conocerles, aprender y trabajar con ustedes.

... (a pesar de todo) a todas aquellas personas que fueron piedra de tropiezo durante el desarrollo de este proyecto, pues todas sus acciones u opiniones me motivaron a ser más fuerte, a luchar por lo que quiero y me forzaron a demostrarme día tras día que puedo ser mejor.

Finalmente te agradezco a ti, Gabriel Vargas, por acompañarme al final de este largo camino y brindarme el apoyo y ánimo para terminar.

Resumen

El Grupo de Investigación en Procesos Químicos y Bioquímicos de la Universidad Nacional de Colombia - Sede Bogotá realiza investigaciones en diversos campos de la ingeniería química. El reciente crecimiento de la industria farmacéutica y alimenticia promueve el desarrollo de investigaciones en el campo de los bioprocesos y biotecnología relacionadas con células animales, lo que lo convierte en un tema de interés para el desarrollo de nuevos proyectos de investigación y extensión.

Con el fin de incursionar en este campo, se requiere contar con un laboratorio de nivel de bioseguridad 2. Este documento presenta el proceso de ingeniería de dicho laboratorio; inicia con un análisis de la información disponible a nivel normativo con respecto a este tipo de facilidades, el cual conforma un manual para diseño de laboratorios de bioseguridad 2 y posteriormente desarrolla las fases de planeación, diseño, implementación y diagnóstico para el laboratorio desarrollado.

Palabras clave: Bioseguridad, ingeniería conceptual, ingeniería básica, ingeniería de detalle, laboratorio, BSL2.

Abstract

The Research Group in Chemical and Biochemical Processes of the National University of Colombia (Bogotá) has large experience in different fields of chemical engineering. The recent growth of pharma and food industries leads to the development of research on animal cell biotechnology or bioprocesses which also is an attractive and profitable topic to start new investigation projects or to offer industrial services.

With the aim of become involved in the mentioned field of study, a biosafety level 2 laboratory is required. This document presents the engineering process for a BSL2 lab; starts by analyzing the information about directives or standards for biosafety as part of the “Guide for biosafety 2 laboratories design” and later, exposes the development of the planning, design, implementation and diagnostics phases for the developed facilities.

Keywords: Biosafety, conceptual design, preliminary design, detailed design, laboratory, BSL2.

Contenido

	Pág.
Lista de figuras	XI
Lista de tablas	XIII
Lista de Símbolos y abreviaturas	1
Introducción	2
1. Estado del Arte.....	5
1.1 Bioseguridad.....	5
1.2 Antecedentes y contexto histórico.....	6
1.3 Bioseguridad en el laboratorio.....	9
1.4 Manual de Diseño de Laboratorios de Bioseguridad Nivel 2 en la Universidad Nacional de Colombia.	10
1.4.1 Introducción.....	10
1.4.2 El laboratorio de bioseguridad 2	11
1.4.3 Requerimientos Generales	16
1.4.4 Consideraciones técnicas.....	17
1.4.5 Arquitectura de Laboratorios de Bioseguridad 2	24
1.4.6 Consideraciones estructurales	33
1.4.7 Consideraciones de sistemas de generación de calor, ventilación y aire acondicionado (HVAC).....	35
1.4.8 Consideraciones del sistema hidrosanitario.....	43
1.4.9 Consideraciones del sistema eléctrico.....	48
1.4.10 Consideraciones respecto a sistemas adicionales.....	52
2. Ingeniería conceptual	55
2.1 Diagnóstico Inicial e identificación de la necesidad	55
2.2 Definición del alcance	58
2.2.1 Selección de plataformas a emplear.....	58
2.2.2 Definición de escala	60
2.3 Localización	63
2.4 Presupuesto Preliminar.....	64
2.4.1 Nuevo Bioterio - Instituto Nacional de Salud – Bogotá, Colombia.....	64
2.4.2 Reporte Internacional - Labdesignnews.com.....	65
3. Ingeniería Básica	68

3.1	Diagramas Básicos de Procesos.....	68
3.2	Análisis de simultaneidad de actividades y usos	75
3.3	Requerimientos preliminares de servicios	79
3.3.1	Red hidrosanitaria.....	79
3.3.2	Red Eléctrica	82
3.3.3	Red HVAC.....	83
3.3.4	Red de gases especiales.....	83
3.3.5	Redes de voz y datos	83
3.4	Presupuesto preliminar de mobiliario y equipos	84
3.4.1	Mobiliario	84
3.4.2	Equipos	85
4.	Ingeniería de Detalle	87
4.1	Acabados Arquitectónicos (adecuaciones locativas)	87
4.2	Mobiliario.....	87
4.3	Red Hidrosanitaria.....	87
4.4	Red Eléctrica.....	88
4.5	Red HVAC.....	88
4.5.1	Diseño del sistema HVAC mediante modelación numérica.....	88
4.6	Presupuesto Detallado	105
4.7	Equipos.....	106
5.	Implementación del Laboratorio	107
5.1	Infraestructura adicional generada	107
5.1.1	Montaje de unidad de control de un biorreactor para cultivo de células animales mediante operación por lote y lote alimentado.	107
5.1.2	Base de agitación para <i>spinners</i>	114
5.1.3	Adaptación de impulsores de <i>Spinners</i>	115
5.1.4	Restauración y puesta en funcionamiento de autoclave	118
5.2	Pruebas de la implementación del laboratorio, e infraestructura generada.....	120
5.3	Diagnóstico	121
6.	Conclusiones y Recomendaciones.....	126
6.1	Conclusiones.....	126
6.2	Recomendaciones.....	128
ANEXO 1. Referencias empleadas para construcción de la Figura 1-1.....		131
ANEXO 2. Matrices de tiempos y movimientos.....		133
ANEXO 3. Planos constructivos detallados.		135
ANEXO 4. Isométricos detallados de instalación de sistemas principales.		137
ANEXO 5. Presupuesto detallado de adecuaciones locativas y dotación.....		139
ANEXO 6. Presupuesto detallado y especificaciones de Equipos.		141
ANEXO 7. Mapas de circuitos generados para conectividad de controladores.		143
ANEXO 8. Planos de tapas para biorreactores de 3L y de 1,5 - 2L.		145

ANEXO 9. Protocolo de manejo de la línea celular Sp2/0-Ag14 en el Laboratorio de Cultivo de Células Animales del Laboratorio de Ingeniería Química (LCCA-LIQ).	
Mantenimiento, conteo y viabilidad.....	147
Resumen.....	147
Abstract.....	147
Introducción.....	148
Insumos.....	148
Metodología	149
ANEXO 10. Borrador de artículo redactado como parte de verificación de la infraestructura generada.....	
	162
ANEXO 11. Presupuesto e Información detallada de implementación.	
	167
ANEXO 12. Lista de revisión de bioseguridad de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud.....	
	168
ANEXO 13. Listado de Personal vinculado con el GPQB-UN o la Universidad Nacional de Colombia participante de las adecuaciones de las instalaciones del CCCA.	
	174
7. Bibliografía.....	177

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1-1. Cronología de la Bioseguridad en Laboratorios	7
Figura 1-2. Posible distribución modular para los laboratorios. Adaptada de (NIH, 2008)21	21
Figura 2-1. Aspectos clave a mejorar durante el desarrollo de cultivos celulares desde el punto de vista de fermentación. Adaptada de (Eibl et al., 2009)	60
Figura 2-2. Planta primer piso - LIQ – 2015.....	63
Figura 2-3. Distribución de costos de inversión en laboratorios de investigación animal. Adaptada de (labdesign.com, 2017).	66
Figura 3-1. Diagrama de las actividades desarrolladas en el proceso de ingreso al laboratorio.	69
Figura 3-2. Diagrama de las actividades desarrolladas en el proceso de almacenamiento de material.	69
Figura 3-3. Diagrama de las actividades desarrolladas en el proceso de almacenamiento de reactivos.	70
Figura 3-4. Diagrama de actividades relacionadas con el proceso de esterilización por calor.	70
Figura 3-5. Diagrama de las actividades relacionadas con los procesos de preparación de medios de cultivo, buffer u otros reactivos.....	71
Figura 3-6. Diagrama de las actividades relacionadas con el proceso de esterilización por filtración.....	71
Figura 3-7. Diagrama de las actividades relacionadas en el proceso de descongelación de células crio-preservadas y primer cultivo	72
Figura 3-8. Diagrama de las actividades de los procesos de cultivo celular: cambio de medio, muestreo, pasaje, toma de muestras de reactor o spinner.....	73
Figura 3-9. Diagrama de las actividades relacionadas con el proceso de análisis de muestras	73
Figura 3-10. Diagrama de las actividades relacionadas con el proceso de crio-preservación de muestras	74
Figura 3-11. Diagrama de las actividades relacionadas con el proceso de Limpieza y sanitización general.....	75
Figura 3-12. Diagrama de Interacción de áreas empleando software UCINET®	76
Figura 3-13. Diagrama de Interacción de equipos empleando software UCINET®.....	77
Figura 4-1. Vista isométrica del modelo del laboratorio	91
Figura 4-2. Sistema de distribución de aire.....	91
Figura 4-3. Dominio de la simulación.....	92

Figura 4-4. Malla del equipo poliédrica.....	93
Figura 4-5. Líneas de corriente para el caso base de simulación.	95
Figura 4-6. Contorno de velocidad a una altura de 1.2m.....	96
Figura 4-7. Render de presión al interior del laboratorio.....	97
Figura 4-8. Render de energía cinética turbulenta y contorno en el plano yz a una distancia de 5cm de la salida del primer punto del distribuidor de aire.	98
Figura 4-9. Comportamiento de la presión manométrica al interior del laboratorio en el tiempo.....	99
Figura 4-10. Líneas de corriente y contorno de velocidad para el escenario de 1 m/s...	100
Figura 4-11. Render de presión para el escenario de 1m/s.	100
Figura 4-12. Render de energía cinética turbulenta y contorno de energía cinética turbulenta para el escenario de 1m/s.	101
Figura 4-13. Líneas de corriente y contorno de velocidad para el escenario de 2 m/s...	101
Figura 4-14. Render de presión para el escenario de 2m/s.	102
Figura 4-15. Render de energía cinética turbulenta y contorno de energía cinética turbulenta para el escenario de 2m/s.	102
Figura 4-16. Líneas de corriente y contorno de velocidad para el escenario de 4 m/s...	103
Figura 4-17. Render de presión para el escenario de 4m/s.	103
Figura 4-18. Render de energía cinética turbulenta y contorno de energía cinética turbulenta para el escenario de 4m/s.	104
Figura 4-19. Esquema de proceso para el sistema de ventilación de acuerdo a la norma ANSI/ASHRA 62.1-2004.	105
Figura 5-1. Cronología de adecuaciones y adquisiciones del laboratorio BSL2 del LIQ. (2009 - 2017)	108
Figura 5-2. Sistema de mezcla de gases versión preliminar (a) y definitiva (b). Proceso de diseño y construcción.....	110
Figura 5-3. Adecuaciones sistema de agitación.	111
Figura 5-4. Evolución sistemas de control para Reactor de 3L.....	112
Figura 5-5. Despiece detallado de sistema de control y ubicación de sus componentes.	113
Figura 5-6. Fotografías relacionadas con la implementación de un sistema de agitación magnético para Spinners.	116
Figura 5-7. Registro fotográfico de la versión final del dispositivo y su instalación	117
Figura 5-8. Impulsores para spinner.....	118
Figura 5-9. Adaptaciones físicas realizadas al autoclave.	118
Figura 5-10. Sistema de control automático del autoclave.	119
Figura 5-11. Montaje del autoclave en Planta piloto	120

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1-1. Actividades relacionadas con bioseguridad en diferentes campos	6
Tabla 1-2. Comparación de niveles de riesgo o bioseguridad presentados en documentos de referencia	13
Tabla 1-3. Clasificación de Cabinas de Bioseguridad. Basada en (Medical University of South Carolina, n.d.)	31
Tabla 1-4. Resistencia mínima a cargas vivas recomendada para áreas de laboratorios. Extraída de (NIH, 2008).....	34
Tabla 1-5. Tolerancias recomendadas a la vibración para algunas zonas del laboratorio. Extraída de (NIH, 2008).....	35
Tabla 1-6. Velocidad típica de diseño del aire en sistemas HVAC. Adaptada de (NIH, 2008).....	39
Tabla 1-7. Clasificación de aire limpio en espacios controlados. Adaptada de (BSI, 1989; ISO, 2015; U.S. General Services, 1992)	40
Tabla 1-8. Clasificación de filtros de alta eficiencia. Extraída de (ISO, 2011)	41
Tabla 1-9. Niveles máximos permitidos de ruido. Adaptada de (NIH, 2008)	42
Tabla 1-10. Equivalencia en dB de las unidades NC con respecto a la frecuencia del sonido. Extraído de (Engineering toolbox, 2017)	43
Tabla 1-11. Criterios importantes de dimensionamiento de tuberías de suministro hidráulico. Extraído de (NIH, 2008).....	45
Tabla 1-12. Comparativo de calidades de agua de acuerdo a diferentes normativas nacionales e internacionales. Adaptada de (Puretec, n.d.)	46
Tabla 1-13. Carga eléctrica aproximada en facilidades BSL2. Adaptada de (NIH, 2008)	49
Tabla 1-14. Equipos a considerar para conexión a sistema eléctrico de emergencia. Elaborada a partir de (NIH, 2008; OMS, 2005).....	51
Tabla 2-1. Equipos principales ubicados en los laboratorios de la Línea de Investigación en Bioprocesos y Biotecnología del GPQB-UN. Adaptada de (Departamento de Ingeniería Química y Ambiental, 2017b).....	56
Tabla 2-2. Costos aproximados (en COP de 2015) de materiales y reactivos asociados con la realización de un cultivo de células animales en laboratorio.	62
Tabla 2-3. Costos de construcción en facilidades de investigación dependiendo del tipo de laboratorio. Adaptada de (labdesign.com, 2017)	66
Tabla 3-1. Descripción general de equipos y sus requerimientos	80
Tabla 3-2. Equipos que requieren gases especiales y sus características.....	84
Tabla 3-3. Presupuesto preliminar de mobiliario.....	85

Lista de Símbolos y abreviaturas

Abreviaturas

Abreviatura Término

BSL	Nivel de Bioseguridad
HVAC	Aire Acondicionado y Ventilación Mecánica
ISO	<i>International Organization for Standardization</i> (Organización Internacional de Normalización)
NIH	<i>National Institutes of Health</i>
OMS	Organization Mundial de la Salud
WHO	<i>World Health Organization</i>
HEPA	<i>High Efficiency Particulate Air</i>
ULPA	<i>Ultra-Low Particulate Air</i>
INS	Instituto Nacional de Salud
GPQB-UN	Grupo de Investigación en Procesos Químicos y Bioquímicos
LIQ	Laboratorio de Ingeniería Química

Introducción

Con el avance en el desarrollo de nuevos fármacos, y el actual *boom* de la industria farmacéutica, se han incrementado la investigación y el desarrollo de nuevos y mejores fármacos, el escalado de sus procesos de producción y el desarrollo de diagnósticos relacionados con salud humana; sin embargo, aunque el 67% de las empresas farmacéuticas que operan en Colombia son de origen nacional, éstas son en su mayoría pequeñas y medianas empresas que no cuentan con los recursos necesarios para adelantar procesos de Investigación y Desarrollo (Escandón Barbosa, Hurtado Ayala, & Arias Sandoval, 2016).

El Grupo de Investigación en Procesos Químicos y Bioquímicos de la Universidad Nacional de Colombia (GPQB-UN) adelanta numerosos trabajos de investigación y extensión en el marco de su línea de Investigación en Bioprocesos y Biotecnología. Con el fin de fomentar el desarrollo de soluciones innovadoras que garanticen el desarrollo económico del país en el sector farmacéutico, el GPQB-UN busca realizar actividades de investigación, diagnóstico y desarrollo que requieren la generación de un Laboratorio cuyo enfoque principal sea el escalado de bioprocesos, cultivo de células animales, y cultivo y análisis de algunos virus.

Los laboratorios son, por definición, espacios “...dotados de los medios necesarios para realizar investigaciones, experimentos y trabajos de carácter científico o técnico” (Real Academia Española, 2017), y por tanto deben concebirse de forma que las actividades que se desarrollarán en su interior se ejecuten de manera segura y eficaz. Ahora bien, el diseño

del laboratorio debe obedecer no solo a las normas y/o recomendaciones establecidas por entes competentes tanto nacionales como internacionales, sino también a las características generales de un plan de trabajo previsto a largo plazo (10 años o más) pues los laboratorios se caracterizan por tener altos requerimientos de adaptación y actualización, permitiendo la realización de nuevas técnicas de análisis, nuevos experimentos y la implementación de nuevos equipos; de ahí que es necesario que los espacios de trabajo tengan en cuenta estas variables de forma que a futuro no se conviertan en ambientes hacinados, inseguros e inflexibles.

Como resultado de los argumentos anteriormente expuestos se propone abordar el diseño de un laboratorio como un proyecto de ingeniería y no sólo como proyecto arquitectónico. Esto genera varias ventajas en cuanto a la funcionalidad y facilidad en su implementación, pero implica la participación dinámica de un equipo interdisciplinar (investigador, experimentadores, ingenieros, arquitectos, diseñadores, administradores, entre otros). Es así como los procesos de ingeniería básica, conceptual y de detalle de los laboratorios se deben desarrollar en varios frentes, los cuales implican diseño operacional, de redes eléctricas, hidrosanitarias, y diseños mecánicos para líneas de ventilación y aire acondicionado, selección de equipos, selección de sistemas de control, entre otros, de tal forma que satisfagan los requerimientos de los laboratorios.

En el caso del desarrollo y diseño de laboratorios con niveles de bioseguridad, existen como referentes algunos documentos que presentan directrices, recomendaciones y/o sugerencias en cuanto a sus especificaciones y requerimientos. El primer capítulo de este documento hace un análisis minucioso de la información disponible con respecto a la normatividad vigente en materia de bioseguridad, el cual concluye con la generación de una directriz general (manual) para el diseño y construcción de laboratorios de bioseguridad 2 al interior de la Universidad Nacional de Colombia, validada por la Dirección de Laboratorios de la Sede Bogotá. Esta información se constituye como un producto fundamental del proceso de ingeniería conceptual del Laboratorio de Cultivo de Células Animales ubicado en las instalaciones del Laboratorio de Ingeniería Química.

Desde el segundo hasta el cuarto capítulo de este documento se desglosan las actividades propias del ejercicio del diseño de plantas y procesos: las etapas de ingeniería conceptual, básica y detallada del diseño del laboratorio requerido por el GPQB-UN para el desarrollo

de sus investigaciones. El quinto capítulo presenta el proceso de implementación del diseño generado y la evaluación conceptual y operativa del mismo, así como las recomendaciones para la alternativa implementada con respecto a bioseguridad.

1. Estado del Arte

1.1 Bioseguridad

Aunque la palabra bioseguridad no es un sustantivo reconocido en español (Real Academia Española, 2017), es ampliamente utilizada por la comunidad académica de habla hispana; una búsqueda del término “bioseguridad” en Google arroja alrededor de 1.690.000 resultados (Google, 2017); por ello, continuará empleándose este término a lo largo de este documento. Bioseguridad es la traducción al español del término “*biosafety*”; el primer uso conocido de este término data del año de 1969 y es, por definición, la seguridad con respecto a los efectos de la investigación biológica en los humanos y en el ambiente (Merriam-Webster, 2017).

Actualmente, el concepto de bioseguridad abarca una serie de medidas, políticas y procedimientos para minimizar los riesgos potenciales que la biotecnología puede suponer para el medio ambiente y la salud humana (The Secretariat of the Convention on Biological Diversity & United Nations Environment Programme, 2003). Teniendo en cuenta el auge de las tecnologías en el área biológica, este concepto ha ido cambiando hasta alcanzar varios campos; la Tabla 1-1 presenta algunos de ellos y algunas actividades de investigación o aplicación en las que la bioseguridad resulta prioritaria.

Dependiendo de las diversas aplicaciones, la bioseguridad se establece de forma diferente según sea el caso para proteger: un producto de ser contaminado, un usuario de ser contagiado, un ecosistema de ser invadido, entre otros. De hecho, el actual Manual de Bioseguridad en Laboratorios de la OMS (OMS, 2005) hace una clara diferenciación entre los términos «Bioseguridad» (*biosafety*), que se define como “los principios, técnicas y prácticas aplicadas con el fin de evitar la exposición no intencional a patógenos y toxinas, o su liberación accidental”, y «protección biológica» (*biosecurity*), que se define como “las medidas de protección de la institución y del personal destinadas

Tabla 1-1. Actividades relacionadas con bioseguridad en diferentes campos

CAMPO DE ACCIÓN	ACTIVIDADES
Medicina	<ul style="list-style-type: none"> • Producción de farmacéuticos • Productos para terapia génica • Órganos o tejidos de origen biológico • Virología y patología
Ecología	<ul style="list-style-type: none"> • Migración o movimiento de especies fuera de su ecosistema natural
Agricultura	<ul style="list-style-type: none"> • Producción alimenticia • Control de cepas generadas mediante ingeniería genética
Química	<ul style="list-style-type: none"> • Presencia de residuos químicos en aguas o suelos
Energía	<ul style="list-style-type: none"> • Manejo de materiales o residuos radioactivos

a reducir el riesgo de pérdida, robo, uso incorrecto, desviaciones o liberación intencional de patógenos o toxinas”, términos que se emplean ambiguamente en inglés; si estos términos fuesen traducidos al español, ambos equivaldrían a bioseguridad, pero en este documento se le dará el significado correspondiente a *biosafety*.

1.2 Antecedentes y contexto histórico

Como respuesta ante la crisis de amenaza química de ántrax en Estados Unidos en el año 2011, la Federación Americana de Científicos (FAS, por sus siglas en inglés) publicó un reporte histórico completo de los antecedentes de la bioseguridad y sus alcances (Connell, 2011). A partir de dicho documento y fuentes adicionales de referencia se constituyó la línea de tiempo presentada en la Figura 1-1, donde se resaltan algunos hechos que marcaron el desarrollo de políticas y normativas con respecto a bioseguridad en los laboratorios.

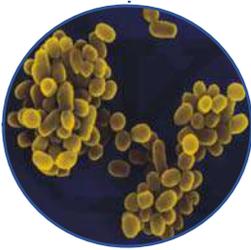
Cabe resaltar que incluso con los desarrollos tecnológicos actuales y las modernas pautas de bioseguridad, aún se presentan inconvenientes en los laboratorios. Por ejemplo, Weidman *et al.* (2014), reportan que tres investigadores contrajeron tularemia en 2004 en Boston, Estados Unidos, luego de ser expuestos a una cepa *wild-type* de *Francisella tularensis*, la cual se encontraba mezclada con la cepa de la vacuna que ellos pensaban estar manipulando. Los mismos autores reportan que en el 2002 en Estados Unidos

Cronología de la Bioseguridad en Laboratorios



1943

Se crearon los Laboratorios de Guerra Biológica del Ejército de los Estados Unidos (USBWL). Investigación pionera en biocontención, descontaminación, esterilización por gas y purificación de agentes



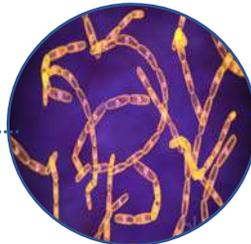
1941

Meyer and Eddie publican un estudio en el cual detectan 74 casos de infección por brucelosis por malos manejos al interior del laboratorio



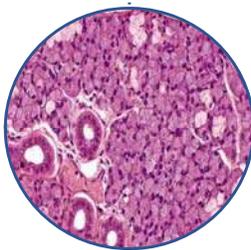
1945

Intensa actividad investigadora en guerra biológica (BW) usando variados patógenos



1949

Dos trabajadores de los laboratorios de Fort Detrick murieron a causa de exposición a ántrax



1949

Sulkin and Pike publican una recopilación de 222 infecciones virales adquiridas en laboratorios, al menos un tercio de las infecciones se consideraron asociadas con la manipulación inadecuada de animales y tejidos.



1951

Sulkin and Pike publican un segundo estudio donde detectan tuberculosis, tularemia, fiebre tifoidea e infección por estreptococos relacionadas con laboratorios, la mayoría relacionados con pipeteo con la boca y el uso de cortopunzantes



1955

Primera Reunión no oficial de la ABSA (American Biological Safety Association). Tema: *The Role of Safety in the Biological Warfare Effort*



1957

Reuniones anuales de la ABSA con participación del USDA (U.S. Department of Agriculture)

Continúa en la siguiente página...



1965
El CDC y el NIH se unen a las reuniones de la ABSA. Se decide hacer público el contenido y el producto de las reuniones.



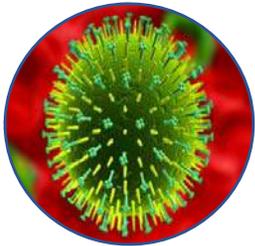
1964
Un trabajador de Fort Detrick muere a causa de Encefalitis viral



1966
Las reuniones de la ABSA cuentan con la presencia de universidades, laboratorios privados, hospitales e industrias



1970's
NIH establece 4 niveles de bioseguridad



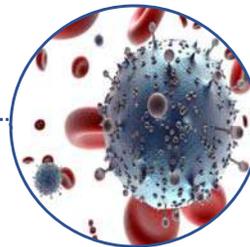
1967
Hanson *et al.* reportaron 428 infecciones de arbovirus asociadas a laboratorios



1973
La OSHA (*Occupational Safety and Health Administration*) establece algunas regulaciones sobre bioseguridad



1974
United States Postal Service y *Department of Transportation* introdujeron regulaciones para el envío de muestras etiológicas (que causan enfermedades en humanos)



1980
Los laboratorios clínicos inician el uso de las guías expedidas para patógenos de alto riesgo en las actividades asociadas con la manipulación del VIH



1980's
Reuniones de la ABSA identifican listados de los agentes de riesgo biológico



1983
Publicación del Primer Manual de bioseguridad en el laboratorio por la OMS.

Figura 1-1. Cronología de la bioseguridad en laboratorios (Continuación)

ocurrieron dos accidentes durante necropsias animales que desencadenaron infecciones del Virus del Nilo Occidental; en uno de estos casos un pulgar fue lacerado con un bisturí mientras se removía el cerebro de una urraca azul; en el otro caso, un pinchazo de aguja sucedió recolectando el cerebro de un ratón infectado. El más reciente caso de accidente de bioseguridad reportado por los mismos autores fue en un laboratorio en Texas en donde hubo problemas en las centrifugas empleadas en la manipulación de las cepas genéticamente modificadas H3N2 y H5N1 del virus de influenza.

Los ejemplos mencionados resaltan la importancia de la necesidad de fuertes medidas de bioseguridad en los laboratorios en general y que la clave para desarrollar los protocolos o medidas adecuadas parte de la identificación del material o patógeno con el que se desea trabajar en las instalaciones.

1.3 Bioseguridad en el laboratorio

Dependiendo del tipo de laboratorio, la bioseguridad también toma diversos matices, pero por lo general, actúa en dos frentes principales: La seguridad del usuario del laboratorio y el correcto manejo y disposición de los residuos generados para proteger al ambiente externo del laboratorio (comunidad y ecosistema).

Durante los más de 20 años transcurridos desde su primera publicación en 1983, el Manual de bioseguridad en el laboratorio ha proporcionado orientación práctica sobre las técnicas de bioseguridad a los laboratorios de todos los niveles. Las técnicas microbiológicas apropiadas y el uso correcto del equipo de bioseguridad por personal bien adiestrado siguen siendo los pilares fundamentales de la bioseguridad en el laboratorio. Sin embargo, la globalización, los importantes avances tecnológicos, la aparición de nuevas enfermedades y las graves amenazas que suponen el uso indebido y la liberación intencionados de agentes microbiológicos y toxinas han hecho necesario revisar los procedimientos conocidos (OMS, 2005).

Teniendo en cuenta que actualmente se encuentran varios documentos de referencia y diferentes estándares en cuanto a bioseguridad, en el siguiente acápite se plantea un Manual de Diseño de Laboratorios de Bioseguridad 2 para la Universidad Nacional de Colombia. El cual pretende estandarizar las consideraciones relevantes para la planeación,

reconstrucción o reparación de este tipo de espacios al interior de la Universidad. Actualmente este documento se encuentra en revisión y evaluación por parte del personal de la Dirección de Laboratorios de la Sede Bogotá, de la Universidad.

1.4 Manual de Diseño de Laboratorios de Bioseguridad Nivel 2 en la Universidad Nacional de Colombia.

1.4.1 Introducción

Los laboratorios son, por definición, espacios *“dotados de los medios necesarios para realizar investigaciones, experimentos y trabajos de carácter científico o técnico”* (Real Academia Española, 2017) y, por tanto, deben concebirse de tal forma que las actividades que se desarrollarán en su interior se ejecuten de manera segura y eficaz. Ahora bien, el diseño del laboratorio debe obedecer no solo a las normas y/o recomendaciones establecidas por entes competentes tanto nacionales como internacionales, sino también a las características generales de un plan de trabajo previsto a largo plazo (10 años o más), pues los laboratorios se caracterizan por tener altos requerimientos de adaptación y actualización, con el fin de desarrollar nuevas técnicas de análisis, nuevos experimentos y la implementación de nuevos equipos. De ahí que sea necesario que los espacios de trabajo tengan en cuenta estas variables de forma que a futuro no se conviertan en un espacio hacinado, inseguro e inflexible.

Abordar el diseño de un laboratorio como un proyecto de ingeniería y no solo como proyecto arquitectónico genera varias ventajas en cuanto a la funcionalidad y facilidad en su implementación, pero implica la participación dinámica de un equipo interdisciplinar (investigador, experimentadores, ingenieros, arquitectos, diseñadores, administradores, entre otros). Los procesos de ingeniería básica, conceptual y de detalle de los laboratorios se deben desarrollar en varios frentes, los cuales implican diseño operacional, de redes eléctricas, hidrosanitarias, diseños mecánicos para líneas de ventilación y aire acondicionado, selección de equipo, selección de sistemas de control, entre otros, de tal forma que satisfagan los requerimientos de los laboratorios.

En el caso del desarrollo y diseño de laboratorios con niveles de bioseguridad, existen varios documentos de referencia que presentan directrices, recomendaciones y/o sugerencias en cuanto a sus especificaciones y requerimientos, entre los cuales puede mencionarse:

- *Laboratory biosafety manual*. Third edition. World Health Organization. Geneva. 2004. en sus versiones en inglés y español (OMS, 2005; WHO, 2004).
- *Directive 2000/54/EC* (The European Parliament, 2000).
- *Design Requirements Manual: The formulae for building state of the art biomedical research facilities*. (NIH, 2008).
- *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (US Department of Health and Human Services, 1999).

El presente documento es producto de un análisis minucioso de la información disponible en estos documentos con respecto a los niveles de bioseguridad que han permitido la generación de una directriz general para el diseño y construcción de laboratorios de bioseguridad nivel 2 al interior de la Universidad Nacional de Colombia.

1.4.2 El laboratorio de bioseguridad 2

Para definir en su totalidad un laboratorio de bioseguridad 2 resulta pertinente revisar en qué consisten las escalas de bioseguridad y a qué corresponden cada una de sus categorías.

1.4.2.1 Las escalas de Bioseguridad

De acuerdo con la bibliografía previamente mencionada, los niveles de bioseguridad se suelen caracterizar de la forma presentada en la **Tabla 1-2**. Cabe resaltar que las designaciones del nivel de bioseguridad se basan en una combinación de las características de diseño, construcción, medios de contención, equipo, prácticas y procedimientos de operación necesarios para trabajar con agentes patógenos de los distintos grupos de riesgo (OMS, 2005) y no obedece de forma estricta y necesaria al tipo de organismos con los que se trabaje.

La OMS establece que cada país deberá elaborar una clasificación nacional o regional de los microorganismos en grupos de riesgo (OMS, 2005). En Colombia esta clasificación es emitida por parte del Ministerio de Salud (Girón Vargas, 2017), en la Resolución 1619 de 2015, donde comisiona al Instituto Nacional de Salud como ente vigilante y de control de los estándares de calidad que deben cumplir los laboratorios de salud pública departamentales y del Distrito Capital (Invima, 2015). Sin embargo, en los documentos publicados del Instituto Nacional de Salud no sólo no se hace ninguna clasificación particular sino que se deja en manos de las entidades administradoras o propietarias de los laboratorios el control interno de las prácticas de bioseguridad, dando por entendido que el Instituto está en capacidad de verificar en cualquier momento las prácticas, procesos y, en general, la calidad de los laboratorios de bioseguridad (Instituto Nacional de Salud, 2016).

En consenso, las directrices revisadas plantean que el laboratorio de bioseguridad nivel 2 cuenta con las características de un laboratorio de nivel 1, pero requiere algunas medidas y características adicionales, pues, en su interior, se manipulan microorganismos que pueden generar enfermedades o patologías en seres humanos sanos, aunque las vías de infección y transmisión son controlables a nivel laboratorio.

Con este enfoque, se concluye que cada institución requiere de personal entrenado en las técnicas de BPM (Buenas Prácticas de Manufactura) y BPL (Buenas prácticas de Laboratorio) que garanticen la asepsia y la contención de los patógenos o material biológico manipulado. Por este mismo motivo, el acceso del personal debe ser limitado y controlado, sujeto a políticas de capacitación en el uso de las áreas, equipos y materiales.

Tabla 1-2. Comparación de niveles de riesgo o bioseguridad presentados en documentos de referencia

Documento	<i>Laboratory biosafety manual</i>	<i>Directive 2000/54/EC</i>	<i>Design Requirements Manual</i>	<i>Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories</i>
Autor	(OMS)	<i>European Parliament</i>	NIH	CDC
Regencia	Internacional	Unión Europea	EEUU	EEUU
Clasificación que establece	Niveles de bioseguridad y niveles de riesgo	Clasificación de los agentes biológicos	Niveles de Bioseguridad	Niveles de Bioseguridad
Nivel 1	Para la manipulación de microorganismos infecciosos del grupo de riesgo 1 (riesgo individual y poblacional escaso o nulo). Microorganismos que tienen pocas probabilidades de provocar enfermedades en el ser humano o los animales.	Agente biológico que resulte poco probable que cause enfermedad en el hombre.	Prácticas, equipo de seguridad, diseño y construcción apropiados para trabajar con cepas definidas y caracterizadas de microorganismos viables que no causan enfermedad en humanos adultos sanos.	Básico nivel de protección, apropiado para agentes que no causan enfermedad en humanos sanos.
Nivel 2	Para la manipulación de microorganismos infecciosos del grupo de riesgo 2 (riesgo individual moderado, riesgo poblacional bajo). Agentes patógenos que pueden provocar enfermedades humanas o animales, pero que	Agente patógeno que pueda causar una enfermedad en el hombre y pueda suponer un peligro para los trabajadores; es poco probable	Prácticas, equipo de seguridad, diseño y construcción apropiados para trabajar con un amplio espectro de agentes nativos de riesgo moderado que se encuentran presentes en la comunidad y están asociados	Nivel de protección apropiado para la manipulación de agentes de riesgo moderado que causan enfermedad y varían en severidad por ingestión o a través de exposición percutánea o de membranas mucosas.

	<p>tienen pocas probabilidades de entrañar un riesgo grave para el personal de laboratorio, la población, el ganado o el medio ambiente. La exposición en el laboratorio puede provocar una infección grave, pero existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces y el riesgo de propagación es limitado.</p>	<p>que se propague a la colectividad; existen generalmente una profilaxis o un tratamiento eficaces.</p>	<p>con enfermedades humanas de diferente severidad.</p>	
Nivel 3	<p>Para la manipulación de microorganismos infecciosos del grupo de riesgo 3 (riesgo individual elevado, riesgo poblacional bajo). Agentes patógenos que suelen provocar enfermedades humanas o animales graves, pero que, de ordinario, no se propagan de un individuo a otro. Existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces.</p>	<p>Agente patógeno que pueda causar una enfermedad grave en el hombre y presente un serio peligro para los trabajadores; existe el riesgo de que se propague en la colectividad, pero hay generalmente una profilaxis o un tratamiento eficaces.</p>	<p>Prácticas, equipo de seguridad, diseño y construcción apropiados para trabajar con un amplio espectro de agentes nativos y exóticos con potencial de transmisión por vía aérea y que pueden causar una infección seria y potencialmente letal. En este nivel se hace mucho énfasis en la existencia de barreras primarias y secundarias para proteger al personal en las</p>	<p>Nivel de protección apropiado para agentes con potencial conocido para transmisión por aerosol, para agentes que causan infecciones serias y potencialmente letales y que son de origen nativo o exótico.</p>

			áreas de posible contagio, a la comunidad y al ambiente de la exposición a aerosoles potencialmente infecciosos.	
Nivel 4	Para la manipulación de microorganismos infecciosos del grupo de riesgo 4 (riesgo individual y poblacional elevado). Agentes patógenos que suelen provocar enfermedades graves en el ser humano o los animales y que se transmiten fácilmente de un individuo a otro, directa o indirectamente. Normalmente no existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces.	Agente patógeno que pueda causar una enfermedad grave en el hombre y suponga un serio peligro para los trabajadores; existen muchas probabilidades de que se propague en la colectividad; no existen generalmente una profilaxis o un tratamiento eficaces.	No se da definición literal de este nivel de bioseguridad pero se entiende por contexto que hace referencia a agentes más peligrosos, como el caso de agentes pandémicos.	Nivel de protección apropiado para agentes exóticos que representa un alto riesgo individual de una enfermedad letal debida a aerosoles infecciosos para los cuales no existe tratamiento.
Fuente	Extraído de (OMS, 2005)	Extraído de (The European Parliament, 2000)	Traducido de (NIH, 2008)	Extraído de (US Department of Health and Human Services, 1999)

1.4.3 Requerimientos Generales

1.4.3.1 Plan Maestro

El proyecto de construcción o adecuación de un espacio de laboratorio para desarrollo de actividades de bioseguridad 2 debe hacer parte de un Plan Maestro a nivel Nacional, de Sede, de Facultad, de Departamento y/o Grupo de Investigación, que permita contar con algunas condiciones fundamentales para su implementación, entre las que se incluyen:

- Recursos: Económicos (costos de inversión y sostenimiento), espacio, servicios técnicos y profesionales, servicios públicos, entre otros.
- Soporte Institucional: Debe nacer como soporte de las áreas misionales de la Universidad (docencia, investigación y/o extensión), con una misión, visión y objetivos estratégicos.
- Plan de sostenibilidad: Los requerimientos y necesidades que cubre el laboratorio no deben ser solamente momentáneas o puntuales, sino planeados a futuro tanto en actividades como en posibles procesos de expansión e inversiones adicionales.

1.4.3.2 Requerimientos previos de diseño

Antes de distribuir el espacio para cada laboratorio se deben tener en cuenta los siguientes aspectos:

- Cada investigador debe contar con un espacio adecuado y confortable. El laboratorio se debe dividir en: zona de investigación y trabajo (cultivo), zona de apoyo al laboratorio (preparación), zona de almacenamiento (materiales) y zona de soporte administrativo (oficinas contiguas); todo esto con el fin de crear un ambiente seguro y funcional.
- A menos que interfiera con los requerimientos de funcionamiento, todas las zonas de trabajo en laboratorios y oficinas deben tener luz natural y vista al exterior.
- No deben existir columnas dentro del laboratorio para que no interfieran con el espacio destinado para equipos y para el desarrollo de actividades de los investigadores.
- El laboratorio debe ser diseñado por módulos, de manera que sea funcional y fácilmente adaptable para cambios futuros.

- El espacio de trabajo en el laboratorio debe ser acoplado para trabajar con cabinas de extracción y/o cabinas de bioseguridad (BSC), mobiliario, equipos, almacenamiento y zonas de estudio. La organización de los espacios debe considerar el contenido del documento “*Methodology for Optimization of Laboratory Hood Containment*”, disponible como Apéndice A del documento NIH (2008).

1.4.4 Consideraciones técnicas

En esta sección se muestran algunas nociones en cuanto a diseños arquitectónicos, planeación de los laboratorios científicos y las zonas de trámites administrativos. Los laboratorios se deben diseñar con ayuda de los investigadores que van a trabajar allí, para identificar las necesidades específicas de las actividades a realizar. Por lo tanto, a continuación, se describen los aspectos que deben considerarse al plantear el diseño del mismo.

1.4.4.1 Actividades a realizar

Las investigaciones incluyen una variedad de disciplinas científicas que se deben acoplar en el espacio de laboratorio. Las principales actividades a desarrollar en los laboratorios de bioseguridad son:

- A. Experimentación
- B. Calibración y monitoreo electrónico de equipos
- C. Procesamiento y recuperación de información
- D. Almacenamiento de equipos y materiales

Además, las instalaciones también deben contar con espacio para actividades administrativas y encuentros informales. Dentro de las zonas administrativas se debe contar con oficinas para los directores de cada laboratorio y su personal de apoyo. Cabe resaltar que estas áreas no necesariamente deben estar ubicadas al interior del área de laboratorio, sino que son consideradas áreas periféricas fundamentales.

1.4.4.2 Luz Natural

Mientras no interfiera con los requerimientos de operación, todos los laboratorios y oficinas deben tener luz natural y vista al exterior; para esto, se debe realizar una buena planeación

en el diseño de las zonas funcionales. Se deben evaluar dos cuestiones principalmente: el reflejo de luz en las pantallas del computador y las zonas de trabajo, y los efectos de calor que afecten el control de temperatura al interior del laboratorio. No se requiere luz natural en las áreas de los laboratorios tales como cuartos de equipos comunes o refrigeradores. Cualquier técnica de diagnóstico óptico o fotográfico debería ser ubicada en zonas oscuras.

1.4.4.3 Iluminación artificial

Se requiere iluminación de buena calidad para las zonas cerradas del laboratorio. La intensidad y uniformidad debería evitar sombras en la superficie de trabajo. Se debe considerar la posibilidad de controlar la iluminación en laboratorios especializados o en zonas que usen computadores.

1.4.4.4 Ruido

Las áreas sensibles al ruido pueden ser: zona para microscopía, microinyección u otros procedimientos que requieren un alto grado de precisión manual o donde se realiza concentración de metales. Los niveles de ruido en los laboratorios son difíciles de controlar dado que los acabados de los cuartos son generalmente duros y no absorben ruido. Los equipos tales como cabinas de extracción, centrifugas y bombas de vacío contribuyen a los altos niveles de ruido en el laboratorio. La planeación, mientras sea posible, debería aislar las áreas sensibles al ruido de aquellas que lo producen. En ocasiones, dependiendo de la precisión de las balanzas, la zona de pesaje puede requerir estar aislada de ruido y de estática.

1.4.4.5 Vibración

La vibración causada por algunos equipos puede afectar la comodidad del personal de trabajo y el trabajo del investigador; por lo tanto, se requiere amortiguación estructural en las zonas donde hay equipos sensibles a la vibración. Si alguna de las partes del equipo es sensible a la vibración, este puede ser ubicado en una mesa especial con amortiguación o cerca de las zonas más estables del edificio tales como las columnas.

1.4.4.6 Interacción

Se debe fomentar el intercambio de ideas entre los investigadores, ya sea por comunicación formal o informal, para que exista constante colaboración. Por tanto, un laboratorio debe contar con acceso a cuartos de conferencia, zonas de descanso, zonas de café y máquinas dispensadoras que promuevan encuentros y comunicación entre todos los ocupantes. El diseño cuidadoso de corredores y zonas de circulación puede contribuir a la interacción entre los ocupantes del edificio. No es necesaria la construcción de una cafetería exclusiva. El acceso a un espacio de este tipo suficientemente cercano permite fortalecer la interacción y la comodidad de los investigadores.

1.4.4.7 Eficiencia

En el diseño es fundamental considerar la circulación eficiente de personal, animales, suministros y desechos, con el fin de aumentar el uso adecuado del espacio disponible.

1.4.4.8 Señalización

La señalización ayuda a los trabajadores y visitantes a encontrar fácilmente los lugares y la salida del edificio, la cual debe ser funcional y estar en armonía con la arquitectura del lugar. La señalización también es importante para identificar el nivel de las zonas de bioseguridad donde se realiza el trabajo que implica riesgo biológico. Identificar claramente las distintas áreas de trabajo y los requisitos de seguridad a tener en cuenta por parte de investigadores y visitantes, precauciones especiales y uso de elementos de protección personal, hace parte fundamental del funcionamiento del mismo.

1.4.4.9 Flexibilidad

Para ser exitoso, un edificio diseñado para laboratorios debe satisfacer las necesidades actuales de los investigadores en términos de espacio, ambiente, servicios de soporte, funciones y equipos. Adicionalmente, el edificio debe anticipar las necesidades que el investigador pueda tener en el futuro y ser flexible en los cambios que se presenten debido a las actualizaciones que surjan en la investigación, es decir, se busca que el espacio designado pueda ser renovado con el mínimo de interrupciones.

Algunos cambios que se pueden presentar son:

- Cambios en el campo de investigación (p.ej., respuesta a una nueva amenaza patológica).
- Cambios en el personal (p.ej., tamaño o cambios en el equipo de trabajo)
- Cambios en el ambiente (p.ej., espacio abierto vs. espacio cerrado)
- Cambios en el procedimiento (p.ej., cambio a un proceso automático)
- Cambios en tecnología (p.ej., nuevos equipos)
- Cambios en requerimientos (p.ej., posibles cambios en la necesidad de servicios como electricidad, agua, líneas de gases como gas natural, oxígeno, hidrógeno, etc.).

Es muy importante que el diseño del laboratorio y las instalaciones de servicios puedan ser fácilmente adaptables a cambios en los protocolos de investigación, es decir, deben tener la capacidad de cambiar sin afectar las actividades del investigador.

1.4.4.10 Capacidad

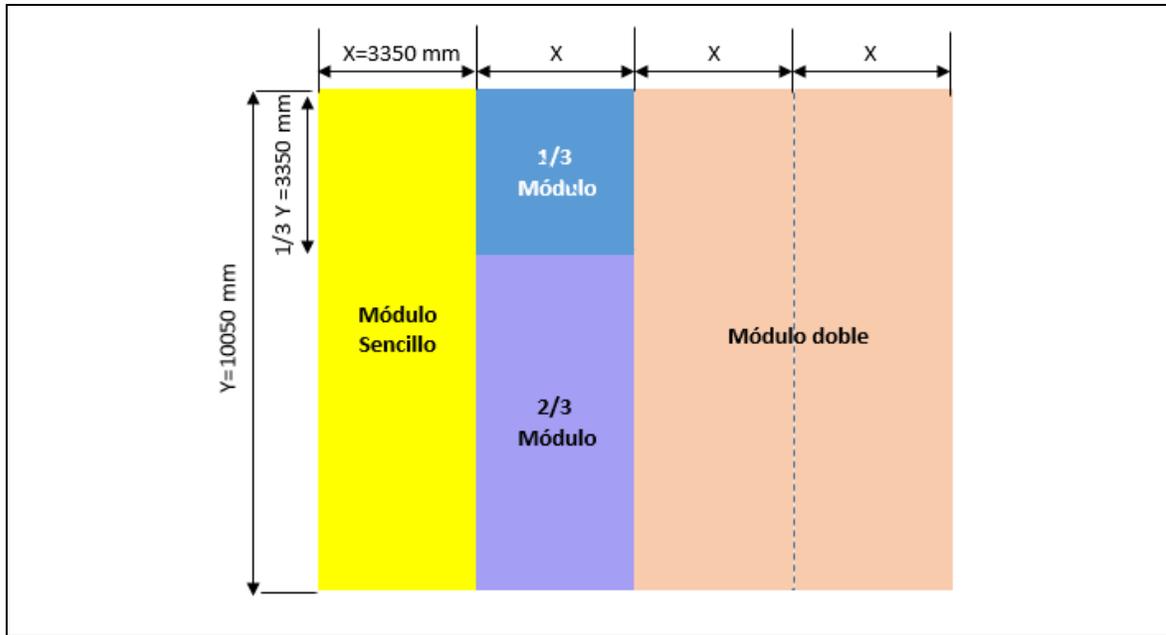
El laboratorio debe contar con todos los servicios necesarios para el desarrollo de las investigaciones. Además, en el diseño es preciso prever futuras instalaciones para cambios en los servicios provocados por nuevas tecnologías o cambios en los protocolos. De esta forma se puede decir que la flexibilidad y la capacidad van muy de la mano.

1.4.4.11 Espacio Modular

El espacio debe ser organizado cuidadosamente y en lo posible de forma modular. Los módulos deben ser organizados de manera que permitan que el espacio sea fácilmente reconfigurado. El diseño por módulos es fundamental para la construcción de un laboratorio flexible. Además, provee cierta regularidad y repetibilidad en el tamaño, forma y arreglo de los espacios. Cada módulo es la unidad base del laboratorio; por ende, debe ser muy bien diseñado en cuanto su tamaño, de manera que cierto número de módulos ocupen el espacio establecido para cada laboratorio. Los módulos pueden ser combinados o divididos dependiendo de las necesidades de espacio donde se planea la ubicación de mobiliario, divisiones, techos y sistemas de iluminación, sistemas de aireación y tuberías, fuentes eléctricas y redes de comunicación etc. Un laboratorio modular permite seguridad,

modificaciones efectivas para futuras alteraciones en el laboratorio y permitirá a los investigadores configurar los laboratorios dependiendo de sus protocolos de investigación. La Figura 1-2 presenta una posible configuración para los módulos del laboratorio, recomendada para los laboratorios de los NIH en Estados Unidos (NIH, 2008).

Figura 1-2. Posible distribución modular para los laboratorios. Adaptada de (NIH, 2008)



Las divisiones y puertas deberían ser removibles de manera que los cuartos sean expandibles o se dividan en cuartos más pequeños.

Particularmente en los diseños de laboratorios de los NIH se han estandarizado algunas dimensiones, aunque eso no implica que sean medidas obligatorias: Ancho de cada módulo: 3048 mm a 3667 mm, dependiendo del tipo y cantidad de equipos que se ubicarán en ese espacio. El ancho de cada mesón central es aproximadamente 1525 mm; adicionalmente se tiene espacio para equipos, el cual es de 914 mm a cada lado. La profundidad del módulo depende de la cantidad de personas que van a trabajar allí, el tipo y el tamaño de los equipos que se van a ubicar, la cantidad de espacio para escritorios y el uso de las unidades de contención tales como cabinas de extracción o de bioseguridad. La profundidad ideal para el módulo es 10050 mm.

1.4.4.12 Distribución de Servicios

Con el fin de una operación óptima, los laboratorios necesitan diferentes servicios; la ubicación y el diseño de las instalaciones de servicios es función de los requerimientos específicos de cada laboratorio en cuanto al servicio, el costo de instalación, el fácil acceso para mantenimiento, instalaciones futuras y remodelaciones al laboratorio.

Para realizar el mantenimiento o reparación de algún servicio de una manera eficiente, es necesario tener un fácil acceso a los sistemas instalados, pues se busca minimizar el costo y el tiempo que interrumpan las actividades de investigación. El fácil acceso se debe considerar en la etapa de planeación y debe ser coordinado con el equipo de ingeniería mecánica, hidrosanitario, eléctrico y los sistemas de comunicación. Todas las instalaciones deberían quedar muy bien organizadas en zonas específicas, ya sean horizontales o verticales con el fin de garantizar la máxima flexibilidad.

1.4.4.13 Conexión de las instalaciones al laboratorio

Los servicios deben ser distribuidos para cada módulo de manera individual y el punto de conexión de cada servicio debería estar en una posición uniforme con respecto al módulo, con el fin de tener recorridos simples sin interrupción de módulos adyacentes. Estos servicios se deben instalar en los corredores de servicio o en zonas especiales para ello, permitiendo así a los laboratorios hacer cambios sin aumentar la capacidad o variar la ubicación del sistema central. Las válvulas deben ser apropiadas para facilitar futuras modificaciones.

1.4.4.14 Distribución de servicios

Lo ideal en este tipo de laboratorios es emplear espacios intersticiales para la distribución de servicios. A continuación, se van a mostrar algunas ventajas y desventajas de diferentes distribuciones.

- **Distribución de techo y ductos verticales (*shafts*):** En este sistema, la distribución vertical de los servicios es mediante ductos que van desde el primer piso hasta el techo del edificio, mientras que la distribución horizontal es a través

del techo; de esa forma todos los servicios se llevan al área de trabajo a excepción del drenaje por gravedad pues este sale del área de trabajo. Esta configuración permite una renovación de las instalaciones sin afectar la operación en las zonas de trabajo. Sin embargo, se necesita una gran cantidad de espacio en el techo, además éste debe ser fácilmente removido para realizar la instalación de servicios.

- **Múltiples ductos verticales internos:** En esta distribución el sistema vertical del servicio es mediante *shafts*¹ internos más pequeños y la distribución horizontal es a través del techo, dado que los ductos tienen recorridos relativamente cortos, se requieren conductos y tuberías más pequeños; además la manipulación de las válvulas es más conveniente dado que no se interrumpe tanto como cuando se ubican en el techo. Sin embargo, los múltiples *shafts* al interior del laboratorio en ocasiones pueden interrumpir el espacio de trabajo.

1.4.4.15 Personal de trabajo en el laboratorio

La cantidad de personal que trabaja en el laboratorio depende principalmente de la investigación que se vaya a realizar. Cada laboratorio debe contar con soporte administrativo el cual debería ser adecuado para almacenar archivos, fotocopiadoras, escritorios y computadores.

1.4.4.16 Clasificación primaria según uso

Una primera forma de clasificar los laboratorios de bioseguridad 2 es en zonas húmedas o secas. Una zona húmeda es aquella donde se trabaja con soluciones, las cuales para su manipulación requieren la existencia de mesones con lavabos y sifones, además requieren de la instalación de tubería para la distribución de dichos servicios hidráulicos. Por otro lado, un laboratorio seco es aquel dónde se trabaja con instrumentos electrónicos que requieren pocos servicios hidráulicos y más servicios eléctricos.

¹ Anglicismo comúnmente empleado en arquitectura para designar diversos tipos de aperturas o ductos o pasajes verticales que cruzan a través de los pisos de un edificio.

Cabe resaltar que según el tipo de investigación que desarrollan, los laboratorios también se pueden clasificar según su área de investigación; algunas de las clasificaciones en este tipo de facilidades son: virología, inmunología, fisiología, biología celular, cuartos de cultivo e investigación clínica.

Particularmente, los laboratorios biomédicos (incluyen, biología, bioquímica, biología celular, microscopía, biología molecular y patología) se distinguen por tener espacios adicionales que soportan la actividad de aquellos; estos espacios por lo general cuentan con una zona de esterilización por autoclave y comparten algunos equipos como centrifugas, neveras y congeladores. Para casos específicos se cuenta con espacios tales como cuartos de temperatura controlada, laboratorios de contención, cultivo de tejidos y laboratorios químicos para investigación infecciosa. Los espacios de soporte también deberían ser diseñados por módulos.

1.4.4.17 Cuarto de Neveras o equipos de enfriamiento

En la mayoría de los laboratorios se requiere de un espacio aislado de almacenamiento de reactivos y/o muestras enfriadas y otros equipos para el mismo fin. En este cuarto se ubican equipos tales como: generadores de hielo, cajas de hielo seco, congeladores de nitrógeno líquido, cilindros de nitrógeno líquido, congeladores y neveras. Es un error común no considerar el calor disipado por estos equipos, el cual tiende a desequilibrar la temperatura del laboratorio, particularmente cuando hay una gran cantidad de ellos en su interior. Este cuarto debería ser ubicado cerca de un ascensor de carga y ser equipado con un sistema de ventilación apropiado, refrigeración, desagüe en el suelo y suministro de agua fría.

1.4.5 **Arquitectura de Laboratorios de Bioseguridad 2**

Una vez se han tenido en cuenta las consideraciones técnicas, a nivel arquitectónico es pertinente hacer algunas precisiones para considerar durante el proceso de diseño de los laboratorios.

1.4.5.1 Puertas

Se debe procurar, en el caso del desarrollo de nuevos laboratorios, que las puertas sean de metal o fibra de vidrio de poliéster reforzado (FRP por sus siglas en inglés). La recomendación principal es que, con el fin de garantizar el espacio de circulación, deberían contar con un ancho de 1070 mm y al menos de 2130 mm de alto, esto previendo el ingreso de materiales y equipos regulares; en los casos en que esto no es posible, una puerta regular de 90 cm de ancho es viable, siempre y cuando no se requiera el ingreso de superficies (mesones) ni de equipos de gran tamaño.

En los casos en los que se prevea la adquisición, inmediata o a futuro, de equipos masivos (cualquier dimensión mayor que 1 metro) se recomienda la instalación de doble puerta cuyo ancho deberá ser de 1220 mm como mínimo, de los cuales es recomendable que tenga 910 mm de puerta activa y 300 mm inactiva. En el laboratorio se dispondrá del espacio suficiente para la instalación y mantenimiento de los equipos. En los casos en los que cualquier equipo resulte de mayor tamaño que las puertas comerciales se recomienda prever su instalación durante las labores de adecuación locativa; sin embargo, debe evitarse este tipo de situaciones ya que limitan la flexibilidad del espacio y su diseño modular (NIH, 2008).

Las puertas y vanos deben contar con el espacio apropiado para que puedan pasar a través de ellas las cabinas de bioseguridad y de extracción (tener en cuenta los ángulos y espacios para rotación de los equipos para el ingreso), las cuales son equipos que normalmente se emplean en este tipo de laboratorios.

Si el laboratorio es muy amplio o cuenta con muchas áreas sin salida al exterior, es importante considerar la instalación de puertas de emergencia con apertura hacia afuera; En el caso de los laboratorios con control de flujo de aire, las puertas deben tener algún tipo de sello y los marcos deben estar soldados para evitar el flujo de aire del exterior a la zona de contención.

En el caso de cualquier laboratorio de bioseguridad 2, no es funcional la instalación de puertas corredizas, deslizantes o de acordeón en las entradas o en el interior, pues ellas

no permiten una correcta sanitización del lugar. En caso de encontrarse instaladas se requiere un estricto procedimiento de sanitización y limpieza de las mismas.

Las puertas de uso continuo resultan teniendo tiempos de vida cortos, por lo cual requieren reparaciones y mantenimientos frecuentemente. Las puertas deben estar equipadas con barandillas, zócalos y de ser posible deben ser de apertura magnética. El acceso a los laboratorios debe controlarse ya sea mediante sistema de identificación electrónico o de registro físico, de forma tal que se controlen tiempos de entrada, uso y salida, además de los privilegios de acceso (Weidmann, Silman, Butaye, & Elschner, 2014).

Las manijas de las puertas generalmente usadas para estas instalaciones deben estar en lo posible empotradas y tener perfiles y superficies diseñadas con el fin de no acumular agua o residuos. Los marcos de las puertas deben estar completamente sellados con resina u otro material inerte, para evitar las plagas.

Se recomienda incluir en todas las puertas ventanas de inspección que permitan determinar la presencia de personal al interior de los laboratorios.

1.4.5.2 Divisiones internas

Cuando el espacio disponible para el laboratorio es demasiado amplio, la existencia de divisiones permite la separación de las diversas secciones o módulos que lo conforman y permiten la ampliación de la cantidad de superficies de trabajo, secciones de almacenamiento entre otras; tales divisiones pueden realizarse en diversos materiales y con diferentes fines, como se describe a continuación.

- **Divisiones internas en *Drywall*:** es aceptable la generación de divisiones internas en los laboratorios en estructuras metálicas y paneles en *Drywall*; la estructura debe ser por lo menos calibre 18, tener una profundidad de 90 mm y estar espaciadas 400 mm. La norma internacional vigente contra incendios (National Fire Protection Association, 2006) considera viable la instalación de divisiones de *Drywall* de piso a techo; con respecto a estas, especifica que aquellas instaladas en espacios de altura menor a 2850mm pueden instalarse con soportes de suspensión desde el

techo (ubicados por encima del cielorraso), y en aquellos espacios donde se excede dicha altura, los soportes de suspensión desde el techo deben contar con soportes laterales adicionales en ángulos de 45° a 60° por encima del cielorraso con un espacio máximo de 1800 mm.

Para proporcionar una mayor flexibilidad, en la pared pueden colgarse estanterías y armarios. En este caso se recomienda que la partición o división sea de 100 mm de ancho y cuente con tiras de metal de al menos 1,33 mm de espesor, colocados horizontalmente en ambos lados de los postes en toda la longitud de la partición (NIH, 2008).

- **Divisiones en albañilería en concreto:** Las paredes de concreto deberán ser construidas con el fin de prevenir el agrietamiento. La preparación de superficie deberá permitir una superficie no porosa, lisa y fácil de limpiar. El muro de concreto deberá ser sellado con dos capas (como mínimo) de resina epóxica antes de la aplicación de sistemas de recubrimiento acabado en epoxi. Estas intervenciones son de carácter irreversible, por lo cual se debe tener precaución al realizar su instalación ya que afectará el modularidad de los espacios.

1.4.5.3 Acabados Internos del laboratorio de bioseguridad 2

- **Techos:** Se recomienda que la altura de los techos sea, como mínimo, de 2850 mm en los espacios de laboratorios. Si se tiene cielorraso de paneles de yeso, éstos deben estar pintados con pintura epóxica, y equipados con compuertas de acceso para verificación y mantenimiento de las redes de servicios. Los paneles de acceso estarán provistos de juntas que sellan la puerta cuando está cerrada y la bridas alrededor del borde del panel donde se encuentra con el techo. Techos abiertos son aceptables cuando están presentes conductos y tuberías, en cuyo caso todas las superficies expuestas deben ser lisas y fáciles de limpiar. En todos los casos es pertinente evaluar si la instalación de medias cañas en la unión con la pared es indispensable para la desinfección del lugar (NIH, 2008).
- **Paredes:** Las superficies de las paredes deben estar libres de grietas, con perforaciones selladas y libres de uniones imperfectas de techos y suelos. El

material debe ser capaz de soportar tanto el lavado con detergentes fuertes y desinfectantes como el impacto del tráfico normal.

- **Pisos:** Los pisos deben ser diseñados para dar cabida a diferentes tipos de medios de transporte con ruedas y deberán carecer de cambios bruscos en la elevación. En las áreas de circulación se deben evitar límites elevados, pasos y rampas. A la hora de seleccionar el piso es relevante conocer las características del material, incluyendo:
 - Durabilidad y permanencia
 - Funcionalidad de los espacios
 - Costos de mantenimiento
 - Espacios intersticiales mínimos entre unidades de los pisos
 - Capacidad de transmisión de ruido
 - Acumulación de agua estancada
 - Requerimientos de selladores o de autonivelantes
 - Protección de la humedad e impermeabilización: En todas las áreas "húmedas" se requiere una pendiente positiva con una rampa de 6 mm por cada 300 mm. Los pisos deben tener instalada una membrana impermeable antes de la instalación de los materiales de acabado. La selección del sistema de membranas se debe coordinar con el fabricante del piso.

Teniendo en cuenta dichas características, se recomienda emplear para los laboratorios de bioseguridad 2 las siguientes alternativas, de acuerdo con las observaciones de cada una:

- **Piso de linóleo:** A pesar de ser antiguo, si el laboratorio originalmente cuenta con este terminado, tiende a ser muy duradero y resistente al agua. Deberá garantizarse que las juntas se encuentran en buen estado para garantizar la impermeabilidad del mismo.
- **Piso de caucho:** Los pisos en caucho son aceptados en laboratorios biomédicos, pero no están permitidos en laboratorios de investigación con animales debido a su terminación de baja fricción que facilita la acumulación de material en el suelo.

- VCT (Baldosas de Vinilo): Normalmente se instalan paneles de baldosas de PVC de 3 mm de espesor; sin embargo, no están permitidos en instalaciones de investigaciones con animales. Debe tenerse particular precaución en el proceso de unión de las baldosas, ya sea soldadura química o térmica para no generar rugosidades ni discontinuidades del material. El material debe ascender en contacto con la pared generando media caña de 150 mm.
 - Vinilo en rollo: pueden emplearse en cuartos de cultivo, en cuyo caso debe ser soldada con calor, no con soldadura química, ya que en este caso deja rastro de la unión. No se recomienda en instalaciones de investigación con animales; sin embargo, es aceptable en las áreas que no requieren la misma cantidad de limpieza y desinfección (áreas en las que las jaulas y los animales se mantienen o transportan).
 - Otros materiales pueden ser usados siempre y cuando sean de alta durabilidad, herméticamente sellables, químicamente resistente a las sustancias empleadas para desinfección (peróxidos, ácidos, aminas, glutaraldehído, etanol, entre otros) y sin juntas. Sin embargo, los materiales recomendados deberían ser considerados como primera opción.
- **Ventanas:** La ventana es un elemento importante en el diseño en general que debe satisfacer los requisitos funcionales y estéticos de los espacios. Elementos tales como la dirección de la fuente de luz natural; los efectos de la luz natural en el usuario a lo largo del día, los requisitos para el filtrado, el bloqueo o la reorientación de la luz, el efecto de la luz natural en la decoloración de los materiales, los requisitos para el uso de un monitor de vídeo, etc., deben ser considerados.

En los espacios dotados con control de presión de aire y sistemas de ventilación mecánica, debe considerarse el sello de las ventanas para evitar interferencias con las corrientes de aire filtrado y garantizar la estanqueidad del espacio.

- **Equipamiento básico:** Dentro de las consideraciones arquitectónicas se debe tener en cuenta la ubicación y características de los siguientes equipos, los cuales se consideran equipamiento básico de un laboratorio de bioseguridad 2 y en la mayoría de los casos requieren ser previstos en el diseño o instalados durante los

procesos de construcción y adecuación. Si no son requeridos se puede hacer caso omiso a estas observaciones.

- *Cabinas de extracción:* Esos equipos se requieren en el momento en que al interior del laboratorio se manipulen sustancias químicas que generen vapores o gases tóxicos para el usuario. Deben ser ubicadas distantes de las puertas de laboratorio evitando la obstaculización del tráfico y el ingreso de otros equipos o materiales. Durante el diseño debe considerarse la forma en que las conexiones de estos equipos serán realizadas, pues casi en su totalidad requieren la instalación de un ducto de aire hacia el exterior del laboratorio y un *scrubber* o un filtro para limpieza del aire extraído, entre otros.
- *Cabinas de bioseguridad:* Existen diferentes tipos de cabinas de bioseguridad; la selección de cada una de ellas se realiza de acuerdo con los requerimientos de trabajo al interior del laboratorio. La **Tabla 1-3** presenta los diferentes tipos de cabinas de bioseguridad, sus características y usos comunes.

El tráfico de personal puede ocasionar interrupciones en el patrón del aire dentro de las cabinas de bioseguridad; por lo tanto, se deben ubicar alejadas de los pasillos de paso peatonal. Si se requiere más de una cabina en el mismo espacio no deben ser ubicadas una frente a la otra. En la mayoría de los casos, los laboratorios donde sean ubicadas tendrán sistemas de aire acondicionado y ventilación mecánica; en esos casos, los difusores de suministro de aire o salidas de aire no deben ser colocados directamente sobre o delante de las cabinas de bioseguridad donde el movimiento del aire puede afectar el flujo al interior de la cabina.

- *Autoclaves:* En la mayoría de los laboratorios de bioseguridad, independientemente de su nivel, el autoclave es una herramienta fundamental para garantizar la esterilidad ya sea de los materiales a emplear o de los residuos generados. Es importante considerarlos durante

Tabla 1-3. Clasificación de Cabinas de Bioseguridad. Basada en (Medical University of South Carolina, n.d.)

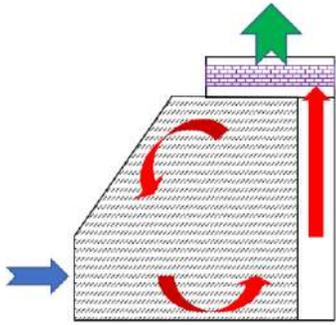
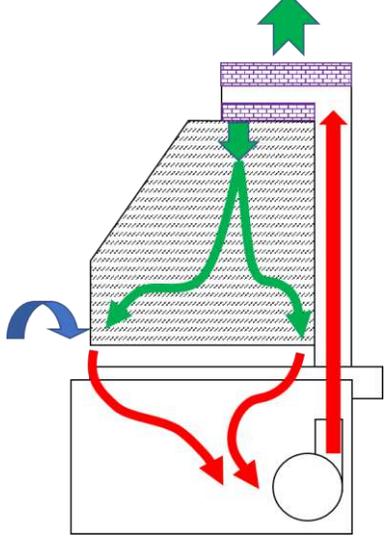
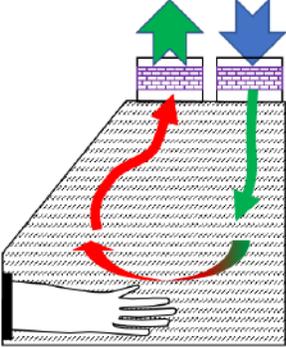
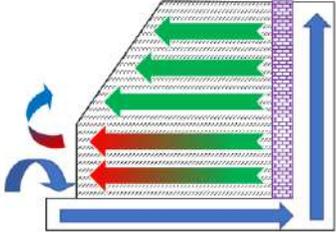
TIPO DE CABINA	CARACTERÍSTICAS	USOS COMUNES
Clase I	 <ul style="list-style-type: none"> - Diseñada para manipulación de patógenos de riesgo bajo o moderado (BSL2 o BSL3). - Garantiza protección para el usuario y el ambiente. - El flujo de aire en su interior es turbulento. - Es el más antiguo modelo de gabinete de bioseguridad. 	Laboratorios de microbiología
Clase 2	 <ul style="list-style-type: none"> - Diseñada para manipulación de patógenos de riesgo bajo o moderado (BSL2 o BSL3). - Provee seguridad para el usuario, el material experimental y el ambiente. - Posee sistemas de succión del aire alrededor del operario por el frente del espacio de trabajo (presión negativa hacia el interior). - En la zona de trabajo se maneja flujo laminar. - La filtración HEPA garantiza protección de la muestra y del aire que se expide hacia el exterior. - Existen 2 tipos de estas cabinas. Las Tipo A recirculan parte del aire al laboratorio y las Tipo B extraen el aire hacia el exterior del edificio. 	Son las cabinas más utilizadas en laboratorios biomédicos y de microbiología.

Tabla 1-3. Clasificación de Cabinas de Bioseguridad. Basada en (Medical University of South Carolina, n.d.)

TIPO DE CABINA	CARACTERÍSTICAS		USOS COMUNES
Clase 3		<ul style="list-style-type: none"> - Diseñada para manipulación de patógenos de alto riesgo (BSL3 o BSL4). - Garantizan la seguridad del usuario, el material y el ambiente. - Se encuentran completamente selladas, por lo que la manipulación del material al interior se realiza a través de guantes sellados. - Cuenta con tecnologías adicionales de descontaminación de materiales para permitir el ingreso y salida de material. 	Laboratorios de investigación en agentes infecciosos mortales. (CDC, NIH)
Cabinas limpias (flujo laminar)		<ul style="list-style-type: none"> - Son gabinetes aparentemente similares a los demás, sin embargo, no garantizan bioseguridad alguna. - Garantizan flujo laminar al interior del área de trabajo. - Solo garantizan la protección del material. 	Laboratorios que requieren cultivo celular.
<p style="text-align: center;">Convenciones:</p> <p> Aire del laboratorio Área de Trabajo Aire contaminado Filtro HEPA Aire Filtrado </p>			

la etapa de diseño de los mismos, ya que son equipos que manejan altas temperaturas, por lo general son pesados y ocupan una cantidad de espacio tan considerable al interior de los laboratorios que, en aquellos casos en los que actúa como barrera de protección biológica, se requiere su instalación a través de una pared. Se recomienda ubicar estos equipos en puntos de buena circulación de aire ya que al realizar apertura de los mismos por lo general se genera vapor.

1.4.6 Consideraciones estructurales

El diseño de las instalaciones de los laboratorios de Bioseguridad 2 implica también tener en cuenta algunas especificaciones desde el punto de vista estructural en cuanto a la carga civil del espacio, características estructurales de pisos, cargas por vibración entre otros. A continuación, se describen brevemente las que se consideran de importancia vital para el funcionamiento de los mismos.

La carga civil regular de un laboratorio de bioseguridad 2 tiene cuatro contribuciones significativas: Equipo de HVAC, adecuaciones estructurales, mobiliario y equipo. Durante el diseño es importante considerar estas cargas, tanto para la selección de los pisos como para la verificación de la capacidad estructural del edificio donde son instalados.

En el caso de equipos masivos, las zonas en donde sean ubicados deben contar con la resistencia civil asociada al uso de los mismos y a la vibración que implica su funcionamiento. Es importante considerar que todos los pasillos y zonas de circulación por donde se ingresen dichos equipos deberán cumplir los requisitos tanto de carga como de integridad superficial para evitar daños innecesarios.

La Tabla 1-4 presenta algunas recomendaciones del NIH respecto a la mínima resistencia a cargas vivas del piso que deben tener algunas áreas según su uso. Teniendo en cuenta dichas consideraciones, se debe verificar que los cimientos de la edificación sean del tamaño, rigidez y fuerza suficiente para resistir todas las cargas a las que serán sometidos sin generar flexiones o hundimientos que pueden resultar en daños al edificio o al proyecto. En aquellas zonas en las que no se cumple el requisito de carga y a efectos de evitar vibraciones y ruidos molestos, se puede situar el equipo contraincendios o zonas de almacenamiento.

Tabla 1-4. Resistencia mínima a cargas vivas recomendada para áreas de laboratorios. Extraída de (NIH, 2008)

Tipo de área	Resistencia mínima a carga viva (kPa)
Área de experimentación animal	5.0
Salas de conferencias	6.0
Zonas de Equipos analíticos	10.0
Almacenamiento en frío o áreas de refrigeración	10.0
Laboratorios	5.0
Áreas de soporte mecánicas	7.5
Espacios de almacenamiento	7.5

Algunos equipos, como por ejemplo microscopios o balanzas, son particularmente sensibles a la vibración. En dicho caso, el sistema estructural debe ser rígido para que las vibraciones transmitidas sólo sean de alta frecuencia, ya que estas pueden ser mitigadas con mayor facilidad en comparación a las de baja. Para controlar la vibración transmitida hacia el laboratorio, éste se debe aislar de fuentes de vibración y ubicar los equipos sensibles a vibraciones en sobre-pisos soportados al nivel del suelo y ubicados cerca de columnas. En la Tabla 1-5 se presentan los valores límite de velocidad de vibración del suelo recomendados para algunas áreas del laboratorio. En caso de que los equipos analíticos requieran de vibraciones muy bajas, adicionalmente al reforzamiento para minimizar vibración se recomienda que se ubiquen sobre mesas anti-vibratorias especializadas (hidráulicas o electrónicas) que garanticen los límites de vibración requeridos.

Ahora bien, conociendo la sensibilidad de los equipos a la vibración, aquellos con menores límites de tolerancia deben ser instalados únicamente luego de terminar los trabajos de adecuaciones locativas y transporte de equipos masivos para evitar posibles daños de calibración.

Tabla 1-5. Tolerancias recomendadas a la vibración para algunas zonas del laboratorio. Extraída de (NIH, 2008)

Espacio o tipo de equipo	Límite de velocidad de vibración ($\mu\text{m/s}$)	Criterio Estructural (kips/in-s)*
Laboratorio general	50	6400
Microscopios sobre mesón con aumento hasta 100X	50	6400
Microscopios sobre mesón con aumento superior a 400X	25	12800
Microscopía electrónica con aumento hasta de 30,000x	12	25600
Microscopía electrónica con aumento mayor a 30,000x, espectrómetro de masa.	6	51200

NOTA: *kip: unidad de fuerza equivalente a 1000 lb_f (sizes.com, 2017)

1.4.7 Consideraciones de sistemas de generación de calor, ventilación y aire acondicionado (HVAC)

El acondicionamiento de las características ambientales de un espacio es fundamental para su buen funcionamiento y el confort del personal; tanto así, que toda una rama de aplicación de ingeniería se ha desarrollado en torno al desarrollo de sistemas de *Heating, ventilation and air conditioning* (HVAC, por sus siglas en inglés).

En este sentido, los sistemas HVAC buscan garantizar un ambiente de trabajo seguro y cómodo. Además, deben ser de fácil mantenimiento y hacer un uso eficiente de energía. Para el caso de los laboratorios de bioseguridad, estos sistemas incluyen sistemas de tratamiento de aire de ingreso y/o salida. Particularmente, en el caso de los laboratorios de bioseguridad 2 las velocidades y presiones requeridas dependerán de la necesidad de protección del usuario o del objeto de estudio.

Para el caso de los laboratorios BSL2 cuyo objetivo principal sea la protección de las muestras, experimentos o productos en su interior, se recomienda manejar condiciones de presión positiva, con aire limpio mediante filtros HEPA, de forma tal que garanticen flujo hacia el exterior del aire e impidan el ingreso de aire sin filtrar al laboratorio. En los casos en que adicionalmente el producto o muestra pueda generar afectación en el personal del

laboratorio o el ambiente, se instalan sistemas de extracción de forma tal que todo el aire que salga del laboratorio sea tratado para garantizar su inocuidad.

La temperatura en el espacio del laboratorio debe ser regulada; por lo general, esto se logra mediante la instalación de sistemas de control de temperatura y humedad en el sistema HVAC. Por razones de limpieza y desinfección se recomienda que no se instalen sistemas de enfriamiento o calentamiento de aire al interior del laboratorio (serpentines o *mini-splits*).

1.4.7.1 Sistemas de distribución de aire

El suministro, la extracción y la salida del aire será por ductos para todos los espacios, y en cada caso debe tomarse de o liberarse al exterior del edificio; debe evitarse tomar aire de los espacios en el techo, salas de máquinas mecánicas o pasillos. No se permite la circulación del aire directamente entre áreas, excepto en los baños, vestuarios y armarios. La circulación también puede ocurrir entre pasillos adyacentes a una zona de presión negativa o fuera de las áreas de presión positiva.

El sistema de distribución de aire debe estar diseñado para minimizar las turbulencias y para evitar un impacto en el rendimiento de los equipos de contención primaria como cabinas de extracción química y cabinas de bioseguridad; para estos casos, los difusores de aire no deben ubicarse frente a estos equipos para evitar interferencias en los flujos de los mismos. Así mismo, las rejillas de escape y extracción deben ubicarse lejos de difusores de aire de suministro para mantener uniformidad en la zona y lograr mantener un flujo de aire bajo a través de la misma.

En general, si es posible, en los edificios en que se ubiquen los laboratorios de bioseguridad se debe procurar contar con suficiente suministro de aire de forma tal que sea suficiente para mantener una presión total del edificio positiva. Esto reduce significativamente la saturación de los filtros instalados en los laboratorios y facilita el control de las presiones al interior de las áreas de biocontención.

La selección y el uso de los equipos que serán utilizados al interior del laboratorio como: refrigeradores, congeladores, centrifugas, autoclaves, lavadoras de cristalería, cabinas de bioseguridad, campanas de extracción, entre otros, afectan las temperaturas y flujos de aire al interior del laboratorio; por esta razón, deben ser establecidos desde la fase de diseño para que las redes mecánicas y eléctricas soporten los requerimientos de los equipos específicos. Por ejemplo, es necesario contemplar los requerimientos de los equipos, como la emisión de calor, el consumo de energía, consumo de servicios públicos, los cuales estarán incluidos en el diseño de los sistemas de climatización. Si el espacio para la ubicación de los equipos se contempla durante esta etapa, es posible garantizar el acceso de todas las tuberías, cableado y conexiones de los conductos, de forma tal que sean de fácil limpieza, mantenimiento y reparación.

Particularmente, los gabinetes de almacenamiento de inflamables no deben estar ventilados, pues en caso de incendio, la propagación se daría por el ducto de ventilación; teniendo esto en consideración, tampoco deben estar ubicados debajo de cabinas de extracción ya que una vez generada una conflagración, el ducto de ventilación de la cabina promovería su propagación. Por el contrario, los gabinetes de almacenamiento de sustancias corrosivas deben tener ventilación y se ubican por lo general bajo las cabinas; los ductos de extracción de los mismos deberán ser considerados en los sistemas HVAC del laboratorio.

Las consideraciones con respecto a la instalación de las cabinas de bioseguridad o extracción deben tenerse en cuenta en el montaje y diseño de los sistemas HVAC generales. La clave en el diseño del sistema es que se ajuste automáticamente con el fin de mantener la presión negativa o positiva al interior del laboratorio al encender o apagar la extracción de las cabinas.

1.4.7.2 Cuartos climatizados

Los cuartos climatizados pueden ser de temperatura constante, cuartos fríos o calientes. Con el fin de facilitar la verificación de las condiciones, se deben instalar dispositivos al interior y exterior de los espacios controlados que permitan la lectura de la temperatura y humedad de los mismos. La ventilación de los cuartos climatizados debe ser diseñada de acuerdo a las directivas de ASHRAE (*American Society of Heating, Refrigerating and Air-*

Conditioning Engineers); sin embargo, si el espacio climatizado está destinado principalmente para funciones de almacenamiento no requiere ductos de ventilación.

Los cuartos fríos deben estar provistos de unidades condensadoras remotas, las cuales debe procurarse no sean instaladas encima de la habitación para evitar la vibración y ruido de dichos sistemas; de igual manera, los componentes asociados al funcionamiento del sistema de aire acondicionado deben ubicarse fuera de la habitación. Debe tenerse a consideración la ventilación y la disipación de calor que se requiere para el funcionamiento de los equipos de condensación, por lo cual se requiere la instalación de los sistemas que para este fin sean necesarios.

En aquellos casos en que el laboratorio cuente con espacio suficiente para disponer los servicios en una sala específica de equipos mecánicos como calderas, refrigeración, bombas, unidades de tratamiento de aire, ventiladores, autoclave y equipos de lavado, entre otros, su ventilación debe mantenerse totalmente independiente a la de los espacios de bioseguridad con el fin de minimizar el riesgo de contaminación cruzada.

1.4.7.3 Velocidad de ventilación en los espacios de laboratorio

Como regla general, con el fin de mantener un buen nivel de confort, los laboratorios deben garantizar como mínimo 6 cambios de aire por hora en su sistema de ventilación. En condiciones de bioseguridad este flujo de aire mínimo debe mantenerse todo el tiempo, incluyendo los periodos desocupados. El sistema de ventilación debe diseñarse para remover todo el calor disipado por todos los equipos dentro del laboratorio y todos los requisitos de extracción de las campanas de extracción, cabinas de bioseguridad, esterilizadores, etc. La normatividad con respecto a HVAC ha estandarizado las velocidades a considerar para los diseños de estos sistemas; la Tabla 1-6 presenta un resumen de dicha información.

1.4.7.4 Filtración del aire

El aire, dependiendo de su aplicación y características, se puede clasificar de diferentes maneras; la Tabla 1-7 presenta una recopilación de las características del aire de acuerdo al estándar internacional actual (ISO 14644) y sus predecesores.

Tabla 1-6. Velocidad típica de diseño del aire en sistemas HVAC. Adaptada de (NIH, 2008).

Elementos	Sistema(s)	Velocidad máxima (m/s)
Ductos	Hasta 500 Pa. Presión en el eje mecánico	7,6
	Conductos encima de áreas ocupadas	6,1
	Dispositivos salida de aire	3,8
	750 Pa hasta 1000 Pa. Presión en ejes mecánicos	12,7
	Conductos encima de áreas ocupadas	10,2
	Aire del exterior	7,6
Ventiloconvectores	Enfriamiento/ bobinas de deshumidificación	2,3
	Bobinas calentamiento- agua de caliente	2,5-3,8
Filtros	Filtro de choque en medio viscoso	1,0-4,0
	Filtro de superficie plana y extendida (baja eficiencia)	Velocidad del ducto
	Filtro plegado	2,5
	Filtro HEPA	1,3
Rejillas	Suministro	2,5
	Extracción	3,8

Para garantizar la calidad del aire en las áreas de bioseguridad se emplean filtros de diversas especificaciones y calidades. Los más empleados son los filtros HEPA (*High efficiency particulate air*, por sus siglas en inglés); aunque su desarrollo inició en la década de 1940, ya en los 70's se comercializaban ampliamente y se habían desarrollado filtros de mayor eficiencia que se denominaron ULPA (*Ultra Low Penetration Air*) (filtnews.com, 2017). Debido a la gran diversidad de directrices y normativas al respecto, se desarrolló el estándar internacional ISO 29463-1:2011 relacionado con la clasificación y eficiencia de tales filtros, de donde se extrajo la información presentada en la Tabla 1-8, la cual presenta la eficiencia promedio de retención de partículas de tamaño mayor a $3\mu\text{m}$ para cada clase de filtro.

Tabla 1-7. Clasificación de aire limpio en espacios controlados. Adaptada de (BSI, 1989; ISO, 2015; U.S. General Services, 1992)

Normativa	CLASE	Máxima concentración de partículas por m ³ de aire							
		0,1 µm	0,2 µm	0,3 µm	0,5 µm	1 µm	5 µm	10 µm	25 µm
ISO 14644-1-2015 ^a	ISO 1	10 ^b	d	d	d	d	d		
	ISO 2	100	24 ^b	10 ^b	d	d	d		
	ISO 3	1000	237	102	35 ^b	d	d		
	ISO 4	10000	2370	1020	352	83 ^b	d		
	ISO 5	100000	23700	10200	3520	832	d,e		
	ISO 6	1000000	237000	102000	35200	8320	293		
	ISO 7	c	c	c	352000	83200	2930		
	ISO 8	c	c	c	3520000	832000	29300		
	ISO 9 ^f	c	c	c	35200000	8320000	293000		
BS 5295 ENVIROMENTAL CLEANLINESS CLASSES ^h	C			100	35		0	g	g
	D			1000	350		0	g	g
	E			10000	3500		0	g	g
	F			g	3500		0	g	g
	G			100000	35000		200	0	g
	H			g	35000		200	0	g
	J			g	350000		2000	450	0
	K			g	3500000		20000	4500	500
	L			g	g		200000	45000	5000
	M			g	g		g	450000	50000
.Federal Standard 209E	1	35	7,5	3	1				
	10	350	75	30	10				
	100		750	300	100				
	1000				1000		7		
	10000				10000		70		
	100000				100000		700		

a. Las concentraciones en esta tabla son acumulativas, es decir, para la clase ISO 5, las 10200 partículas registradas para 3 µm incluye todas las partículas de igual o mayor tamaño.

b. Estas concentraciones requieren muestras de mayor volumen para ser cuantificadas.

c. Las concentraciones en estos tamaños no aplican debido a la alta concentración de este tamaño de partícula.

d. Esta clasificación es inapropiada debido a las limitaciones estadísticas para el conteo de tan bajas concentraciones.

e. La cuantificación es limitada debido al gran tamaño de las partículas, ya que es posible perder parte de las muestras en los sistemas de recolección.

f. Esta clasificación solo aplica para sistemas que ya se encuentran en estado de operación.

g. No significativa.

h. Normativa predecesora de la ISO 14644.

■ La norma no hace mención de estos tamaños de partícula.

Tabla 1-8. Clasificación de filtros de alta eficiencia. Extraída de (ISO, 2011)

Clasificación	Eficiencia promedio (%)	Penetración %
ISO 15 E	≥ 95	NA
ISO 20 E	≥ 99	NA
ISO 25 E	≥ 99.5	NA
ISO 30 E	≥ 99.90	
ISO 35 H	≥ 99.95	≤ 0.25
ISO 40 H	≥ 99.99	≤ 0.05
ISO 45 H	≥ 99.995	≤ 0.025
ISO 50 U	≥ 99.999	≤ 0.005
ISO 55 U	≥ 99.9995	≤ 0.0025
ISO 60 U	≥ 99.9999	≤ 0.0005
ISO 65 U	≥ 99.99995	≤ 0.00025
ISO 70 U	≥ 99.99999	≤ 0.0001
ISO 75 U	≥ 99.999995	≤ 0.0001

Conforme se selecciona una mejor clase de filtro, su costo de fabricación aumenta y por lo tanto el costo de mantenimiento; esto se verá reflejado en el incremento de los costos promedio de mantenimiento del laboratorio ya que uno de los consumibles más costosos es este tipo de filtros. De hecho, para el año 2017 los precios de filtros HEPA oscilan entre 2 y 5 millones de pesos por panel, dependiendo de la categoría. A razón de esto, se debe minimizar la cantidad de filtros especializados que se instalen en los laboratorios.

Aún en el caso de que en el presente el sistema de extracción no requiera la filtración HEPA, es recomendable que el diseño incluya provisiones para poder realizar posteriormente la instalación de la misma, de forma que se garantice que en el futuro pueda emplearse para otras aplicaciones.

Las corrientes de extracción de aire del laboratorio pueden ser de aire seco, como en el caso de las cabinas de extracción y el interior del laboratorio, o pueden ser húmedas como las extracciones que se realizan cerca de equipos como esterilizadores y autoclaves ya que el aire en estas áreas tiende a tener un contenido alto de humedad. A raíz de esta diferencia, en caso de existir ambos casos en el laboratorio, deberán ser manejados por sistemas de ventilación diferentes, ya que los filtros a emplearse deben ser de diferentes materiales.

En los casos en que los solventes o compuestos que son extraídos de las campanas, puedan ser tóxicos, altamente inflamables o encontrarse en altas concentraciones se recomienda la inclusión de un filtro de carbón activado o un sistema de lavado del aire antes de la liberación del aire al ambiente.

1.4.7.5 Redundancia

Los sistemas HVAC deben garantizar operación continua; por esta razón se diseñan en arreglos con múltiples ventiladores a forma de *bypass* de forma que cada ventilador pueda ser aislado de la red principal mientras ésta sigue siendo completamente funcional. Sin embargo, debido al costo de estos equipos, se recomienda que la redundancia sea de N+1 ventiladores por requerimiento de aire, donde N es el requerimiento de ventiladores de diseño.

1.4.7.6 Ruido y vibración

El funcionamiento de los sistemas HVAC suele generar altos niveles de ruido y vibración que pueden ser amortiguados si son previstos durante la instalación del mismo. El NIH recomienda no superar ciertos niveles máximos para proveer confort al personal; la Tabla 1-9 presenta un resumen de las recomendaciones de esta institución para los espacios.

Tabla 1-9. Niveles máximos permitidos de ruido. Adaptada de (NIH, 2008)

AREA	MÁXIMO NIVEL DE RUIDO NC (NOISE CRITERIA)
Cuartos de conferencias	25-30
Oficinas	30-35
Salones de clases	30-35
Oficinas abiertas	35-45
Comedores, oficinas y vestíbulos	40
Quirófanos	40-45
Laboratorios de investigación	40-45
Pasillos y áreas de apoyo	45

A pesar de que las unidades de ruido más conocidas son los decibeles (dB), esta unidad es relativa y no tiene en cuenta la frecuencia del ruido que se está generando. Las unidades NC presentadas en la Tabla 1-9 son el estándar internacional actual para su cuantificación y puede establecerse su equivalencia de acuerdo con la información contenida en la Tabla 10.

Tabla 1-10. Equivalencia en dB de las unidades NC con respecto a la frecuencia del sonido. Extraído de (Engineering toolbox, 2017)

NC	Frecuencia (Hz)							
	63	125	250	500	1000	2000	4000	8000
NC-15	47	36	29	22	17	14	12	11
NC-20	51	40	33	26	22	19	17	16
NC-25	54	44	37	31	27	24	22	21
NC-30	57	48	41	35	31	29	28	27
NC-35	60	52	45	40	36	34	33	32
NC-40	64	56	50	45	41	39	38	37
NC-45	67	60	54	49	46	44	43	42
NC-50	71	64	58	54	51	49	48	47
NC-55	74	67	62	58	56	54	53	52
NC-60	77	71	67	63	61	59	58	57
NC-65	80	75	71	68	66	64	63	62
NC-70	83	79	75	72	71	70	69	68

1.4.8 Consideraciones del sistema hidrosanitario

1.4.8.1 Capacidad

En general, el diseño de la distribución de las tuberías se debe basar en el diseño modular; asimismo debe garantizar la fiabilidad, maximizar la flexibilidad operativa y la capacidad de renovación, no debe interferir con la investigación, minimizar la interrupción debido a fallas y debe facilitar los mantenimientos de rutina.

Un objetivo primordial de los sistemas de distribución es minimizar la penetración del suelo en las áreas de laboratorio una vez son instalados; por esta razón se recomienda que la red de servicios y los ductos sean dimensionados para proporcionar un exceso de carga mínimo de un 20% para permitir un futuro aumento en la demanda del servicio. En caso de llevar a cabo la ampliación y que la carga de diseño se alcance, los sistemas adicionales

deben ser completamente independientes para no sobrecargar las redes existentes y limitar el uso del servicio de agua en los diversos puntos ya instalados en el laboratorio. El equipo de arquitectura e ingeniería debe tener en cuenta el exceso y sobreuso con el fin de mantener un funcionamiento eficiente para el perfil normal de carga de operación.

Una vez que la capacidad instalada sea alcanzada, se deberá instalar sistemas adicionales para servir a nuevos equipos o áreas renovadas aparte de los sistemas existentes y se deberá asegurar que el sistema existente no se verá afectado de manera adversa como resultado del nuevo trabajo; esto implica que se debe estudiar la capacidad de la infraestructura y de los sistemas existentes mucha más allá del punto previsto real de la conexión para asegurarse correctamente que es suficiente para las futuras demandas del espacio.

1.4.8.2 Ruido y vibraciones

Las instalaciones de equipos hidrosanitarios y tuberías deberán estar diseñadas para evitar la transferencia de ruido y vibración más allá de los límites previamente mencionados, incluyendo el uso de soportes elásticos, bases amortiguadoras de vibración, conectores flexibles o mangueras trenzadas en su caso, y otras consideraciones que se requieran antes de la instalación.

Se deben tener en cuenta los criterios máximos de ruido y vibraciones aceptables para la selección, la ubicación y el diseño del sistema de cada equipo. Cuando se usen dispositivos de conexiones flexibles para disminución de ruido, vibración, o movimiento debido a expansión y contracción, éstos deberán ser compatibles para su uso con el sistema de fluidos, incluyendo la limpieza, la pureza y la selección de materiales elastómeros, la temperatura y presión máximos.

1.4.8.3 Suministro de agua

El agua de las instalaciones de los laboratorios se suministra en la mayoría de los casos a partir de una tubería derivada de la red general del edificio; teniendo en cuenta que esta agua es potable, puede emplearse en labores del laboratorio que no requieren sanitización

como aseo y sistemas de protección contra incendios. El suministro de agua de mayor pureza será descrito posteriormente.

1.4.8.4 Requerimientos de presión y flujo

Los sistemas de distribución de agua deberán ser diseñados para proporcionar el flujo requerido y la presión hidráulica de los equipos; se recomienda que el sistema sea diseñado para proporcionar al menos 280 kPa de presión residual en la salida más cercana al sistema de suministro de agua del laboratorio.

Tabla 1-11. Criterios importantes de dimensionamiento de tuberías de suministro hidráulico. Extraído de (NIH, 2008)

Tipo	Velocidad recomendada	Pérdida de cabeza de presión (caída recomendada por cada 30 m lineales de tubería)
Tuberías de agua caliente y fría en cobre	1,8 m/s	2,4 m (en líneas principales) 3,6 m (en ramificaciones)
Agua a altas temperaturas > 62 °C	1,2 m/s	2,4 m
Recirculación de agua caliente	1,2 m/s	2,4 m
Agua ablandada	1,2 m/s	2,4 m

1.4.8.5 Redes de suministro de agua de alta pureza

En la mayoría de los laboratorios BSL2 se requiere agua de alta pureza para análisis y para el funcionamiento de equipos como autoclaves o incubadoras. Esta calidad de agua se puede lograr con equipos de laboratorio cuando la demanda en volumen no es tan alta (<10L/h); de lo contrario se recomienda la instalación de equipos de mayor escala para el tratamiento del agua. La **Tabla 1-12** presenta un comparativo de las propiedades del agua tratada mediante diferentes procesos y el tipo de categoría que se obtiene en cada caso.

Tabla 1-12. Comparativo de calidades de agua de acuerdo a diferentes normativas nacionales e internacionales. Adaptada de (Puretec, n.d.)

NORMA O DIRECTRIZ		ASTM D1193-91							ISO 3696			USP		Res. 2115/2007
Medida	Unidades	Tipo I	Tipo II	Tipo III	Tipo IV	Subtipo A*	Subtipo B*	Subtipo C*	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Purificada	Para inyección	Potable
Resistividad	MΩ-cm	> 18	> 1	> 4	> 0.2									
Conductividad	μS/cm	< 0.056	< 1	< 0.25	< 5.0				< 0.1	< 1.0	< 5.0	< 1.3	< 1.3	1000
pH @ 25°C		N/A	N/A	N/A	5.0 - 8.0				N/A	N/A	5.0 - 7.0			6.5 - 9.0
Carbono orgánico total (TOC)	ppb o μg/L	< 50	< 50	< 200	N/A							< 500	< 500	5000
Sodio	ppb o μg/L	< 1	< 5	< 10	< 50									
Cloruros	ppb o μg/L	< 1	< 5	< 10	< 50									250000
Sílica	ppb o μg/L	< 3	< 3	< 500	N/A				< 10	< 20	N/A			
DQO	mg/mL								N/A	< 0.08	< 0.4			
Sólidos totales disueltos	mg/kg													
Conteo de bacterias heterotróficas	UFC/mL					< 1	< 10	< 1000				< 100	< 0.1**	
Endotoxinas	Unidad/mL					< 0.03	< 0.25	N/A				N/A	< 0.25	
CLASIFICACIÓN GENERAL		DI	DS	T	T	T	T	T	DI	DS	T	T	WFI	PT

NOTAS:

* Subtipos de los Tipos presentados. ** Calculado como 10 unidades/100ML

Las celdas de color gris no se encuentran registradas en el documento evaluado

PT = Agua Potable, T= Agua Tratada, DS = Agua Destilada, DI = Agua Desionizada, WFI = Agua para Inyección

Las tecnologías para purificar el agua funcionan bajo los mismos principios y el cambio radica en un factor de escala. Entre los métodos más comunes para obtener estos tipos de agua se encuentran:

- **Osmosis inversa:** Es normalmente utilizada como tratamiento primario para el agua potable junto con desionización o destilación. Como tratamiento secundario, se emplea para garantizar el punto de uso de los parámetros del agua **Sistemas de agua desionizada:** El agua desionizada es usada para experimentos y lavado del equipo y material de vidrio del laboratorio. El sistema central de desionización de agua no es usado típicamente para suministrar agua desionizada a lo largo de un edificio de laboratorios, pero puede ser necesaria para abastecer de agua una instalación de lavado central. Un equipo pequeño de desionización es utilizado localmente para requerimientos individuales de un laboratorio. Los equipos mencionados deben producir agua, que de acuerdo con la normatividad vigente presentada en la **Tabla 1-12**, puede ser tipo 2 de acuerdo con la norma ASTM D1193-91 o Grupo 2 según la norma ISO 3696.
- **Sistemas de agua destilada:** El agua destilada puede ser obtenida desde la central del sistema de agua destilada o desde un punto local dentro del laboratorio. El vapor se utiliza en la producción para los sistemas de agua destilada centrales; la electricidad se utiliza para pequeños sistemas locales. Las centrales de los sistemas de destilación deben ser de titanio y politetrafluoroetileno o tanques de almacenamiento con revestimientos de titanio y estará dimensionado para asegurar el volumen de agua diaria. Los equipos mencionados deben producir agua, que de acuerdo con la normatividad vigente presentada en la **Tabla 1-12**, puede ser tipo 1 de acuerdo con la norma ASTM D1193-91 o Grupo 1 según la norma ISO 3696. El agua destilada puede ser posteriormente desionizada y desgasificada donde se requiere agua ultra pura.
- **Agua para inyección (WFI):** Esta agua se emplea para la generación o manipulación de sustancias de uso farmacéutico; de acuerdo con la información disponible en la **Tabla 1-12**, los diferentes tipos de agua estandarizados mediante la ASTM D1193-91 o la norma ISO 3696 requieren, en todos los casos, tratamientos

adicionales que garanticen la reducción de contenido biológico con el fin de garantizar la calidad exigida. La guía USP que estandariza la producción de este tipo de agua especifica adicionalmente que con el fin de mantener su calidad, este tipo de agua debe mantenerse a una temperatura mayor que 80°C desde su punto de producción y durante toda su distribución o almacenamiento (United States Pharmacopeia, 2014)

Una vez el equipo instalado ha producido el agua de las características deseadas, debe procurarse que la red cuente con una pendiente tal que no permita la acumulación del agua purificada en ningún punto y así se mantenga la calidad obtenida sin permitir la contaminación por agentes biológicos de la misma.

1.4.8.6 Sistema de drenaje

El sistema de drenaje para un laboratorio BSL2 puede ser el mismo sistema de drenaje de un laboratorio estándar siempre y cuando en su interior se mantengan controlados los efluentes en sus características de bioseguridad, pH, corrosividad, inflamabilidad, entre otros.

Con el ánimo de garantizar las condiciones de inocuidad de los efluentes líquidos se puede optar por diferentes soluciones de inactivación de los residuos, mediante lo que hoy se conoce como tecnología *biowaste*, que consiste en sistemas especializados en la inactivación biológica por medio de procesos térmicos y/o químicos de cualquier tipo de residuo líquido, provenientes de procesos de producción, muestreos, análisis e instalaciones auxiliares (Environmental xpirt, 2017).

1.4.9 Consideraciones del sistema eléctrico

Prever desde la fase de diseño la futura ampliación de las redes eléctricas es también un requisito indispensable en los laboratorios; de hecho, es tan diferente el panorama en la actualidad que no solo se deben tener en cuenta las cargas y disponibilidad de acceso a redes para los equipos sino que incluso resulta pertinente garantizar conectividad adicional para lo que consideramos equipos móviles que hacen parte de la vida diaria del investigador como tabletas, portátiles, cámaras digitales, celulares, entre otros.

El primero de mayo de 2005 entró a regir en Colombia el Reglamento Técnico de Instalaciones Eléctricas - RETIE. Este reglamento establece medidas que garanticen la seguridad de las personas, de la vida animal y vegetal y de la preservación del medio ambiente, previniendo, minimizando o eliminando los riesgos de origen eléctrico (Ministerio de Minas y Energía, 2008). El diseño del tendido eléctrico, ductos de distribución y componentes del sistema eléctrico deberá garantizar el cumplimiento de esta normativa.

1.4.9.1 Cargas eléctricas

Durante la fase de diseño es importante haber dimensionado total o parcialmente los equipos a emplear, de forma tal que sus consumos de energía eléctrica sean tenidos en cuenta. Los cálculos preliminares de las cargas eléctricas permiten dimensionar si la capacidad instalada en el edificio es suficiente. Adicionalmente al consumo eléctrico de los equipos, resulta importante considerar la carga de iluminación normal y de emergencia, así como los requerimientos de puntos regulados. Con respecto a los laboratorios de bioseguridad 2, el NIH brinda un aproximado general de requerimientos de carga, los cuales se presentan en la **Tabla 1-13**. Dado que la información presentada en dicha tabla es una generalización, es necesario considerar el equipamiento específico de cada una de las áreas que hagan parte del laboratorio de bioseguridad y se debe realizar el cálculo de la potencia para cada laboratorio en particular. Resulta de suma importancia considerar un exceso de carga de forma tal que permita ampliar a futuro la capacidad del laboratorio.

Tabla 1-13. Carga eléctrica aproximada en facilidades BSL2. Adaptada de (NIH, 2008)

Área	Carga aproximada VA/m ²
Iluminación	27-38
Tomacorrientes	48-215
HVAC	97-108
Equipos de laboratorio	43-86
Ascensores	11-16
Varios	11-22
Rango total	237-485

1.4.9.2 Energía de emergencia

El laboratorio debe contar con un sistema de energía de emergencia que debe estar diseñado para cumplir las normas y estándares aplicables. Es obligatorio que el laboratorio cuente con iluminación de emergencia para que sea posible realizar una correcta evacuación en caso de corte de suministro eléctrico, especialmente en los laboratorios que no cuenten con luz natural o que realicen actividades en períodos nocturnos.

Dependiendo de las actividades propias del laboratorio, puede requerirse carga de emergencia para mantener en operación refrigeradores, incubadoras o equipos analíticos, entre otros; es así cómo la carga definitiva que tendrá la red eléctrica de emergencia se va incorporando durante el diseño de la red eléctrica. La **Tabla 1-14** presenta una posible configuración de conexión a suministro de emergencia de cada sistema eléctrico del laboratorio.

1.4.9.3 Sistema de alimentación ininterrumpida (UPS).

Los sistemas UPS (*Uninterruptible Power Supply*) son dispositivos que proveen respaldo eléctrico cuando existe un fallo en el suministro eléctrico o éste cae a un voltaje menor del requerido. Estos equipos pueden proveer energía eléctrica por algunos minutos (en los modelos más pequeños) tiempo suficiente para apagar adecuadamente un computador o un equipo con un sistema electrónico delicado; sin embargo, aquellos sistemas con mayor capacidad de batería pueden mantener los equipos encendidos hasta por varias horas (PC Magazine Encyclopedia, 2017).

Durante el diseño de la red eléctrica se debe tener en cuenta la ubicación de estos equipos al interior del laboratorio y la disposición para la conexión de los equipos que lo requieran

1.4.9.4 Iluminación

A partir del 1 de abril de 2010, empezó a regir el Reglamento Técnico de Iluminación y Alumbrado Público (RETILAP) para las empresas que trabajan en el sector de la iluminación y el alumbrado público. Este reglamento establece los requisitos y medidas que deben cumplir los sistemas de iluminación y alumbrado público, tendientes a garantizar

Tabla 1-14. Equipos a considerar para conexión a sistema eléctrico de emergencia. Elaborada a partir de (NIH, 2008; OMS, 2005)

Sistema	Energía de emergencia principal	Energía de emergencia secundario o adicional.	Energía de emergencia opcional
Característica adicional	Vital para garantizar bienestar del operario	Que requieren carga en <i>stand by</i>	No necesariamente con carga en <i>stand by</i>
Equipos comúnmente conectados	<ul style="list-style-type: none"> • Iluminación de salidas y rutas de escape. • Alarmas de incendios • Sistemas de comunicación • Sistemas contra incendios (válvulas, compresores, bomba contraincendios) • Sistemas de seguridad, detección de intrusos y controles de acceso. • Sistema de automatización de edificios incluyendo el control del compresor de aire. • Puertas automáticas utilizadas como ruta de escape • Generador bomba de alimentación tanque de servicio diario. 	<ul style="list-style-type: none"> • Sistemas evacuación aguas residuales • Bombas de sumidero • Bombas desagüe • Cuartos de operaciones • Suministros críticos y extractores • Sistemas de tratamiento de aire asociados con la purga/evacuación de humos 	<ul style="list-style-type: none"> • Sistema de alimentación ininterrumpida (UPS) • Elementos control de temperatura • Equipos auxiliares que respaldan los sistemas de calentamiento / enfriamiento • Mínimo una fuente de luz por laboratorio • Cabinas de bioseguridad, incubadoras, dispositivos de confinamiento, etc. • Sistemas de monitoreo y alarma de los equipos de laboratorio • Refrigeradores, congeladores, cuartos fríos y cuartos climatizados de alto valor para especímenes • Circuito de televisión cerrada • Sistemas de control de iluminación • Iluminación seleccionada en cuartos mecánicos y equipos de distribución eléctrica. • Unidades de tratamiento de aire en cuartos de cómputo • Agua de refrigeración, torres de enfriamiento, bombas y otros equipos que suplan áreas críticas • Bombas de condensado • Bombas de agua de servicio • Sistemas de calentamiento eléctrico para fluidos de transferencia de calor • Otros equipos críticos previamente identificados

los niveles y calidades de la energía lumínica requerida en la actividad visual, la seguridad en el abastecimiento energético, la protección del consumidor y la preservación del medio ambiente, previniendo, minimizando o eliminando los riesgos originados por la instalación y uso de sistemas de iluminación (Ministerio de Minas y Energía, 2010). Teniendo en cuenta esta normativa, los sistemas de iluminación de los laboratorios BSL2 tendrán que considerar las recomendaciones de bioseguridad en conjunto con este marco normativo nacional.

Los sistemas de iluminación deben ser diseñados para asegurar que el riesgo biológico esté contenido dentro del área de trabajo. Las fuentes de luz deben abrirse fácilmente para permitir una descontaminación completa.

Iluminación de emergencia.

Si hay una falla de energía, el personal en los cuartos confinados nunca debe estar en completa oscuridad. Por lo menos en cada cuarto debe haber una luminaria con balastos de emergencia. Éstas deben estar conectadas al suministro de emergencia.

1.4.10 Consideraciones respecto a sistemas adicionales.

A pesar de que las consideraciones que se presentan en los acápites previos son las más importantes al interior de los laboratorios, cabe resaltar una serie de sistemas periféricos que suelen pasarse por alto en la fase de diseño y son de vital importancia para el funcionamiento del laboratorio.

1.4.10.1 Gases especiales y gas natural:

Dependiendo de los equipos que se encuentren al interior del laboratorio se requerirá el suministro de gases especiales como CO₂, N₂, O₂, aire comprimido, acetileno y gas natural, entre otros. En los casos en los que el edificio donde se ubica el laboratorio cuente con un espacio de acopio y distribución de gases especiales y/o gas natural, se debe considerar el tendido de tubería que se requiere para la conexión con el laboratorio, procurando minimizar la bioseguridad del mismo. Para los casos en que los cilindros de gases estén almacenados dentro de una zona de trabajo, el espacio que ocupen deberá estar aislado por paredes construidas de materiales incombustibles, con salidas de emergencia. Se

deberá cumplir con todas los demás requisitos impuestos principalmente en el Capítulo 3 de la Resolución 2400 de 1979 (Ministerio de Trabajo y Seguridad Social, 1979).

1.4.10.2 Sistema contraincendios:

El Reglamento Colombiano de Construcción Sismo Resistente NSR10 en sus capítulos “J. Requisitos de Protección Contra Incendio en Edificaciones” y “K: Requisitos Complementarios” presenta los requisitos mínimos que toda edificación deberá cumplir para la protección contra incendio de acuerdo a su uso y grupo de ocupación (Comisión Regimen de Construcciones Sismo Resistentes, 2010); sin embargo ésta normatividad está concebida para edificaciones nuevas y no contempla diferencias en las características de los sistemas contraincendios para laboratorios de bioseguridad.

En los casos de requerir la adaptación de sistemas contraincendios en edificaciones antiguas se deben tener en cuenta otras normativas como la NFPA 101, la cual remite directamente a la NFPA 45 en lo que a laboratorios (nuevos y existentes) respecta (National Fire Protection Association, 2000, 2004). Esta última clasifica los espacios de laboratorio de acuerdo con la cantidad de líquidos inflamables contenido en el mismo; teniendo en cuenta que los laboratorios de bioseguridad 2 tienen un énfasis biológico, regularmente no almacenan grandes cantidades de inflamables y se constituyen como espacios tipo C o D “*low* ó *minimal fire hazard* respectivamente) para los cuales es posible la instalación de sistemas de rociadores automáticos. En aquellos casos en los que el laboratorio cuente con una cantidad considerable o una inversión considerable en equipos electrónicos, se recomienda optar por sistemas de rociadores de espumas que no generen daño a dichos equipos. Se recomienda que en simultáneo se realice la instalación del sistema de detección y alarma contraincendios correspondiente y se distribuyan al interior del laboratorio extintores de acuerdo con la norma NFPA 10.

1.4.10.3 Sistema de voz y datos

La conectividad del laboratorio con el exterior depende particularmente de sus conexiones de voz y datos. Usualmente, las áreas de bioseguridad se encuentran separadas de las zonas de trabajo regular (de escritorio u oficina) por lo cual no se considera relevante la

instalación de sistema de teléfono; adicionalmente, el uso y manipulación de un teléfono resulta en la posibilidad de acumulación de bacterias o microorganismos que pueden proliferar en el equipo y sus alrededores.

En la actualidad, la mayoría de los equipos cuentan con conectividad para registro, procesamiento y almacenamiento de información, por lo que resulta importante contar con la posibilidad de realizar conexiones a la red de internet o intranet de la institución. Sin embargo, la existencia de cables adicionales debe reducirse por motivos estéticos, de limpieza y de bioseguridad, por lo cual se recomienda minimizar la cantidad de conexiones de este tipo que sean instaladas y en lo posible contar con sistemas inalámbricos.

1.4.10.4 Sistema de Control y seguridad

Este sistema hace referencia a 2 aspectos importantes: el control de acceso y el control de sistemas del laboratorio. En cuanto al control de acceso, como se ha establecido previamente, los usuarios de un laboratorio de bioseguridad 2 requieren entrenamiento de forma tal que cumplan las prácticas operativas de bioseguridad recomendadas por el laboratorio; por esta razón, el acceso a estas áreas debe ser restringido y controlado, llevando en lo posible registro de ingreso y salida de personal, materiales y muestras; de esta forma se posee total vigilancia sobre el estado del laboratorio, sus equipos y componentes. En ocasiones, la instalación de sistemas de circuito cerrado de televisión para realizar la vigilancia del lugar puede resultar adecuado; sin embargo, no es obligatorio cuando se trata de espacios ubicados al interior de la institución.

En los casos en que el laboratorio cuente con sistemas robustos periféricos de servicios como HVAC, cuartos de bombas, sub-estaciones eléctricas, y/o sistema contra incendios, se requiere la instalación de un sistema electrónico computarizado de control de los mismos; éste debe ser ubicado en un espacio externo al laboratorio y se convierte en una central de control y supervisión del funcionamiento del mismo.

2. Ingeniería conceptual

2.1 Diagnóstico Inicial e identificación de la necesidad

El Departamento de Ingeniería Química y Ambiental cuenta dentro de su infraestructura con el Laboratorio de Ingeniería Química (LIQ), en donde desarrollan sus actividades 6 Grupos de Investigación (Departamento de Ingeniería Química y Ambiental, 2017a). Particularmente, el Grupo de Investigación en Procesos Químicos y Bioquímicos (GPQB-UN), se caracteriza por ofrecer alternativas tecnológicas viables tanto técnica como económica y ambientalmente a la industria química y sociedad colombianas, mediante la generación o adaptación de tecnología con el objetivo de contribuir al avance de la Industria Química Nacional, a través de la formación de investigadores de alto nivel y la generación de tecnologías que obedezcan a las necesidades del país y aprovechen sus recursos (Colciencias, 2017).

La línea de investigación en Bioprocesos y Biotecnología, es una de las 12 líneas de investigación del GPQB-UN (Sistema de Información de la Investigación - HERMES, 2017). Para el desarrollo de investigaciones se cuenta con dos laboratorios anexos del LIQ (Departamento de Ingeniería Química y Ambiental, 2017b):

116 – Laboratorio de Ingeniería Bioquímica: Coordinado actualmente por el Ingeniero Juan Carlos Serrato, este laboratorio desarrolla labores de docencia e investigación; a nivel de docencia se prestan servicios a diferentes asignaturas de pregrado y posgrado que dentro de sus temáticas realicen una parte experimental fermentativa. De igual forma, en investigación se apoyan las diferentes temáticas de cultivos de microorganismos que se pueden realizar en el laboratorio. Entre los temas más importantes se destacan el cultivo de microorganismos de interés industrial (producción de ácido láctico, etanol, etc.), el cultivo de microalgas y la producción enzimática de compuestos bioactivos (FOS, GOS, etc.).

219 - Laboratorio de Bioprocesos: Dirigido por el Ingeniero Mario E. Velásquez, dispone de la infraestructura básica para apoyar desarrollos en ingeniería enzimática, diseño de procesos para microbiología industrial, fermentaciones, ingeniería metabólica, mejoramiento genético de cepas de microorganismos e ingeniería bioquímica. Posee una colección de microorganismos, especialmente levaduras, que está en proceso de ser asociada al sistema nacional de bancos de microorganismos.

La variedad de equipos con los que cuentan estos laboratorios es amplia y se evidencia en la Tabla 2-1. Esta infraestructura le permite al GPQBUN desarrollar actividades de docencia, investigación y extensión en el campo de la biotecnología relacionada con cultivos de células vegetales, bacterias, levaduras, microalgas y hongos, entre otros.

Tabla 2-1. Equipos principales ubicados en los laboratorios de la Línea de Investigación en Bioprocesos y Biotecnología del GPQB-UN. Adaptada de (Departamento de Ingeniería Química y Ambiental, 2017b)

116 - Laboratorio de Ingeniería Bioquímica	219- Laboratorio de Bioprocesos
<ul style="list-style-type: none"> • Nevera • Centrífuga • Cámara de flujo laminar • Incubadora Memmert • Agitador Heidolph • Desionizador de agua • Agitador Thermolyne • Fermentador • Bomba de vacío • Reactor DQO • pHmetro • Incubadora Labtech • Baño ultrasónico • Medidor oxígeno disuelto • Microscopio • Microscopio con cámara • Espectrofotómetro • Balanza analítica • Índice de refracción y conductividad 	<ul style="list-style-type: none"> • Planta Piloto de Fermentación • Liofilizador • Cromatógrafo líquido de alta eficiencia • Microscopio convencional con contraste de fases • Microscopio Invertido • Centrífugas • Ultracongelador • Cámara de bioseguridad • Electroporador • Biorreactores • Equipo de electroforesis para proteínas • Sistema de Ultrafiltración • Balanzas (analíticas y termogravimétrica) • Muflas • Horno para calcinación • Mufla con atmósfera de CO₂ • Espectrofotómetro

La biotecnología es, por definición, la manipulación de organismos vivos o sus componentes con el fin de producir productos comerciales de utilidad a la humanidad e involucra todas las aplicaciones de las ciencias biológicas para dichos desarrollos (Merriam

Webster, 2012). Resulta entonces que el GPQB-UN tiene una infraestructura fuerte para los microorganismos previamente mencionados, pero no cuenta con un espacio dedicado al desarrollo de tecnologías involucradas con las células animales, ya sea de mamífero, insectos u otras clases.

Las tecnologías basadas en células animales se encuentran actualmente en desarrollo, pero han tenido una representación importante de la investigación en las industrias farmacéuticas y de alimentos durante las últimas décadas. Las investigaciones en este campo iniciaron con el desarrollo de las primeras vacunas, como el caso de la vacuna de polio desarrollada en el año 1954, ya que en su mayoría tenían una base de producción en embriones animales; uno de los frutos de estas investigaciones en vacunas llevó al desarrollo de la vacuna para el virus de fiebre aftosa, la primera producida en un reactor de células en suspensión (Eibl et al, 2009).

En la década de los 80's se empezó a emplear cultivos de células animales para la producción en gran escala de proteínas terapéuticas recombinantes. Al año 2004 se encontraban licenciadas en Estados Unidos aproximadamente 73 proteínas generadas en biorreactor, de las cuales el 52% eran producidas en células de mamífero (Birch, 2004). Para dar una idea de la demanda actual de este tipo de tecnología, durante el 2016 la FDA aprobó 10 drogas para prescripción y distribución, cuyo principio activo son anticuerpos monoclonales producidos en cultivos de células animales (Cai, 2016).

Conforme aumenta el número de investigaciones en este campo, aumentan las necesidades de la industria farmacéutica de desarrollar procesos de escalado y optimizar sus procesos existentes con respecto a este tipo de cultivos. El GPQN-UN, a pesar de no contar con infraestructura específica para el desarrollo de estos procesos, ha desarrollado en conjunto con otras instituciones, institutos y facultades diversos proyectos tanto en el área de cultivo de células animales y tejidos (desarrollo de un vehículo nuevo para el tratamiento de la osteoporosis en colaboración con la Facultad de Medicina UN-Bogotá; desarrollo de metodologías alternas de cultivo para la producción de equivalentes de piel en colaboración con el Instituto de Biotecnología – UN Bogotá) como en el área de producción de virus (Obtención, purificación y caracterización de una IgY antirrábica a partir de huevos de gallina inmunizada, en colaboración con el

Instituto Nacional de Salud y la Universidad del Bosque; Producción de virus en células en suspensión para el tratamiento de la fiebre aftosa, en colaboración con VECOL S.A.; Exploración del mercado potencial de vacunas contra la fiebre amarilla y proyección de los términos de referencia para la realización de un estudio de factibilidad para la producción nacional de vacunas antiamarílicas en colaboración con el INS). A raíz de estas experiencias y con el fin de desarrollar en el futuro más proyectos en estas áreas, se establece la necesidad de generar un espacio en las instalaciones del LIQ para la realización de actividades de investigación relacionada con el cultivo de células animales y el escalado de sus procesos de producción.

2.2 Definición del alcance

Teniendo en cuenta que se desea generar un espacio para el desarrollo de actividades de cultivo de células animales en diferentes escalas, el alcance se define a raíz de dos factores importantes: las plataformas a emplear y la escala máxima a trabajar.

2.2.1 Selección de plataformas a emplear

El cultivo de células animales hace referencia a células de insecto o de algún mamífero que han sido aisladas de tejidos específicos (p. ej. piel, glándulas, hígado, etc.) y son cultivadas y reproducidas en un medio artificial. Durante el cultivo de las células de mamífero *in vitro* (fuera del organismo) se presentan algunas dificultades a raíz de la extracción de aquellas del tejido original; la más significativa es el fenómeno de apoptosis o muerte celular programada, ya que limita la extensión y el tiempo que cierta célula puede sobrevivir en determinadas condiciones. Adicionalmente, los cultivos primarios (células extraídas del tejido *in vivo*) tienen un número definido de ciclos de replicación antes de inducir su muerte una vez son cultivadas *in vitro*. La limitación en la perpetuidad de los cultivos celulares de este tipo se solucionó una vez fueron identificadas o generadas por mutación las llamadas líneas celulares, que son cultivos que resultan continuos y pueden no tener la limitación de un número finito de replications (Eibl et al., 2009).

Las líneas celulares pueden requerir algún soporte físico sólido para su supervivencia y reproducción; en estos casos se denominan células adherentes. En los casos en que se pueden reproducir libremente en un medio líquido se denominan células en suspensión.

La ATCC (American Type Culture Collection) y la ECACC (European Collection of Animal Cell Cultures) son organizaciones que cuentan con “bancos de células” cuyo fin es catalogar, almacenar, replicar y facilitar a centros de investigación y empresas diferentes líneas celulares. La ventaja de trabajar con líneas celulares provistas por estas organizaciones es que cada una de ellas cuenta con un registro de su historial e instrucciones para su manipulación; este tipo de control y estandarización facilita la reproducibilidad en el desarrollo de experimentos.

Dentro de las líneas celulares más empleadas como plataformas para producción de moléculas de interés farmacéutico se pueden mencionar:

- Las células CHO (células de ovario de hámster chino) las cuales han resultado ser una plataforma muy robusta para producción de proteínas recombinantes, p ej. la eritropoyetina y el activador tisular de plasminógeno.
- Los mielomas murinos, como las líneas NS0 y Sp2/0, pueden fusionarse y se emplean para la producción de anticuerpos producidos por hibridomas.
- Las células VERO (derivadas de células epiteliales del riñón de un mono verde africano) son muy susceptibles a infecciones virales, lo que las ha convertido en una excelente plataforma para la producción de vacunas (p. ej. poliomelitis y rabia) (Marquis, 2015)

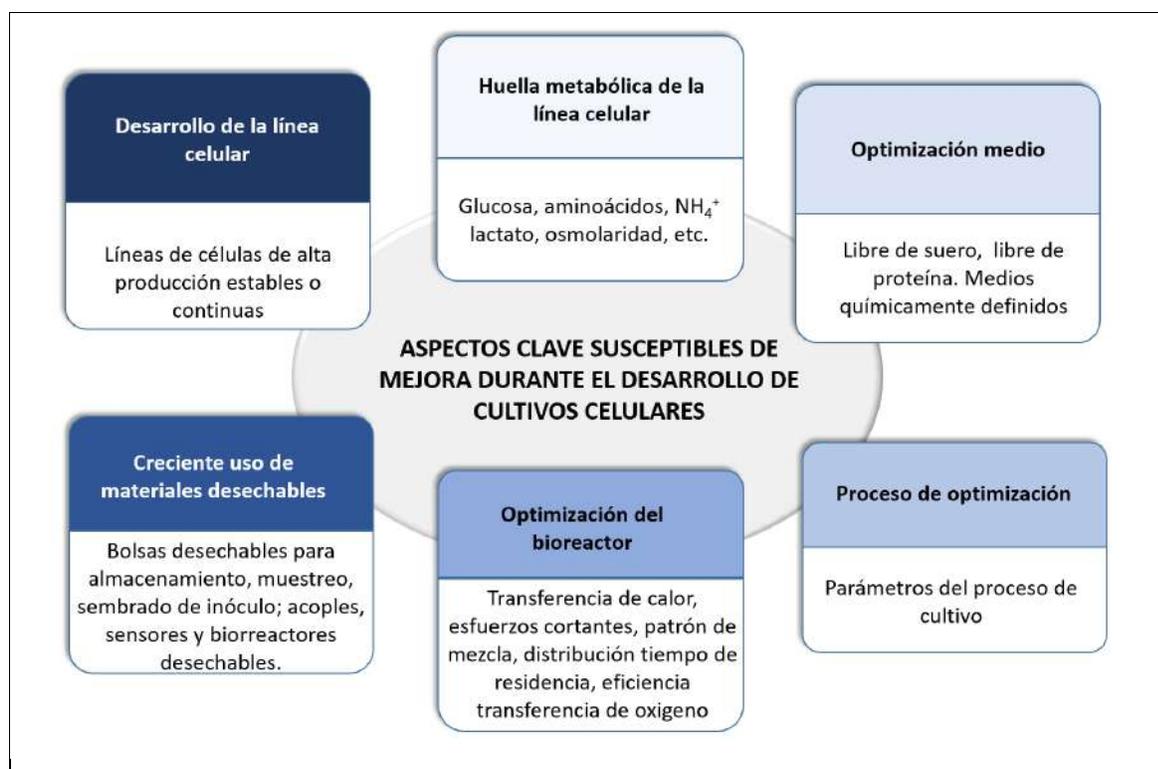
En el caso de las labores de investigación que prevé desarrollar el GPQB-UN se emplean tanto cultivos primarios como líneas celulares, por lo cual el laboratorio a implementar debe estar en la capacidad de permitir el cultivo de ambos tipos de células. De acuerdo con la comunidad científica internacional, lo más recomendado para este fin es contar con instalaciones y protocolos de nivel de bioseguridad 2 (Connell, 2011; Keene, 2003), aunque algunos investigadores se consideran reacios a realizar las inversiones o modificaciones que ello implican y manipulan estos experimentos en laboratorios con nivel de bioseguridad 1. Esto finalmente conlleva a una mayor cantidad de cultivos contaminados y de células foráneas resultantes en los ambientes alrededor de los laboratorios.

Teniendo en cuenta estas características, el laboratorio de cultivo de células animales del LIQ será un espacio de Bioseguridad 2 en el cual se puedan almacenar, mantener, y replicar líneas celulares animales y cultivos primarios de tejidos animales.

2.2.2 Definición de escala

Desde el punto de vista técnico de la fermentación, la mayoría de las más recientes investigaciones en cultivo de células animales se enfocan en mejorar una serie de aspectos comunes de importancia clave para el desarrollo de este tipo de procesos, los cuales son presentados en la **Figura 2-1**.

Figura 2-1. Aspectos clave a mejorar durante el desarrollo de cultivos celulares desde el punto de vista de fermentación. Adaptada de (Eibl et al., 2009)



Ciertos aspectos de los mencionados en la **Figura 2-1** han sido considerados en gran detalle en la literatura. Por ejemplo, tradicionalmente las líneas celulares para su mantenimiento en laboratorio por lo general requieren un suplemento de 10% de SFB (Suero Fetal Bovino); sin embargo, el desarrollo de medios químicamente definidos, que

evitan el uso de suero animal, es ahora un proceso muy común para los procesos industriales. Otro ejemplo es el desarrollo de nuevas configuraciones de biorreactores que proveen ambientes de bajo estrés hidrodinámico a las células mediante agitación y aireación suave en tanque agitados, reactores *air-lift*, de fibras huecas, de lecho fluidizado o de lechos fijos. Más comúnmente, el desarrollo de mejoras en los aspectos planteados en la **Figura 2-1** implica la realización de ensayos de cultivo celular por parte de cada grupo de investigación. Para definir la escala de tales ensayos, un buen criterio de selección es el costo de cada ensayo. Los reactivos y materiales para la realización de cada ensayo deben ser de grado biológico y encontrarse completamente estériles, lo cual implica costos relativamente elevados. A manera de ejercicio teórico, si se desarrollara un hipotético ensayo de cultivo de células Sp2/0 -Ag14 en suspensión en un *spinner flask* de 200mL (condiciones estándar: medio enriquecido con SFB, 5 días de duración, control de pH mediante adición de hidróxido de sodio, muestreo cada 12 horas) los costos asociados con consumibles para cada cultivo se presentan cuantificados en la **Tabla 2-2**.

Ahora bien, si el costo de realizar el cultivo mencionado, sin tener en cuenta mano de obra ni uso de equipos, resulta ser de aproximadamente \$200.000 COP, finalmente se obtiene un costo de \$200 pesos/(mL*día). Ahora bien, la escala del *spinner flask* permite analizar algún nivel de estrés hidrodinámico debido a la agitación, pero no tiene la posibilidad de un control directo de temperatura, pH, aireación, entre otros. Para esos casos se requiere del montaje de un reactor agitado, con aireación, control de condiciones y dosificadores automáticos, lo cual implicaría un volumen de cultivo de alrededor de 2L para contar con la instrumentación y una escala suficiente para el análisis de los fenómenos involucrados. En este caso, teniendo en cuenta que un cultivo en reactor en condiciones controladas normales tomaría mínimo 10 días, el costo aproximado en materiales y reactivos de dicho experimento sería de \$4'013.133 COP en cultivo por lote.

Con base en el análisis anterior, aun cuando a nivel de investigación en escalado de procesos de cultivo de células animales se podría desear contar con infraestructura a nivel piloto, a raíz de los costos de realización de los experimentos en diversas escalas, se considera suficiente para los proyectos a desarrollar por parte del GPQB-UN que la máxima escala a trabajar al interior del laboratorio sean 3L. Una escala mayor requeriría de una financiación estable de una magnitud tal que seguramente obligaría a considerar

un posible convenio con una empresa o la dedicación de la instalación a prestación de servicios de extensión, lo cual requeriría un análisis económico más detallado.

Tabla 2-2. Costos aproximados (en COP de 2015) de materiales y reactivos asociados con la realización de un cultivo de células animales en laboratorio.

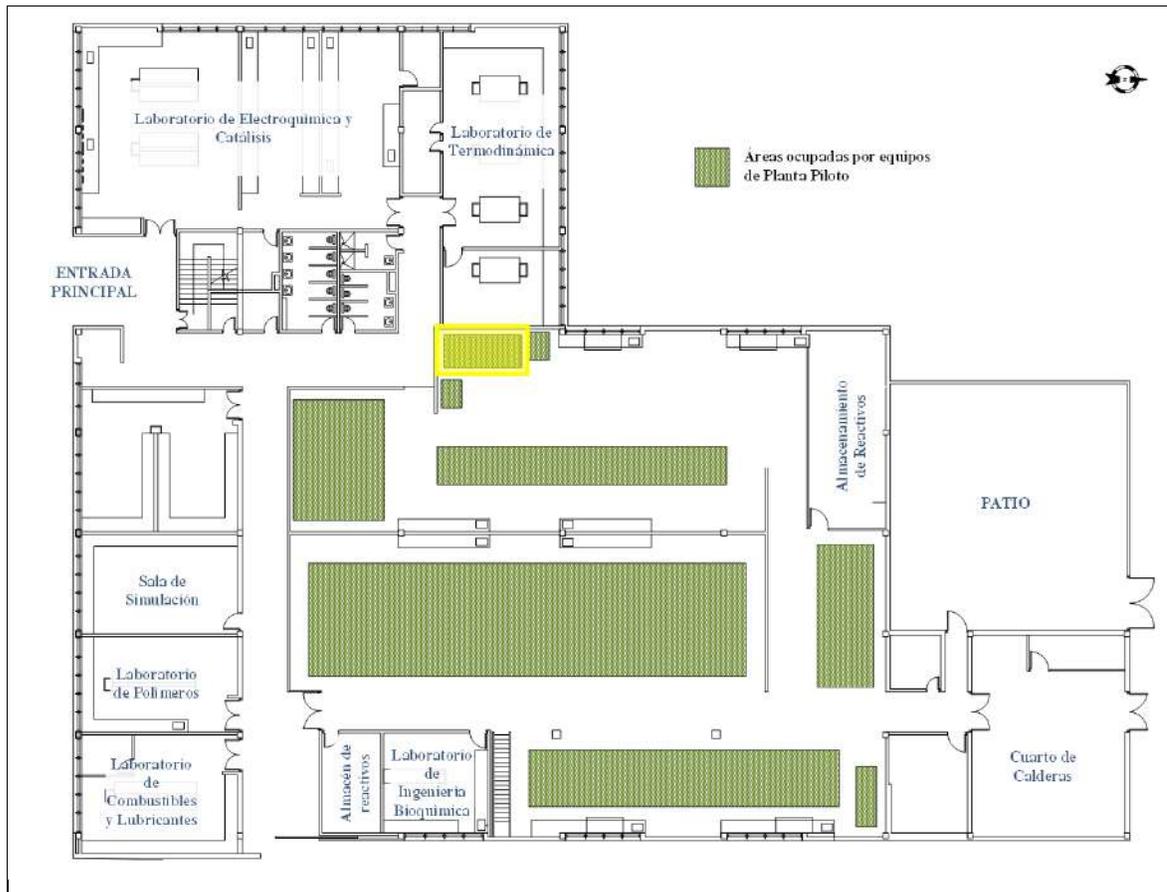
MATERIALES						
Descripción	Cant.	Unidad	Cant. venta	Precio venta	Precio unitario	Precio por ítem
Pipetas estériles de 5 mL	2	Un	100	\$250.000	\$2.500	\$5.000
Pipetas estériles de 10 mL	2	Un	100	\$300.000	\$3.000	\$6.000
Puntas para micropipeta	50	Un	1000	\$100.000	\$100	\$5.000
Eppendorf estériles	13	Un	100	\$50.000	\$500	\$6.500
Membranas para sistema de filtración de 0,22 µm	4	Un	50	\$460.000	\$9.200	\$36.800
Frascos T25 (inóculo)	1	Un	200	\$350.000	\$1.750	\$1.750
Tubos Falcon 15 mL	3	Un	25	\$30.000	\$1.200	\$3.600
					Subtotal	\$64.650

REACTIVOS						
Descripción	Cant.	Unidad	Cant. venta	Precio venta	Precio unitario	Precio por ítem
Medio DMEM-F12	200	mL	5000	\$500.000	\$100	\$20.000
Suero fetal bovino	20	mL	1000	\$2.000.000	\$2.000	\$40.000
PBS buffer	20	mL	5000	\$70.000	\$14	\$280
Azul tripano	1	mL	100	\$80.000	\$800	\$800
Solución NaOH (0,01N)	1	mL	1000	\$60.000	\$60	\$60
Alcohol para desinfección	200	mL	3000	\$40.000	\$13	\$2.667
kit de detección de glucosa	1	prueba	100	\$160.000	\$1.600	\$1.600
kit de detección de lactato	1	prueba	50	\$1.230.000	\$24.600	\$24.600
kit de detección de amonio	1	prueba	50	\$2.300.000	\$46.000	\$46.000
					Subtotal	\$136.007
					TOTAL	\$200.657

2.3 Localización

Los laboratorios se encuentran ubicados en la primera planta del LIQ, con la excepción del laboratorio de Bioprocesos que queda ubicado en un entrepiso al interior de la planta piloto. Por ello, se realizó la revisión de los espacios al interior del edificio y se evidenció que todos los laboratorios anexos del mismo se encuentran ocupados y con un flujo significativo de estudiantes. Adicionalmente en la planta piloto se encuentra una distribución grande de equipos que requeriría una inversión significativa para su reubicación en caso de desear constituir un nuevo espacio mediante divisiones con muros al interior de la planta como se presenta en la **Figura 2-2**.

Figura 2-2. Planta primer piso - LIQ – 2015



Teniendo en cuenta la limitación del espacio para constituir un nuevo laboratorio, se observó que en la región sombreada con amarillo de la **Figura 2-2** se encontraba en desuso lo que antiguamente era un cuarto caliente. Por su naturaleza este cuarto se

encontraba aislado del exterior en cuanto a temperatura; adicionalmente contaba con un sistema preinstalado de iluminación interna y una puerta de acceso corrediza que garantiza algún nivel de estancamiento del aire en su interior. El sistema de ventilación del cuarto había sido removido del mismo y, al no estar en funcionamiento, se había convertido con el tiempo en un espacio de almacenamiento de equipos en proceso de refacción, partes de equipos, materiales de laboratorio o de obra, residuos, reactivos químicos, etc.

Por considerarlo el único espacio disponible para el montaje de un laboratorio, se evaluaron las dimensiones internas del mismo resultando ser: 3,96 m de longitud, 1,8 m de profundidad y 2,45 m de altura. Esto implicaba un área de trabajo de 7,2 m². Teniendo en cuenta que el cultivo de células animales es un proceso que no implica presencia continua del operario para su desarrollo, sesiones cortas de trabajo en equipos estáticos y requiere poco espacio de superficie de mesón de trabajo, el espacio disponible cumplía con los requerimientos para el montaje de un laboratorio de bioseguridad y se definió el cuarto caliente como apto para desarrollar el laboratorio.

2.4 Presupuesto Preliminar

Habiendo realizado la selección del espacio a adecuar, se analizó la información más disponible en la Internet con respecto a experiencias en laboratorios de bioseguridad y las inversiones requeridas para el desarrollo de los mismos.

2.4.1 Nuevo Bioterio - Instituto Nacional de Salud – Bogotá, Colombia

El proyecto “Nuevo bioterio” del Instituto Nacional de Salud tiene un área de 1002 m² e implicó una inversión total de alrededor de 5 millones de dólares (eltiempo.com, 2017); éste es un laboratorio de Nivel de Bioseguridad 2 para manipulación de animales. Cabe resaltar que el costo registrado incluye el valor de la construcción del edificio donde se encuentra ubicado, el cual no hacía parte de la infraestructura inicial del Instituto.

Se realizó una revisión del contrato que comprendió el desarrollo de los diseños, montajes y acabados que dotaron al bioterio de su perfil de bioseguridad. El proceso 014-2012 del INS tuvo por objeto “Realizar los trabajos y actividades necesarias para la terminación y

puesta en marcha del Nuevo Bioterio del Instituto Nacional de Salud para la producción y experimentación con animales de laboratorio bajo nivel de contención biológica 2 ABSL-2 ubicado en la Avenida calle 26 No. 51 20 de la ciudad de Bogotá D.C. Colombia conforme a los estándares internacionales previstos para este tipo de instalaciones” cuya cuantía inicial fue de \$6.726.418.067 COP y durante la ejecución ascendió hasta \$9.479.261.118 COP (Instituto Nacional de Salud, 2012). El proyecto fue adjudicado el 10 de diciembre de 2012, inició actividades en febrero de 2013 y se realizó la liquidación del contrato el 22 de febrero de 2016, para un total de aproximadamente 3 años de ejecución (colombialicita.com, 2017).

Costo aproximado: Se previeron 6.700.000 COP/m² y una vez se ejecutó resultó de 9.460.000 COP/m².

2.4.2 Reporte Internacional - Labdesignnews.com

Laboratory Designs es una marca registrada multimedia que busca funcionar como una red que interconecte la comunidad de investigación en el diseño, construcción, operación, de laboratorios y cuenta con el respaldo de diferentes compañías de construcción, universidades y proveedores, entre otros (advantagemedia.com, 2017).

De acuerdo con su último reporte anual, el promedio de los costos de un laboratorio se distribuye conforme el gráfico presentado en la **Figura 2-3** De igual forma, un aproximado del costo de inversión para cada tipo de laboratorio se presenta en la Tabla 2-3.

Si se toman de referencia los valores presentados, un cuarto de cultivo de células animales bien se puede encontrar en la categoría de investigación biológica como de BPM clase 10000 dependiendo de su uso. En este caso, si únicamente se mantienen cultivos libres de patógenos se acerca más a la categoría de investigación biológica, lo que implicaba para el año 2014 un costo aproximado entre 453 a 484 dólares por pie cuadrado.

Costo aproximado: entre \$9.752.102 COP/m² y \$10.419.465 COP/m². Asumiendo una tasa de cambio de \$2000 COP/USD (Tasa promedio de año 2014) (Banco de la República, 2017)

Figura 2-3. Distribución de costos de inversión en laboratorios de investigación animal. Adaptada de (labdesign.com, 2017).

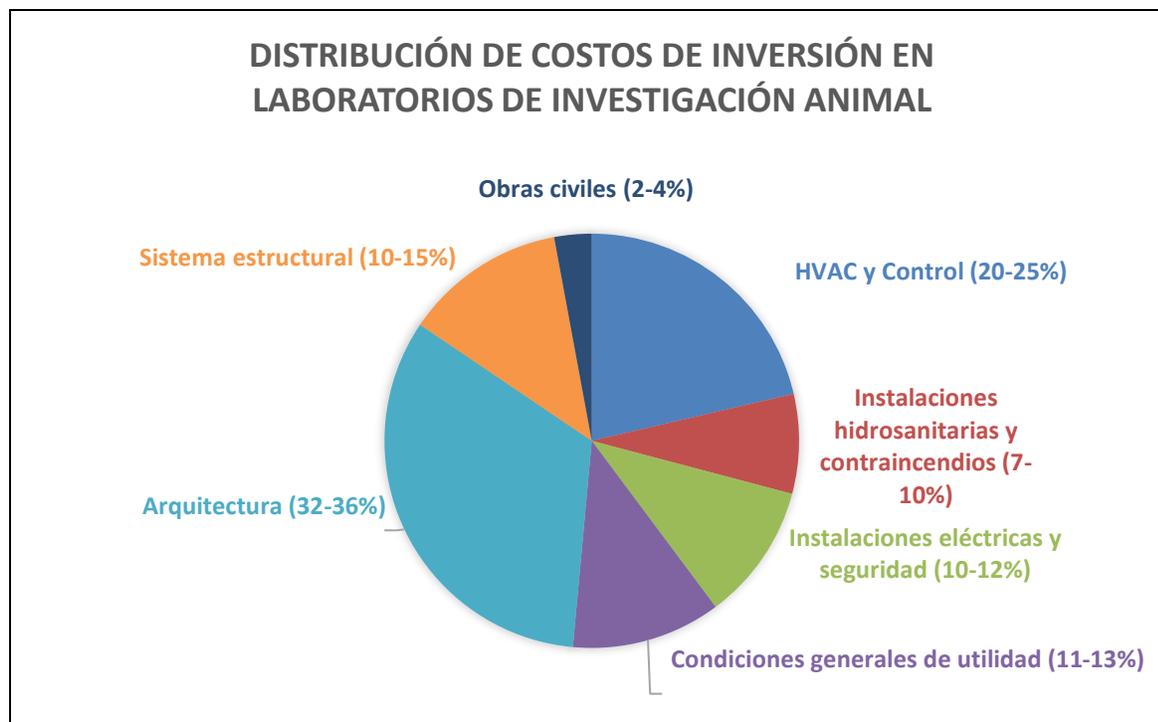


Tabla 2-3. Costos de construcción en facilidades de investigación dependiendo del tipo de laboratorio. Adaptada de (labdesign.com, 2017)

Tipo de laboratorio	2013 \$USD/ft ²	2014 \$USD/ft ²
Biomédico	436-456	449-469
Investigación animal	542-625	556-607
Investigación biológica	440-470	453-484
Producción con BPM Clase 10000	540-634	556-653
Producción con BPM Clase 1000	704-810	725-834
Producción con BPM Clase 100	894-1,100	920-1,050
BSL-3	470-510	484-525
BSL-4	510-550	525-566

Con estos estudios se concluye que el precio esperado aproximado por m² es de \$10.500.000 COP. Teniendo en cuenta que el espacio seleccionado cuenta con un área de 7,2 m² se prevé una inversión en adecuaciones de \$75.600.000 COP (año 2014-2015).

3. Ingeniería Básica

3.1 Diagramas Básicos de Procesos

Una metodología útil a la hora de analizar los posibles procesos que se van a llevar a cabo al interior del laboratorio es la construcción de los diagramas de procesos. Establecer las actividades y etapas para cada uno de ellos permite identificar las necesidades y características de equipos, dimensionar los espacios de trabajo y de almacenamiento requeridos y realizar el análisis de tiempos y movimientos.

Los procesos más frecuentes y regulares a desarrollar en el laboratorio de cultivo de células animales son:

- Ingreso al laboratorio
- Almacenamiento de Material
- Almacenamiento de Reactivos
- Esterilización de material por calor
- Preparación de medios de cultivo, buffer u otros reactivos
- Esterilización por Filtración
- Cultivo celular: cambio de medio, muestreo, pasaje, toma de muestra reactor o *spinner*.
- Análisis de muestras
- Crio-preservación de muestras
- Limpieza y sanitización general
- Descongelación de células crio-preservadas y primer cultivo

Los diagramas generales de estos procesos se presentan en las Figura 3-1 a Figura 3-11. Cabe resaltar que, de estos procedimientos, a excepción de ingreso al laboratorio y almacenamiento de materiales y reactivos, todos involucran inicialmente extraer los materiales y/o reactivos necesarios y al finalizar disponer de los residuos y materiales en los lugares apropiados.

Figura 3-1. Diagrama de las actividades desarrolladas en el proceso de ingreso al laboratorio.



Figura 3-2. Diagrama de las actividades desarrolladas en el proceso de almacenamiento de material.

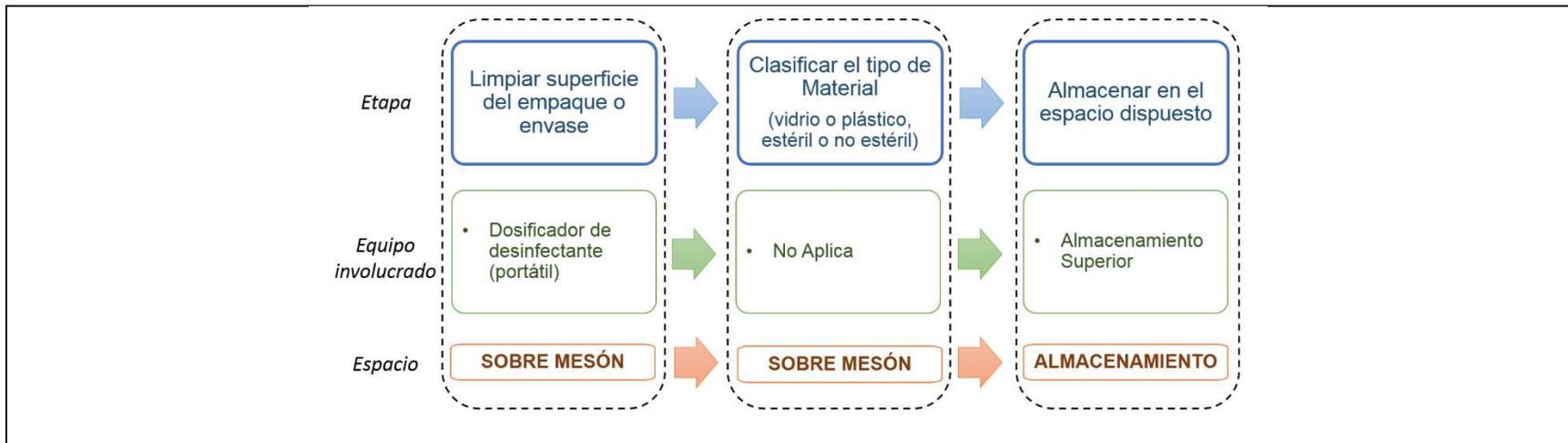


Figura 3-3. Diagrama de las actividades desarrolladas en el proceso de almacenamiento de reactivos.

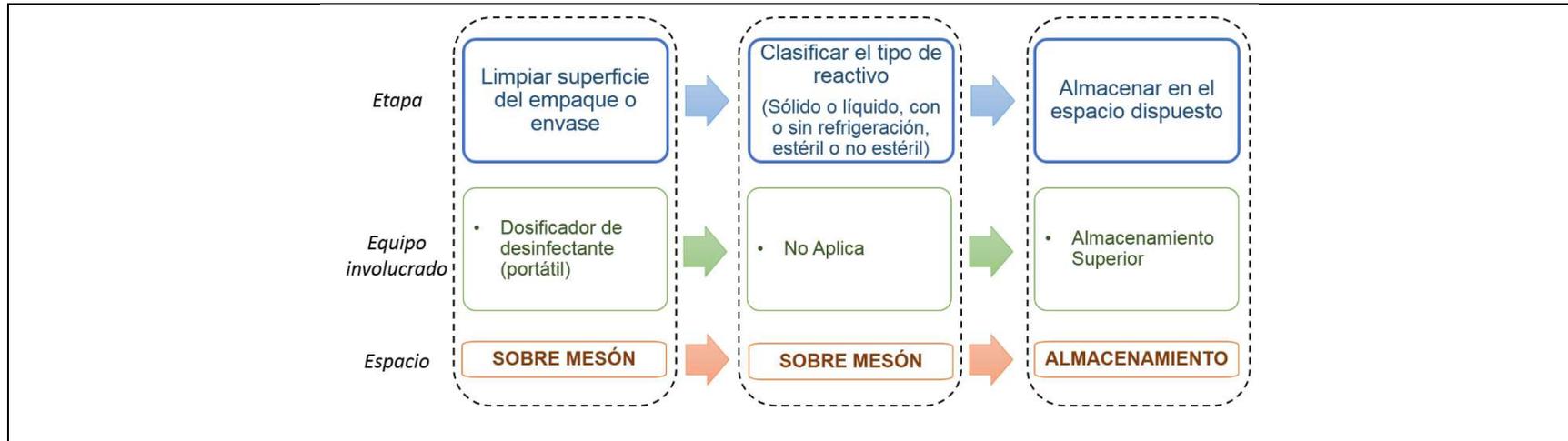


Figura 3-4. Diagrama de actividades relacionadas con el proceso de esterilización por calor.



Figura 3-5. Diagrama de las actividades relacionadas con los procesos de preparación de medios de cultivo, buffer u otros reactivos

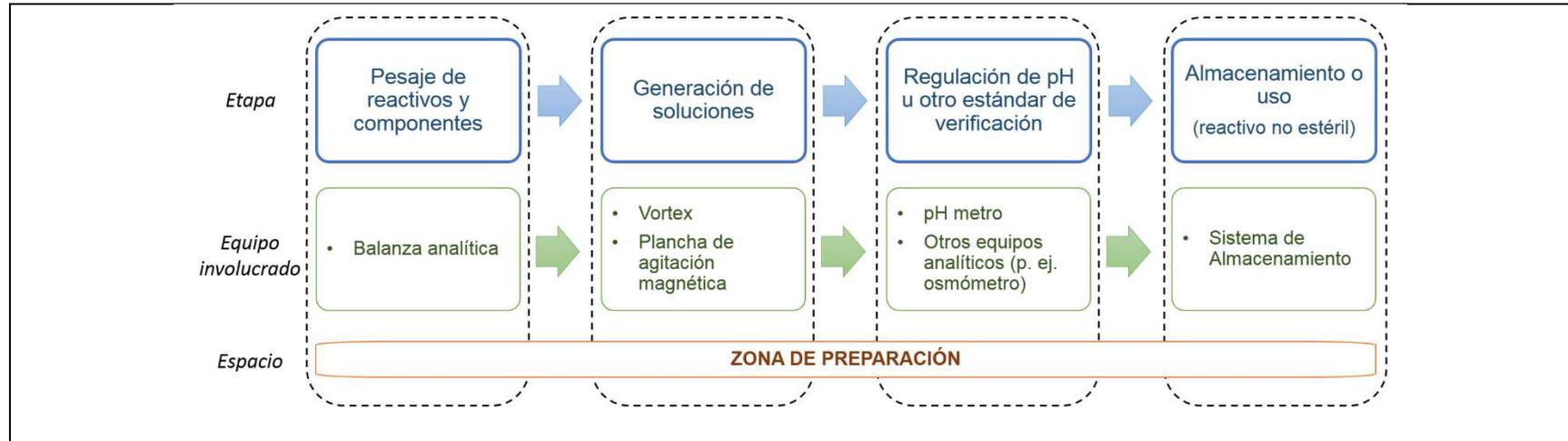


Figura 3-6. Diagrama de las actividades relacionadas con el proceso de esterilización por filtración

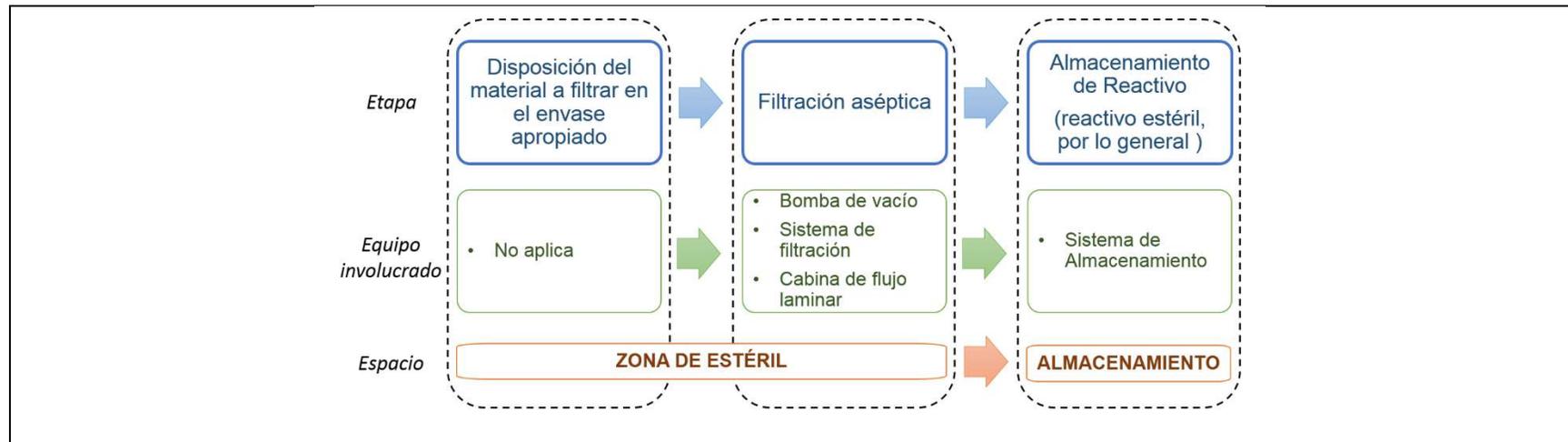


Figura 3-7. Diagrama de las actividades relacionadas en el proceso de descongelación de células crio-preservadas y primer cultivo

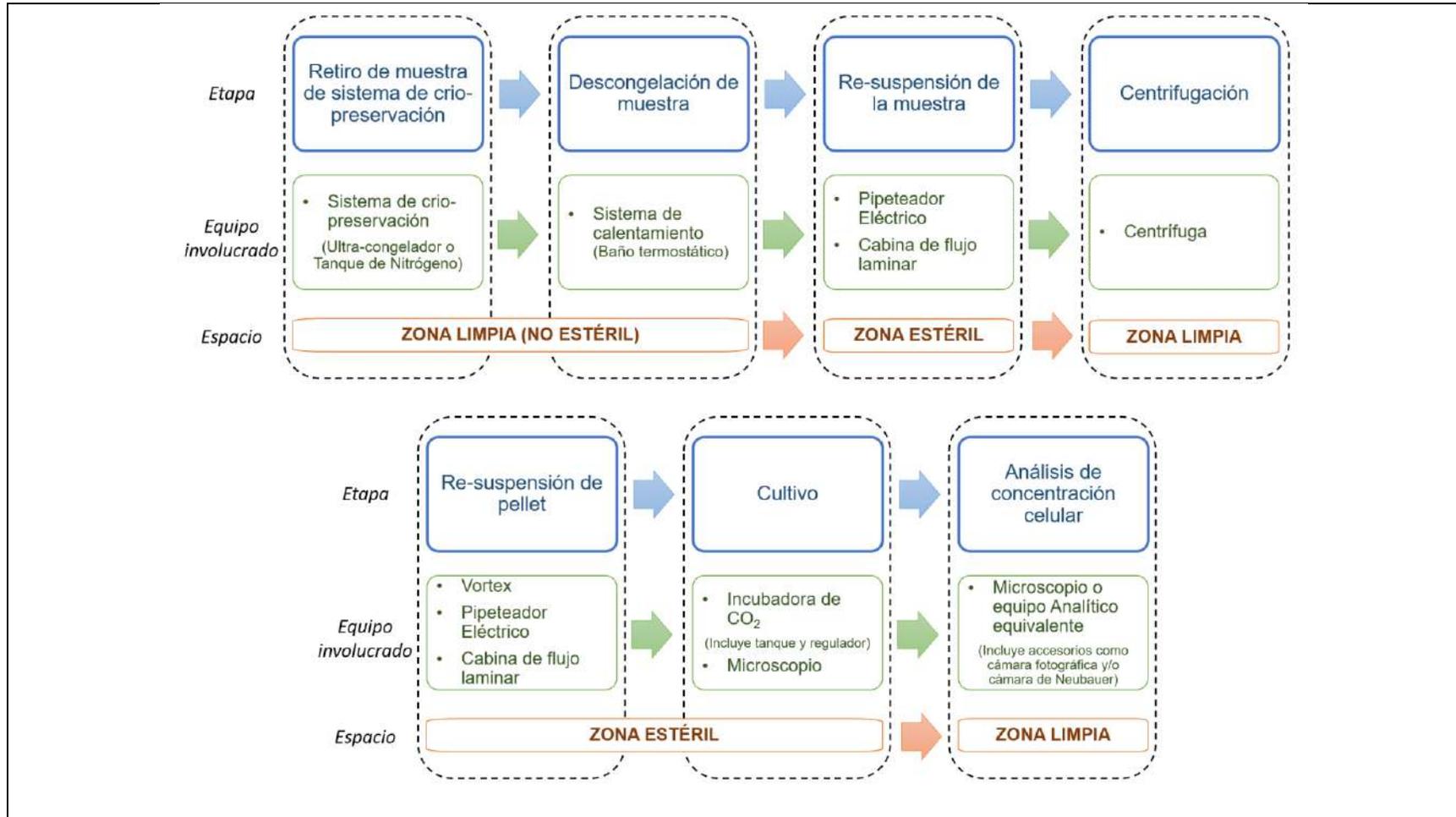


Figura 3-8. Diagrama de las actividades de los procesos de cultivo celular: cambio de medio, muestreo, pasaje, toma de muestras de reactor o *spinner*

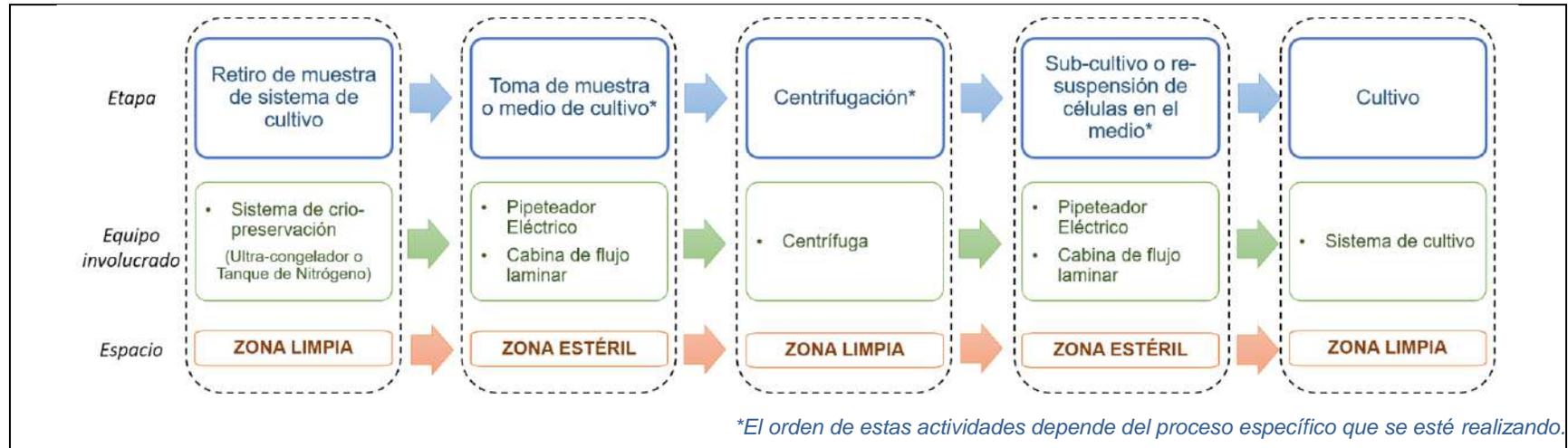


Figura 3-9. Diagrama de las actividades relacionadas con el proceso de análisis de muestras

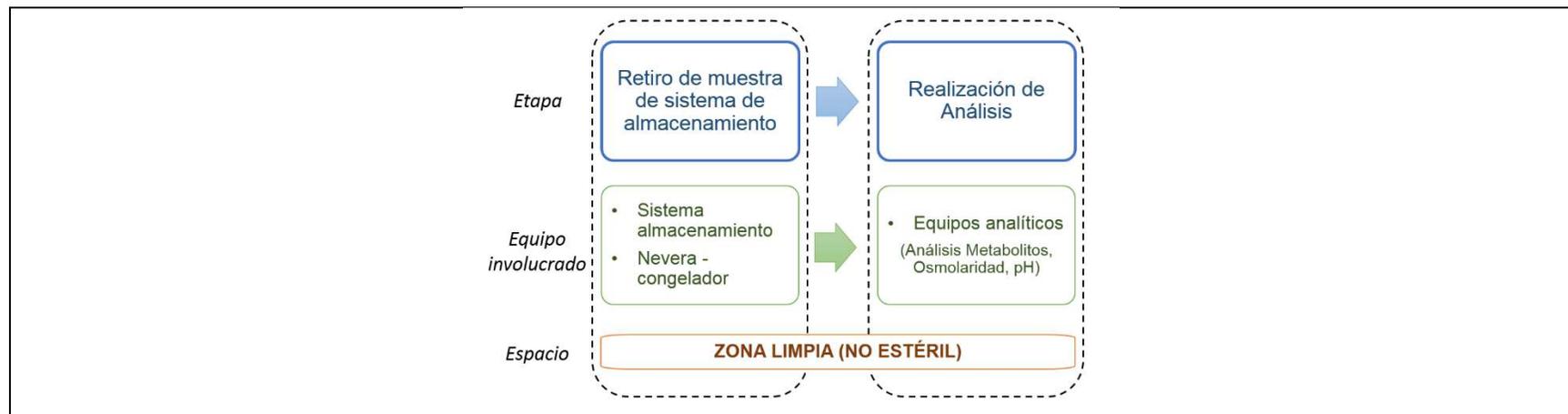


Figura 3-10. Diagrama de las actividades relacionadas con el proceso de crio-preservación de muestras

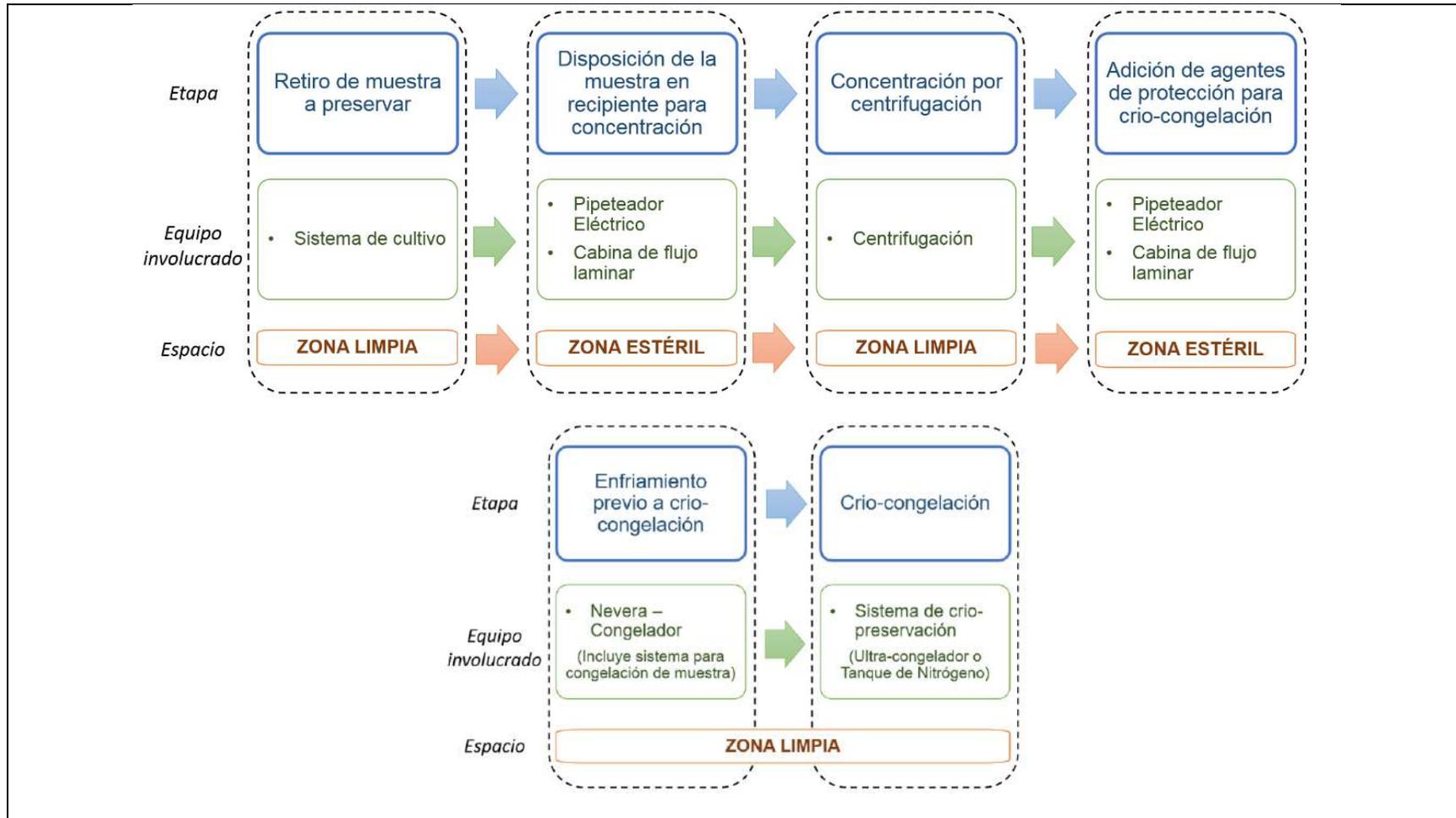
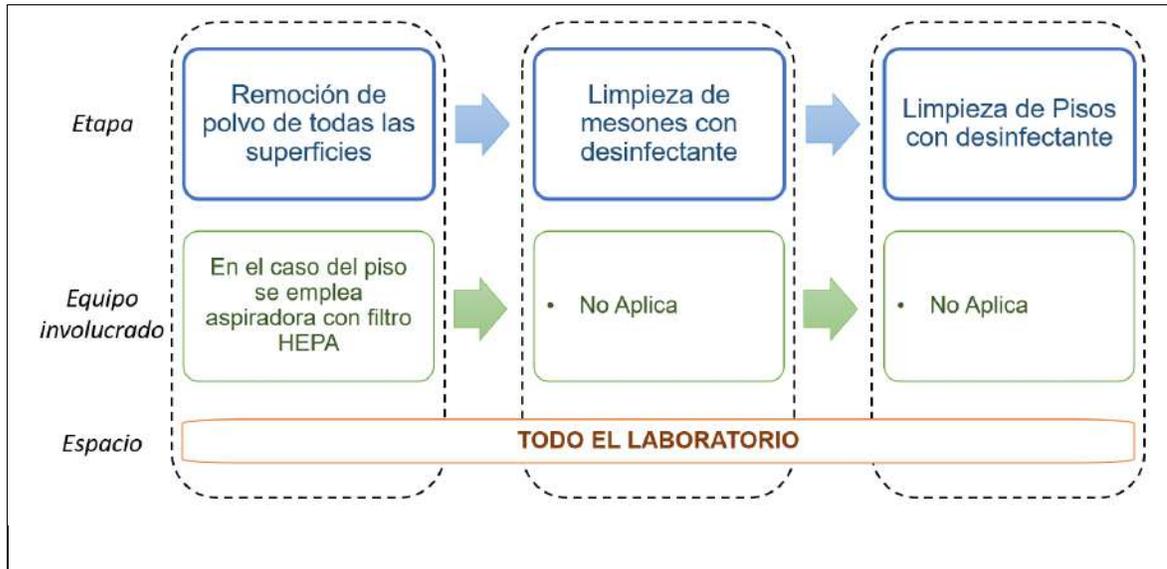


Figura 3-11. Diagrama de las actividades relacionadas con el proceso de Limpieza y sanitización general

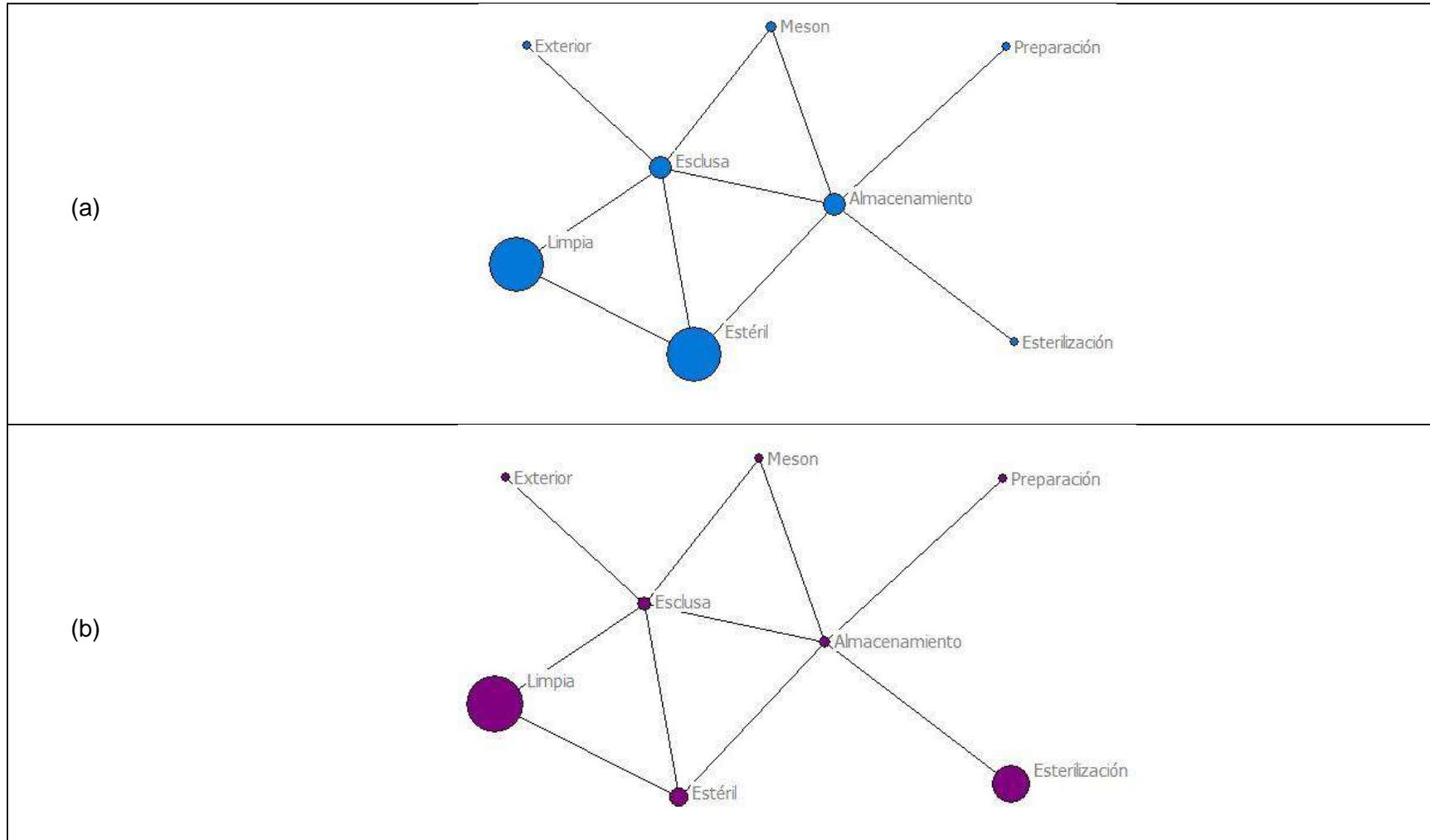


3.2 Análisis de simultaneidad de actividades y usos

A raíz de las limitaciones de espacio al interior del laboratorio, realizar la revisión de los movimientos del personal permite identificar las áreas de más movimiento, los equipos empleados más frecuentemente y así dar una idea de la ubicación de cada uno de ellos para minimizar el desplazamiento al interior del laboratorio.

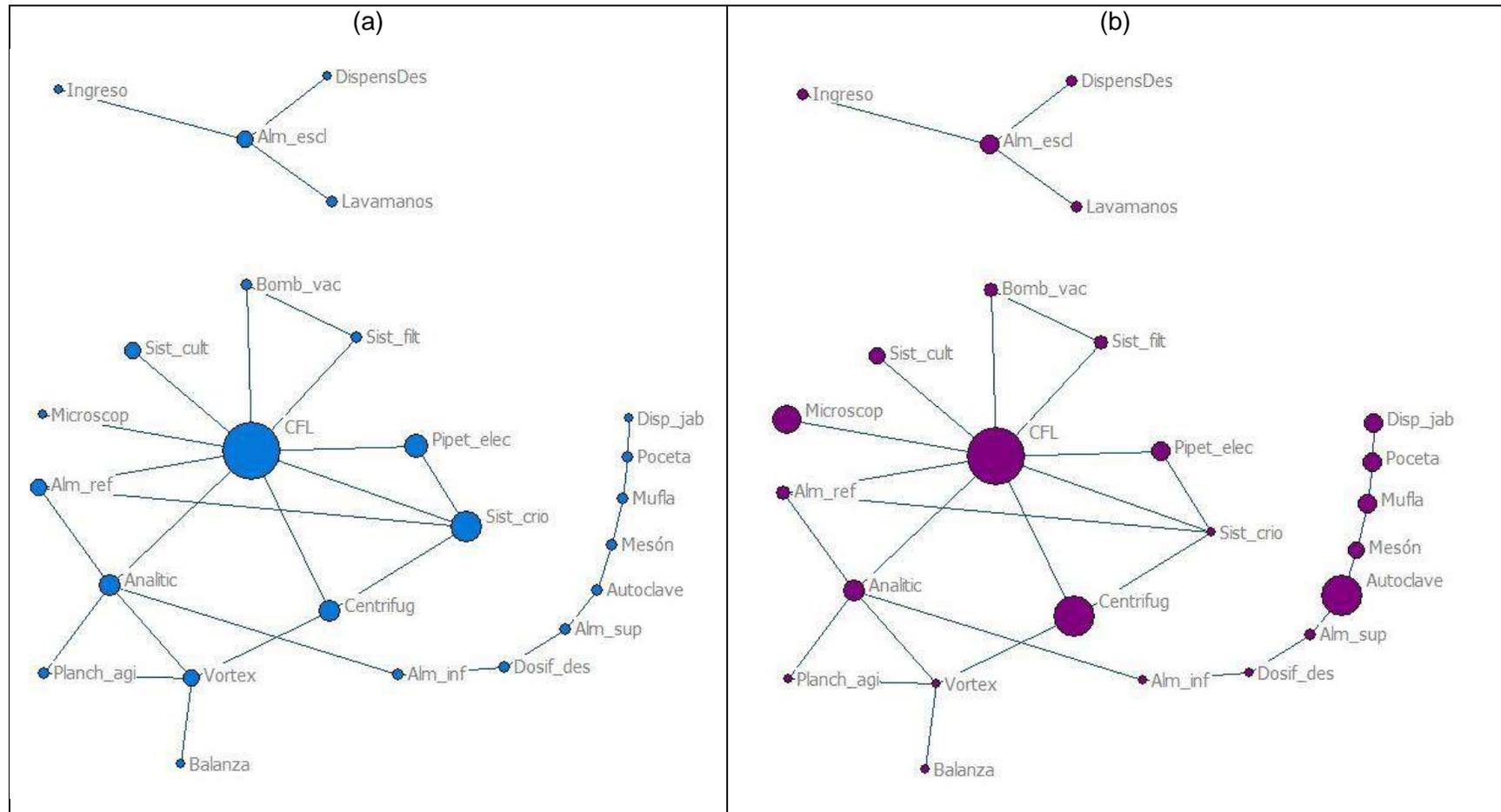
Los componentes de los diagramas (actividades, procesos, equipos, espacios) fueron organizados y cuantificados, en términos de tiempo y frecuencia, mediante matrices de tiempos y movimientos, las cuales se encuentran consignadas en el **ANEXO 2**. Matrices de tiempos y movimientos de este documento. Empleando el software de redes UCINET® fue posible interpretar dichas matrices gráficamente (**Figura 3-12** y **Figura 3-13**) y analizar las relaciones que se presentarían en el laboratorio, las convenciones de nominación de cada actividad y equipo se encuentran consignadas en el ANEXO 2.

A partir de la representación gráfica de la interacción de áreas (**Figura 3-12**), resulta evidente que la zona limpia, es el área de mayor tiempo de uso y en la que la mayoría de las actividades se desarrollan, por ello se opta por dotar el espacio de un área considerablemente grande para ese tipo de actividades; adicionalmente, la zona estéril de acuerdo con la **Figura 3-12a** resulta ser una de las áreas más relacionadas con las acti-

Figura 3-12. Diagrama de Interacción de áreas empleando software UCINET®

NOTA: El diámetro de cada esfera representa la magnitud de: (a) Cantidad de actividades que involucran dicha área (b) Tiempo mensual aproximado de uso de cada área.

Figura 3-13. Diagrama de Interacción de equipos empleando software UCINET®



NOTA: El diámetro de cada esfera representa la magnitud de (a) Cantidad de actividades que involucran este equipo, o (b) Tiempo mensual aproximado de uso de cada equipo.

vidades, pero no necesariamente de uso prolongado, lo que implica que se puede requerir la mayor área posible, pero sin embargo no se requiere continuamente en funcionamiento. Cabe resaltar que las Zonas de preparación y esterilización únicamente se encuentran relacionadas con las actividades al interior del laboratorio con respecto a suministro de materiales y/o reactivos a sus espacios de almacenamiento, razón por la cual es posible considerar realizar dichas actividades en otros espacios, como los laboratorios presentados en el acápite 2.1; esta afirmación se ve respaldada por la red de interacción entre los equipos, presentada en la **Figura 3-13**, ya que al menos las actividades relacionadas con el proceso de esterilización se encuentran como una rama independiente, y nuevamente su único lazo con el laboratorio en general es el suministro de materiales y reactivos al laboratorio.

De forma similar la **Figura 3-13** permite evidenciar la generación de una división interna de espacios de acuerdo con los equipos y los procesos a realizar significativamente entre: la zona de ingreso o de cambio (de ahora en adelante denominada zona gris), la zona limpia y la zona estéril. La división entre las dos últimas es evidente a raíz de que la zona estéril es el interior de una cabina de flujo laminar, cuya tipología obedece a las actividades a desarrollar al interior del laboratorio teniendo en cuenta las características presentadas en el acápite 1.4.5.3. y cuyos límites son la periferia del equipo.

A raíz de este análisis se definió el listado preliminar de equipos, y se estimaron sus especificaciones y requerimientos básicos, dicha información se encuentra disponible en la **Tabla 3-1**. Las dimensiones o recomendaciones en escala o tamaño de los equipos obedecen al resultado del análisis de la **Figura 3-13**, asignando un mayor tamaño o mayor robustez a los equipos de más tiempo en uso y mayor frecuencia, respectivamente; por ejemplo, teniendo en cuenta que la mayoría de las actividades involucran el uso de la cabina de flujo laminar (“CFL” en el diagrama), se recomienda la adquisición de un equipo amplio, también considerando que su área interna es el área estéril la cual, de acuerdo con el diagrama de la **Figura 3-12** refleja también su uso frecuente. En el caso de la centrífuga (“Centrifug” en el diagrama); ésta es un equipo que no se relaciona con tantos de los procesos pero sí tiene una cantidad significativa de uso en el mes, por lo cual se sugiere un equipo robusto pero que ocupe un área pequeña en lugar de un equipo de gran escala.

La **Tabla 3-1** incluye los equipos que se ubican en los laboratorios externos debido a que su adquisición o disponibilidad es necesaria para la funcionalidad del laboratorio.

3.3 Requerimientos preliminares de servicios

Como consecuencia del análisis de actividades y de los requerimientos de los equipos se identificaron las redes de servicios que debe poseer el laboratorio para su funcionamiento.

3.3.1 Red hidrosanitaria

La **Tabla 3-1** permite identificar que casi ninguno de los equipos que operan al interior del laboratorio requiere de conexión de línea hidrosanitaria (excepto el biorreactor); sin embargo, durante el análisis de las actividades y procesos se evidencia que en la zona de cambio se requiere realizar lavado de manos.

En cuanto a la red de desecho por sifones, no se considera pertinente instalar desagües en piso ya que siendo un espacio reducido el aseo puede realizarse sin cubrir totalmente el piso de fluido; adicionalmente restringir la existencia de sifones minimiza las posibilidades de contaminación por proliferación de microorganismos en el suelo.

Previendo que se puede necesitar realizar el lavado de material al interior del laboratorio y que eventualmente puede adquirirse uno o varios equipos con requerimientos de agua potable se recomienda la instalación de:

- 2 puntos de suministro y 2 desagües para pocetas o lavamanos (1 en zona de cambio e 1 en interior)
- 1 punto de ingreso de agua para futuras conexiones.

Ahora bien, el suministro del agua para el laboratorio debe ser una derivación de la red de suministro de agua de la Planta piloto del LIQ. Teniendo en cuenta que es de calidad desconocida, se recomienda la instalación de un filtro para remover posibles sólidos insolubles u otro tipo de contaminación que se encuentre en las tuberías de la Planta.

Tabla 3-1. Descripción general de equipos y sus requerimientos

Equipo	Características Generales				Requerimientos de redes			
	Tipo	Zona	Ubicación	Descripción	Hidrosanitaria	Eléctrica	HVAC	Gases Especiales
Almacenamiento refrigerado	Equipo	Limpia	Bajo mesón	Nevera y congelador (-18°C y 4°C).	No	Si	No	No
Autoclave	Equipo	Exterior	Equipo de piso	Equipo por lotes. Volumen útil mínimo de 75 L (para esterilizar material y el biorreactor)	Si	Si	No	No
Balanza analítica	Equipo	Limpia	Sobre mesón	Resolución mínima: 0.1 mg	No	Si	No	No
Bomba de vacío	Equipo	Limpia	Bajo mesón	Bajo nivel de ruido, máximo hasta 1 pulgada de Hg abs	No	Si	No	No
Cabina de flujo laminar	Equipo	Estéril	Equipo de piso	Cabina de Flujo laminar, con acceso de tubería de vacío. Considerar referencias con espacio amplio.	No	Si	No	No
Centrífuga	Equipo	Limpia	Sobre mesón	Para tubos Falcon® de 15 y 50 mL. Se recomienda seleccionar un equipo robusto y con flexibilidad y facilidad de adaptación.	No	Si	No	No
Osmómetro	Equipo	Limpia	Sobre mesón	Debe poder cuantificar las condiciones estándar aptas de medios y cultivos (260 - 320 mosmol/Kg)	No	Si	No	No
pHmetro	Equipo	Limpia	Sobre mesón	Considerar adquisición con electrodo para pequeñas escalas	No	Si	No	No
Lector multimodal	Equipo	Limpia	Sobre mesón	Lector de absorbancia, fluorescencia y luminiscencia en diferentes volúmenes (placas de 96 pozos, cajas de Petri, frascos T, laminillas portaobjetos, entre otras), considerar equipos en los cuales se pueda hacer seguimiento de cinéticas de crecimiento de microorganismos o reacciones.	No	Si	No	Si
Microscopio Invertido	Equipo	Limpia	Sobre mesón	Flexible, con posibilidad de instalar filtros y cámaras para captura de imágenes	No	Si	No	No
Mufla o secador	Equipo	Exterior	Sobre mesón	Temperatura promedio de 70°C	No	Si	No	No
Pipeteador eléctrico	Equipo	Limpia / Estéril	Sobre mesón	Que incluya filtro de membrana de 0.22µm	No	Si	No	No

Tabla 3-1. Descripción general de equipos y sus requerimientos

Equipo	Características Generales				Requerimientos de redes			
	Tipo	Zona	Ubicación	Descripción	Hidrosanitaria	Eléctrica	HVAC	Gases Especiales
Plancha de agitación magnética	Equipo	Limpia	Sobre mesón	Estándar	No	Si	No	No
Sistema de Crio-preservación	Equipo	Limpia	Bajo mesón	Tanque de Nitrógeno Líquido para almacenamiento de muestras	No	No	No	No
Incubadora CO ₂	Equipo	Limpia	Sobre mesón	Control mínimo de temperatura 1°C y de CO ₂ 1%	No	Si	No	Si
Sistema de cultivo en <i>spinner</i>	Equipo	Limpia	Sobre mesón	Base de agitación magnética que se pueda mantener en incubadora y no genere interrupción en cultivo	No	Si	No	No
Biorreactor	Equipo	Limpia	Sobre mesón	Biorreactor con jarra de 3 L con tapa adaptada para diferentes accesorios (sensor de pH, sensor de oxígeno disuelto, sensor de temperatura, puerto de toma de muestras, puertos de carga y descarga, puerto de ingreso de aireación y sistema de agitación mecánica)	Sí	Si	No	No
Sistema de control de reactor	Equipo	Limpia	Sobre mesón	Sistema de control de condiciones a controlar al interior del reactor y el ingreso de reactivos y gases.	No	Si	No	Si
Sistema de Filtración	Equipo	Limpia	Sobre mesón	Sistema esterilizable porta filtros para filtración con membrana de 0.22 µm	No	No	No	No
Sistema de Ingreso	Equipo	Gris	Exterior	Sistema electrónico de control de acceso al laboratorio	No	Si	No	No
Vortex	Equipo	Limpia	Sobre mesón	Estándar	No	Si	No	No
Micropipeta	Equipo	Limpia / Estéril	Sobre mesón	Se requiere kit de micropipetas de volumen variable en diferentes escalas. Se recomienda kit (1000 a 5000, 100 a 1000, 20 a 100, 1 a 10, y 0,1 a 1 µL)	No	No	No	No
Micropipeta multicanal (12)	Equipo	Limpia / Estéril	Sobre mesón	Se emplea para dosificación de placas de pozos por lo cual se recomienda que maneje volúmenes entre 10 y 200 µL	No	Si	No	No
Computador	Equipo	Limpia / Estéril	Sobre mesón	Contar con CPU independiente de monitor para realizar la conexión de todos los equipos del laboratorio a un solo dispositivo. Prever las limitaciones de espacio y seleccionar un equipo tal que no ocupen mucho espacio del laboratorio. Requiere conectividad a internet alámbrica o wifi.	No	Si	No	No

3.3.2 Red Eléctrica

El 80% de los equipos ubicados al interior del laboratorio requieren suministro eléctrico (resaltados en color verde en la **Tabla 3-1**). Esto implica que debe preverse la instalación de múltiples conexiones al interior del laboratorio, en lo posible distribuidas en toda el área para realizar la conexión de los mismos. Algunos de los equipos requeridos pueden funcionar a 110V y otros a 220V y pueden tener requerimientos de corriente monofásica y bifásica.

Los equipos que poseen circuitos de precisión y que para su funcionamiento no requieren alimentar motores, como en el caso de la balanza analítica, pHmetro, computador y osmómetro o lector multimodal, se recomienda operen en conexión a un sistema de UPS para garantizar la estabilidad en su operación y que en caso de una interrupción súbita del suministro de energía mantenga encendido el equipo por un tiempo tal que permita apagar el equipo apropiadamente.

El sistema de iluminación original del cuarto, eran 2 bombillos de filamento al interior y uno en el exterior que se activan en simultáneo con un interruptor externo. Se requiere ampliar la cantidad de fuentes de iluminación en el espacio e incrementar su concentración sobre las superficies de trabajo, en lo posible, la iluminación se recomienda de luz blanca, para facilitar el análisis visual de las muestras a trabajar. El hecho de que el sistema de encendido de las luces interiores sea el mismo de la luz exterior favorece el hecho de que sea visible desde el exterior la presencia del personal al interior del laboratorio, por lo cual se considera importante conservar esa característica, sin embargo, es apropiada la instalación de un sistema independiente de iluminación al interior que se pueda manejar independiente del interruptor exterior, para evitar que inadvertidamente alguien apague el sistema exterior y el investigador pueda quedar a oscuras.

Se debe incluir iluminación de emergencia que pueda ser empleada en el momento de una evacuación, con autonomía suficiente para realizar la salida del laboratorio de forma adecuada.

3.3.3 Red HVAC

De acuerdo con los requerimientos presentados en la **Tabla 3-1**, ninguno de los equipos requiere ingreso o salida de sistema de ventilación mecánica. Sin embargo, teniendo en cuenta que el espacio se empleará en el cultivo de líneas celulares y que se desea un entorno de aire controlado, es necesario realizar el diseño de un sistema HVAC de suministro de aire que mantenga el sistema en condiciones de presión positiva. La presión positiva garantizará que la totalidad del aire al interior del laboratorio tenga la calidad que se define en el sistema de filtración previo al ingreso, y si se opera de manera continua garantiza el control de temperatura, humedad y presión al interior del laboratorio.

La distribución de los puntos de ingreso al laboratorio debe prever la instalación de la cabina de flujo laminar, garantizando que los puntos de mayor afluencia de personal estén tan alejados de ella como sea posible.

3.3.4 Red de gases especiales

El LIQ cuenta con un sistema centralizado de gases especiales, desde el cual hay acceso para conexión al laboratorio. La **Tabla 3-1** presenta resaltados en rosado los equipos que requieren conexión a líneas de gases especiales; la **Tabla 3-2** presenta para cada uno de ellos, qué tipo de gases requieren para su óptimo funcionamiento, teniendo en cuenta que se emplearán para cultivo celular.

Teniendo en cuenta que estos gases, con la excepción del aire comprimido, no son de la calidad disponible en la red del LIQ, y en pro de garantizar la seguridad de los cultivos, se considera necesaria la instalación de cilindros de uso exclusivo para el laboratorio y por tanto una instalación de tubería independiente a la del edificio. Adicionalmente, con el fin de garantizar la seguridad de los investigadores al interior del laboratorio, se recomienda la instalación de un sistema de detección y alarma de concentración de gases al interior del laboratorio.

3.3.5 Redes de voz y datos

Los equipos de la **Tabla 3-1** no necesariamente requieren acceso a internet para su funcionamiento, aunque su disponibilidad facilita la labor de recopilación de datos y

Tabla 3-2. Equipos que requieren gases especiales y sus características

Equipo	Gas(es) requeridos	Características
Lector multimodal (En caso de incluir sistema para cultivo celular)	CO ₂	Se recomienda grado 4.0 (Praxair, 2015) o su equivalente para cultivos anaeróbicos
	N ₂	Se recomienda grado 6.0 o 4.8 (Praxair, 2000)
Incubadora CO ₂	CO ₂	Se recomienda grado 4.0 (Praxair, 2015) o su equivalente para cultivos anaeróbicos
Sistema de control del biorreactor	CO ₂	Se recomienda grado 4.0 (Praxair, 2015) o su equivalente para cultivos anaeróbicos
	O ₂	Se recomienda VERISEQ, grado 4.8 o grado 6.0 (Linde Gases Division, 2017)
	Aire comprimido	Se recomienda usar compresor sin aceite o pre-filtrar para eliminar partículas de aceite del compresor.

NOTA: Todos estos gases deberán ser filtrados in-situ previamente a su ingreso a los equipos por membranas de 0.22µm para garantizar su esterilidad.

procesamiento de los mismos; por esta razón, se considera la adquisición de un computador desde el cual se logre conectividad con los demás equipos y centralizar así la información. Ahora bien, teniendo en cuenta que el computador puede tener una conexión vía wifi a la red inalámbrica de la Universidad, es preferible evitar la conexión de más cableado y se recomienda acceder a internet únicamente por este medio. Contemplar la instalación de al menos un punto de conexión telefónica es importante para emplearlo en caso de emergencias o para notificación de novedades al interior del laboratorio.

3.4 Presupuesto preliminar de mobiliario y equipos

3.4.1 Mobiliario

El mobiliario del laboratorio está conformado por las superficies de trabajo o mesones, los muebles de almacenamiento superior o inferior y las sillas. Para determinar el estimado preliminar de requerimientos, se tuvieron las siguientes consideraciones:

- Todas las paredes a excepción de la puerta poseen superficie de trabajo de profundidad estándar. 0.6 – 0.7m.

- Si es así, se espera que trabajen máximo dos personas, así que se ubicarán 2 sillas de laboratorio.
- El almacenamiento es importante en este tipo de laboratorios, por lo cual, se estimará que toda el área bajo mesón se emplea para almacenamiento a excepción de 2 espacios para uso con silla (0.7m cada uno).
- Muchos de los equipos se ubican sobre mesón, por lo cual el acceso a almacenamiento superior será restringido, se estimará que el almacenamiento superior estará ubicado como máximo en el 30 % del perímetro del laboratorio.

Bajo estas suposiciones se obtuvo el presupuesto preliminar de mobiliario presentado en la **Tabla 3-3**.

Tabla 3-3. Presupuesto preliminar de mobiliario

ITEM	Unidad	Cantidad	Valor Unitario USD	Valor Unitario COP	Valor Total	Referencia
Mesón en resina epóxica* con medias cañas, monolítica sin juntas, profundidad estándar 0.6 - 0.7 m	m	10,49	\$616,46	\$1.787.737	\$18.753.357	(VWR, 2017)
Almacenamiento Inferior en acero <i>cold rolled</i> , cubierto con pintura electrostática y acabado brillante.	m	9,09	\$262,47	\$761.155	\$6.918.898	(Staples.com, 2017)
Almacenamiento Superior	m	3,147	\$838,07	\$2.430.416	\$7.648.518	(Fischer Scientific, 2017)
Sillas de laboratorio	un	1	\$292,00	\$846.800	\$846.800	(Laboratory-equipment.com, 2017)
TOTAL					\$34.167.573 COP	

NOTAS: *Se cotiza en resina epóxica por ser la técnicamente más recomendable

** Se emplea TRM de 2.900 COP (Promedio 2017 Enero - Marzo)

3.4.2 Equipos

Con respecto a los equipos, con base en las especificaciones básicas establecidas, fueron cotizados de forma preliminar los equipos requeridos y se obtuvieron los precios presentados en la **Tabla 3-4**.

Tabla 3-4. Presupuesto aproximado de equipos mínimos requeridos

EQUIPO	PRECIO PROMEDIO (USD)	PRECIO (COP)***	FUENTE
Almacenamiento refrigerado	\$2.170,00	\$ 6.293.000	(Coleparmer.com, 2017)
Autoclave*	\$1.070,00	\$ 3.103.000	(Coleparmer.com, 2017)
Balanza analítica	\$1.790,00	\$ 5.191.000	(Coleparmer.com, 2017)
Bomba de vacío	\$449,88	\$ 1.304.652	(a3bs.com, 2017)
Cabina de flujo laminar	\$5.120,00	\$ 14.848.000	(Coleparmer.com, 2017)
Centrífuga	\$7.400,00	\$ 21.460.000	(Coleparmer.com, 2017)
Osmómetro	\$2.450,00	\$ 7.105.000	(labx.com, 2017)
pHmetro	\$153,00	\$ 443.700	(Coleparmer.com, 2017)
Lector multimodal	\$4.950,00	\$ 14.355.000	(labx.com, 2017)
Microscopio Invertido	\$3.000,00	\$ 8.700.000	(labx.com, 2017)
Mufla o secador*	\$800,00	\$ 2.320.000	(Coleparmer.com, 2017)
Pipeteador eléctrico	\$1.580,00	\$ 4.582.000	(Coleparmer.com, 2017)
Plancha de agitación magnética*	\$255,00	\$ 739.500	(Coleparmer.com, 2017)
Sistema de Crio-preservación	\$500,00	\$ 1.450.000	(labx.com, 2017)
Incubadora CO2	\$2.200,00	\$ 6.380.000	(labx.com, 2017)
Sistema de cultivo en <i>spinner</i>	\$ 1.100	\$ 3.190.000	(Coleparmer.com, 2017)
Bioreactor	\$42.300,00	\$ 122.670.000	(Coleparmer.com, 2017)
Sistema de control de reactor**	\$-	\$ -	(Coleparmer.com, 2017)
Sistema de Filtración	\$104,00	\$ 301.600	(Coleparmer.com, 2017)
Sistema de Control de Ingreso con lector de tarjetas	\$249,00	\$ 722.100	(idcardgroup.com, 2017)
Vortex	\$257,00	\$ 745.300	(Coleparmer.com, 2017)
Micropipeta	\$506,00	\$ 1.467.400	(labx.com, 2017)
Micropipeta multicanal (12)	\$660,00	\$ 1.914.000	(www.brand.de, 2017)
Computador	\$689,66	\$ 2.000.000	(labx.com, 2017)
TOTAL	\$79.753,54	\$231.285.252	

NOTAS: * Equipos disponibles en laboratorios anexos, por verificar capacidades. **El sistema de control está incluido en el costo del reactor. *** TRM de 2900 COP (Promedio 2017 Enero - Marzo).

FUENTES:

4. Ingeniería de Detalle

La Ingeniería de Detalle consiste en el desarrollo detallado de las adecuaciones, redes, adquisiciones, el plan de adquisiciones y el presupuesto detallado del proyecto. Por lo tanto, el presente capítulo contiene las referencias a las matrices, planos y presupuestos detallados de cada capítulo constituyente del proyecto de construcción y puesta a punto del laboratorio BSL2 para cultivo de células animales del LIQ.

4.1 Acabados Arquitectónicos (adecuaciones locativas)

Los planos detallados de acabados arquitectónicos, se pueden evidenciar en los planos PD-01 a PD-09 del **ANEXO 3**. Planos constructivos detallados.

4.2 Mobiliario

Los planos detallados de mobiliario, se pueden evidenciar en los planos PD-01 a PD-09 del **ANEXO 3**. Planos constructivos detallados. Adicionalmente se cuenta con un isométrico en 3D como el plano ID-01 del **ANEXO 4**. Isométricos detallados de instalación de sistemas principales.

4.3 Red Hidrosanitaria

Los planos detallados de mobiliario, se pueden evidenciar en los planos PD-01 a PD-09 del **ANEXO 3**. Planos constructivos detallados. Adicionalmente se cuenta con un isométrico en 3D como el plano ID-02 del **ANEXO 4**. Isométricos detallados de instalación de sistemas principales.

4.4 Red Eléctrica

Los planos detallados de mobiliario, se pueden evidenciar en los planos PD-01 a PD-09 del **ANEXO 3**. Planos constructivos detallados. Adicionalmente se cuenta con un isométrico en 3D como el plano ID-03 del **ANEXO 4**. Isométricos detallados de instalación de sistemas principales.

4.5 Red HVAC

4.5.1 Diseño del sistema HVAC mediante modelación numérica

La modelación numérica hace parte importante del diseño de procesos en múltiples sectores, los cuales cada vez se hacen más sofisticados y requieren de mejores prácticas de diseño y construcción para ser óptimos una vez en su operación. El diseño de sistemas de aire acondicionado, el cálculo preciso de la fluidodinámica del aire dentro de los espacios confinados es crucial para el correcto dimensionamiento de los equipos de propulsión, tales como los sopladores, ventiladores y compresores. En este caso se emplea el enfoque CFD (Dinámica computacional de fluidos, por sus siglas en inglés) para el modelado del flujo de aire y las diferentes irreversibilidades asociadas a este proceso. Los procedimientos considerados para el modelado del proceso son detallados en el presente documento.

4.5.1.1 CFD (Computational Fluid Dynamics)

La Dinámica Computacional de Fluidos o CFD por sus siglas en inglés (Versteeg & Malalasekera, 1995), es un enfoque reciente de modelación de los fenómenos de transporte. Este enfoque numérico detallado permite considerar las irreversibilidades que quedan fuera del alcance de los modelos tradicionales de la ingeniería de procesos.

En especial cuando se trabaja con sistemas fluidos compresibles altamente turbulentos, o con patrones de flujo circulares complejos como es este caso, CFD resulta ser un enfoque bastante preciso y útil (Bayon, Valero, García-Bartual, Vallés-Morán, & López-Jiménez, 2016; Guevara, 2015; Guevara & Belalcázar, 2017; Guevara L., Reyes F., & Guevara L., 2015). Hay múltiples aplicaciones del CFD a problemas de diseño en ingeniería con gran

éxito que sirven como base para sustentar su aplicación en desarrollos actuales y futuros, ya que cada vez la capacidad computacional es más alta lo que permite llevar a cabo desarrollos cada vez más complejos y detallados en mucho menor tiempo.

Una modelación CFD puede aplicarse a cualquier sistema fluido, en este caso es un sistema multifásico altamente turbulento. La modelación empleando CFD está compuesta por tres etapas principales: pre-procesamiento, procesamiento y pos-procesamiento.

Pre-Procesamiento: corresponde a toda la preparación de la simulación y el modelamiento para que este sea llevado a un buen término, consisten principalmente de: construcción de la geometría, definición del dominio, generación de la malla y set-up o configuración de la simulación.

En la construcción de la geometría consiste en la digitalización tridimensional del sistema que será modelado. La definición del dominio es de gran importancia, ya que este consiste en especificar cuál es el volumen de control del sistema que será simulado.

La generación de la malla corresponde a la discretización del dominio del sistema, esta discretización se hace empleando volúmenes finitos que pueden ser tetraédricos, hexaédricos o poliédricos de acuerdo a la geometría y los fenómenos que se involucran. La malla generada debe ser probada y debe cumplir con ciertos criterios de calidad para poder llegar a resultados físicamente posibles y precisos.

El set-up corresponde a la selección de los modelos matemáticos y parámetros a ser utilizados para describir los fenómenos involucrados en la simulación del sistema.

Luego de esto la simulación esta lista para correr, poner el programa a correr corresponde a la etapa llamada procesamiento.

Finalmente, el pos-procesamiento consiste en la evaluación de los resultados obtenidos de la simulación desarrollada.

4.5.1.2 Modelo de turbulencia κ - ϵ

El flujo de fluidos en régimen turbulento se caracteriza por la fluctuación de su campo de velocidad, dichas fluctuaciones implican cambios en diferentes propiedades de transporte,

tal como el momento, calor y la concentración de las especies presentes en el fluido, de tal modo que todas estas propiedades también fluctúan.

Estas variaciones pueden ser de una baja escala y alta frecuencia, ellas también son muy costosas computacionalmente para ser simuladas directamente en aplicaciones prácticas de ingeniería. Una forma más sencilla para modelar este tipo de fenómenos es utilizar una estructura promediada en el tiempo o de otro tipo, para las ecuaciones fundamentales que gobiernan los fenómenos de transporte para fluidos en régimen laminar.

Las formas más sencillas de representar la turbulencia son los modelos que presentan dos ecuaciones, las cuales se relacionan para determinar la solución del perfil de velocidad turbulento del fluido. Fluent® posee diferentes tipos de modelos, de los cuales se destaca el modelo propuesto por Lauder y Spalding en 1974 el cual se denota con el nombre de κ - ϵ , el cual presenta un nivel importante de robustez pero a su vez se muestra un modelo económico en términos de cálculos computacionales teniendo una precisión razonable para un amplio rango de tipos de condiciones de flujo turbulento.

El modelo κ - ϵ en su forma estándar tiene una base semi-empírica, el cual utiliza las ecuaciones de transporte para la energía cinética turbulenta (κ) y su tasa de disipación (ϵ). La energía cinética turbulenta y su tasa de disipación se obtienen a partir de la **(Ecuación 4-1)** y la **(Ecuación 4-2)**

$$\frac{\partial}{\partial t}(\rho\kappa) + \frac{\partial}{\partial x_i}(\rho\kappa V_i) = \frac{\partial}{\partial x_j} \left[\left(\mu + \frac{\mu_T}{\sigma_\kappa} \right) \frac{\partial \kappa}{\partial x_j} \right] + G_K + G_B - \rho\epsilon - Y_M + S_\kappa \quad (\text{Ecuación 4-1})$$

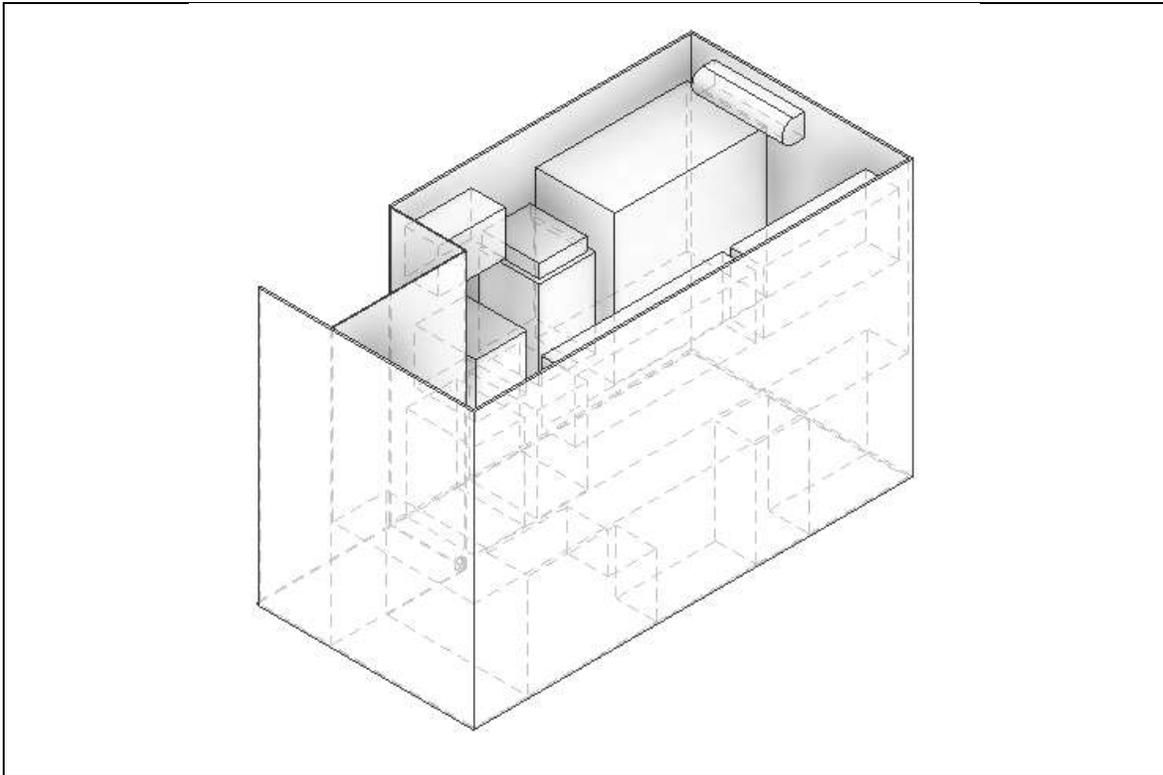
$$\frac{\partial}{\partial t}(\rho\epsilon) + \frac{\partial}{\partial x_i}(\rho\epsilon V_i) = \frac{\partial}{\partial x_j} \left[\left(\mu + \frac{\mu_T}{\sigma_\epsilon} \right) \frac{\partial \epsilon}{\partial x_j} \right] + C_{1\epsilon} \frac{\epsilon}{K} (G_k + C_{3\epsilon} G_b) - C_{2\epsilon} \rho \frac{\epsilon^2}{K} + S_\epsilon \quad (\text{Ecuación 4-2})$$

4.5.1.3 Simulación CFD

Se desarrolló la simulación CFD con el objetivo de modelar el flujo de aire al interior del laboratorio de biotecnología, en búsqueda de la velocidad apropiada para el ventilador que genere una presión positiva de 12 pascales dentro del laboratorio, asegurando a la vez de mantener el flujo laminar dentro del sistema.

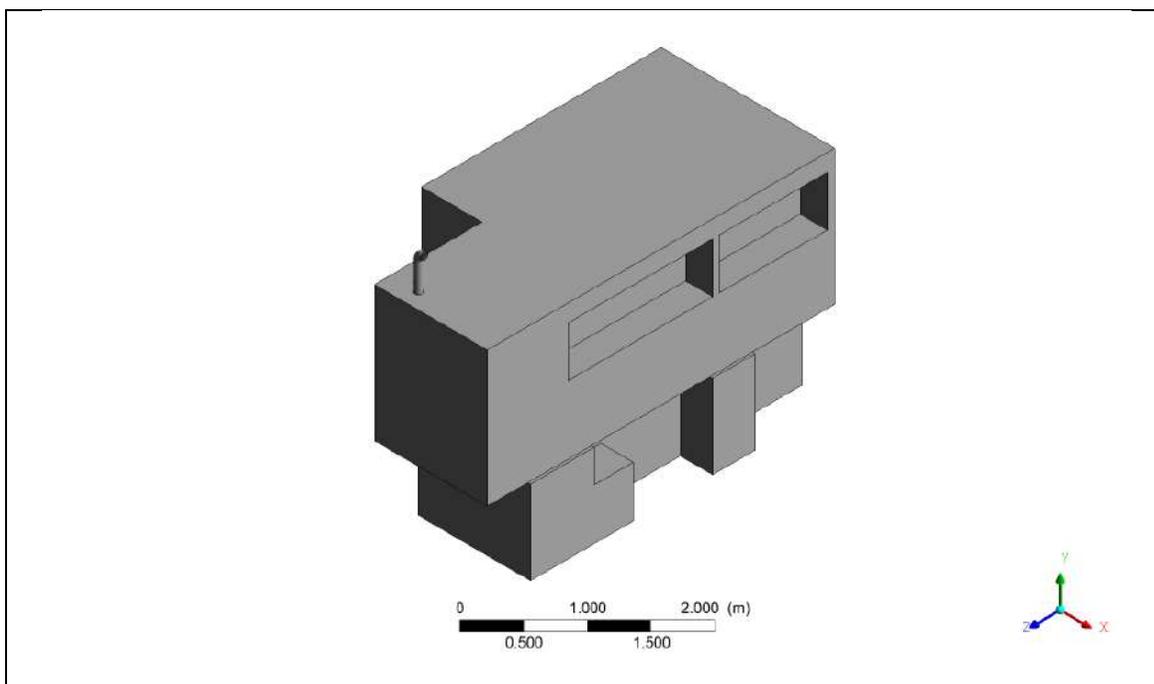
Geometría y dominio de la simulación

Como primer paso se encuentra el desarrollo de la geometría, esta es desarrollada con base en la información levantada del sistema 3D del laboratorio implementado, tal como se presenta en la **Figura 4-1** y **Figura 4-2**.

Figura 4-1. Vista isométrica del modelo del laboratorio**Figura 4-2.** Sistema de distribución de aire.

En esta ocasión la geometría desarrollada corresponde al dominio de flujo, por lo tanto, hacer una operación geometría de tipo booleano para extraer el volumen interno de los equipos no es necesario, resultando el dominio presentado en la **Figura 4-3**.

Figura 4-3. Dominio de la simulación.



Malla y condiciones de frontera

La malla se desarrolla sobre la geometría descrita anteriormente, los parámetros principales de la malla se resumen en la **Tabla 4-1**.

Tabla 4-1. Propiedades de la malla

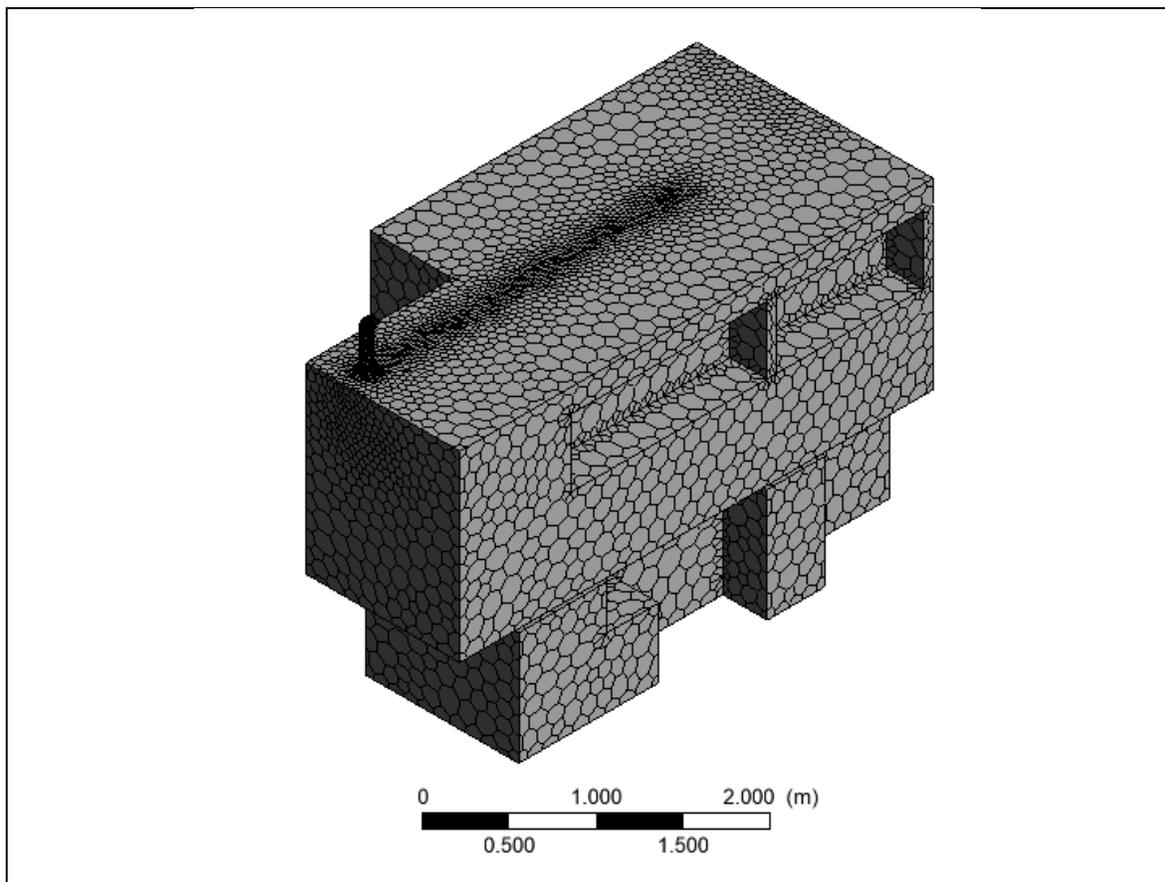
Propiedad	Magnitud
Tamaño mínimo de elemento	5×10^{-5}
Tamaño máximo de elemento	3.3×10^{-2}
Cantidad de elementos	722177
Tipo de elementos	poliédrica
Calidad ortogonal de la malla	6×10^{-2}

Para el desarrollo de la malla existen ciertos de calidad que pueden ser evaluados, en este caso se utiliza el de calidad ortogonal (orthogonal Quality), este criterio de calidad compara cada elemento de la malla con un cubo, asignándole un valor de 1 a un cubo perfecto (hexaedro con todas sus aristas iguales) y 0 a un plano (Guevara & Belalcázar, 2017).

La forma de evaluar la calidad de la malla consiste en revisar el elemento de peor calidad en la malla, es decir el de menor calidad ortogonal, si este elemento tiene una calidad ortogonal mayor a 0.01 se puede considerar que la malla es de buena calidad. Al realizar dicha verificación la malla obtenida se presenta en la **Figura 4-4**.

Una malla de buena calidad significa que sus elementos son de una forma adecuada para llevar a cabo el cálculo numérico, debido a esto un único elemento de mala calidad en la malla puede ocasionar que la simulación completa diverja o converja a valores físicamente imprecisos (Ansys, 2016).

Figura 4-4. Malla del equipo poliédrica



Set up del modelo

El set-up del modelo requiere de la consideración de varios aspectos importantes para el proceso. Estos aspectos son discutidos a continuación y con base en la naturaleza del proceso se define el modelo más adecuado para la simulación del proceso.

Turbulencia

Se selecciona el modelo de turbulencia κ - ϵ para establecer el régimen de flujo. Como se tiene que mantener flujo laminar al interior del laboratorio, se usa la relación presente con la energía cinética turbulenta para una tubería suave. Para lo cual se define el número de Reynolds de acuerdo con la **(Ecuación 4-3)** y **(Ecuación 4-4)**.

$$Re = \frac{\rho D v}{\mu} \quad (\text{Ecuación 4-3})$$

$$v = \frac{\mu Re}{\rho D} \quad (\text{Ecuación 4-4})$$

Para un número de Reynolds de 1000, y el diámetro de entrada de aire que es de 8cm, se obtiene una velocidad límite superior laminar de 0.127 m/s. Para esa velocidad la energía cinética turbulenta en el ducto se tiene un valor de 3×10^{-2} J/kg, este valor se estima como el valor de transición entre régimen laminar y turbulento dentro del laboratorio.

Fluidos y condiciones de proceso para la simulación base

Inicialmente se debe desarrollar una simulación base, sobre la cual se harán posteriormente ajustes a la geometría y a las condiciones de proceso con el fin de hacer la simulación más precisa en relación con la información base suministrada **(Tabla 4-2)**.

Tabla 4-2. Propiedades de los fluidos y condiciones de proceso para el set-up de la simulación CFD.

Propiedad	Magnitud
Velocidad de entrada*	0.179 m/s
Densidad**	0.8977 kg/m ³
Viscosidad	2.3 x 10 ⁻⁶ cP

* La velocidad de entrada del aire como fase continua varía desde el valor del caso base hasta un máximo de 4 m/s, siendo esta la velocidad máxima. ** La densidad del aire se asume constante inicialmente ya que el número de Mach es menor a 0.2.

El sistema se modela como flujo incompresible, ya que no tiene velocidades mayores a números de Mach mayores de 0.6. comúnmente en CFD se considera el flujo de gases como incompresible para números de Mach subsónicos por debajo de 0.6 (Ansys, 2016). De forma posterior será llevado a cabo el modelamiento del sistema considerando el aire como un fluido incompresible.

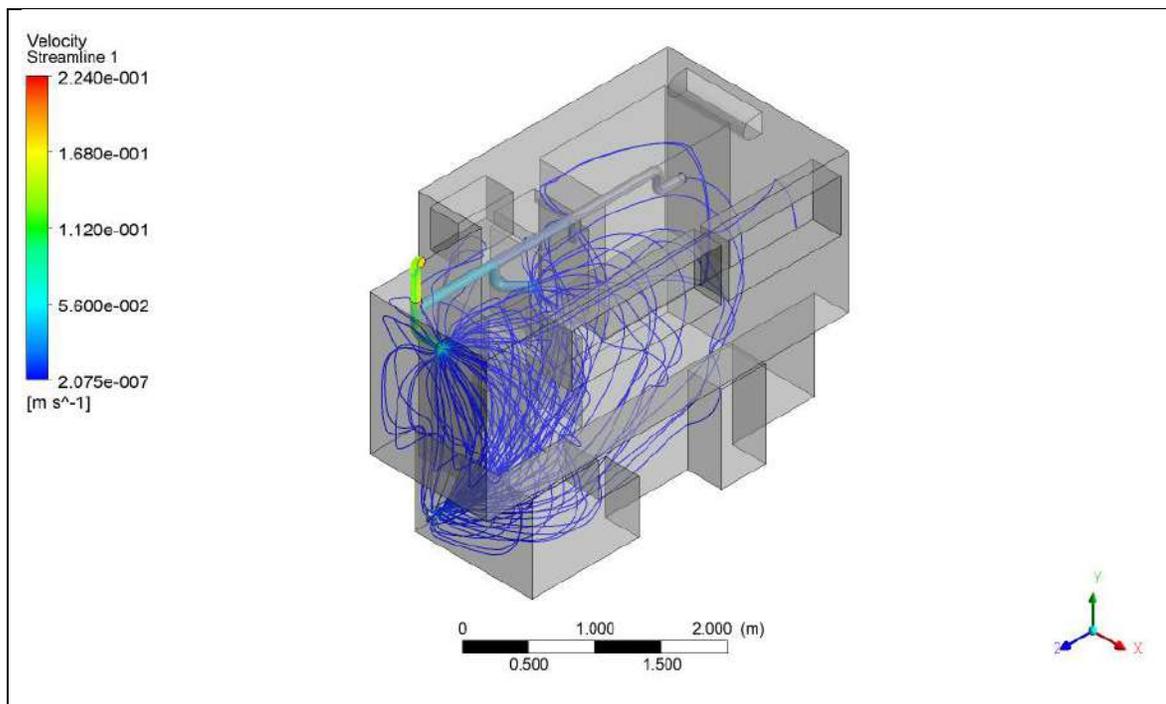
4.5.1.4 RESULTADOS DE LA MODELACIÓN

En esta sección se resumen los resultados obtenidos para la simulación CFD del proceso.

Resultados CFD caso base (CB)

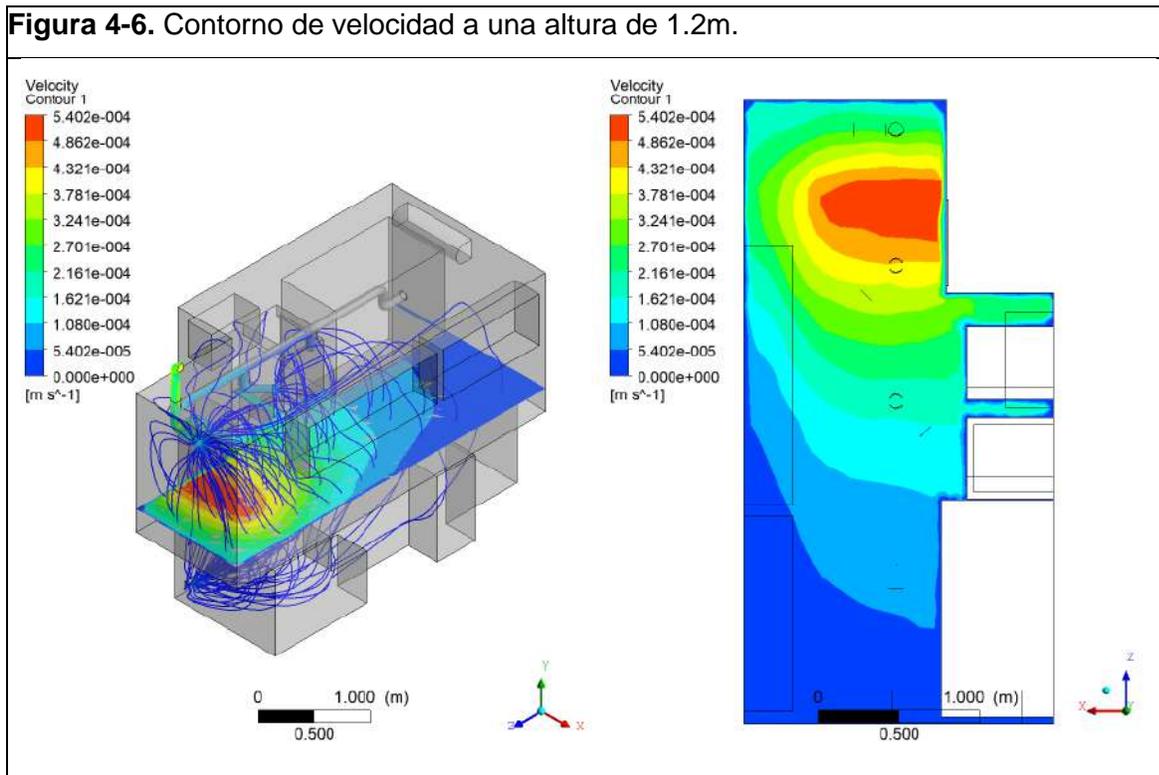
La simulación se llevó a cabo en estado dinámico para un tiempo total de simulación de 15 segundos, el *time step* seleccionado fue de 0.01s, para un total de 1500 simulaciones y se guardaron datos cada segundo para verificar estabilidad y que se alcanza el estado estacionario.

Figura 4-5. Líneas de corriente para el caso base de simulación.



En la **Figura 4-5** se pueden observar las líneas de corriente al interior del sistema. La escala de colores indica la magnitud de la velocidad del aire en cada punto del espacio. Los valores reportados de velocidad van desde 2×10^{-7} a 0.224 m/s. La velocidad máxima se obtiene en la entrada del sistema de distribución de aire, siendo esta cercana a la velocidad base y es esperada para este sistema. Dentro del laboratorio se tiene una velocidad muy baja. Se observa que el aire sale en forma importante en el primer punto de descarga del sistema de distribución. La cantidad de aire que sale del sistema va disminuyendo en función de la posición relativa a la alimentación, lo que es esperado al considerar la resistencia de flujo aumenta en función de la longitud de tubería por pérdidas de presión del tubo y los accesorios.

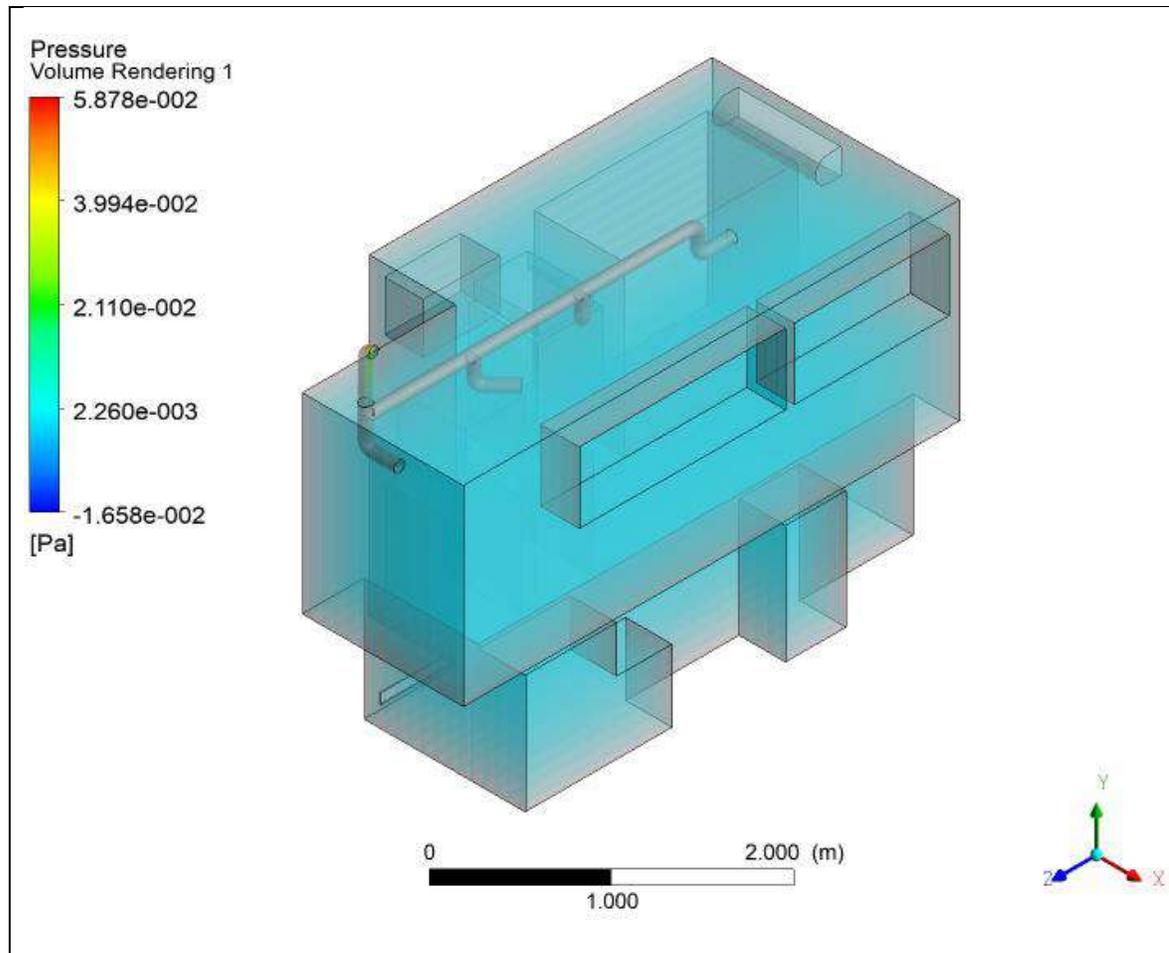
Figura 4-6. Contorno de velocidad a una altura de 1.2m.



En la **Figura 4-6** se presenta el contorno de magnitud de velocidad dentro del laboratorio en un plano z-x a una altura de 1.2 m por sobre el nivel del piso, el equivalente al plano sobre el cual se desarrollan las actividades sobre mesón del laboratorio. En este se observa que la magnitud de la velocidad es máxima justo debajo del primer punto de distribución, aunque el valor máximo al que alcanza la velocidad del aire en ese punto es

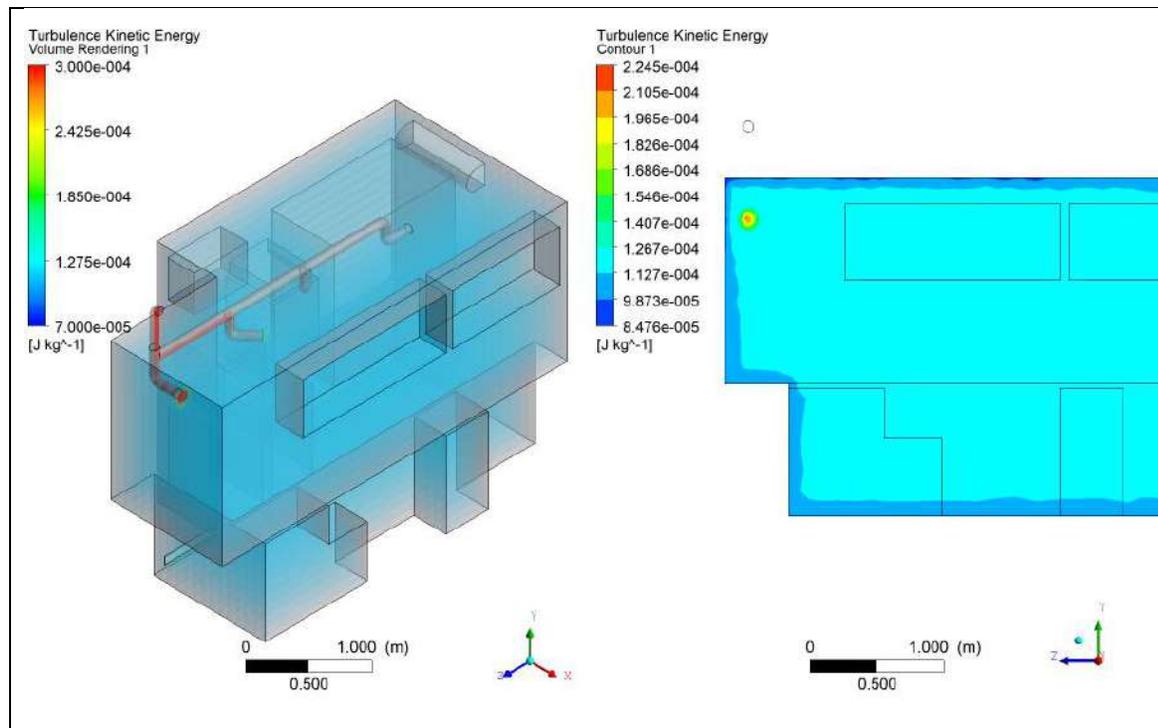
de 5.4×10^{-4} m/s, lo que implica que no corresponde a un caso que implique dificultades dentro del laboratorio, teniendo en cuenta que la tabla 5 de la norma ISO 7730 (AENOR, 2006) menciona que las velocidades recomendadas de 0.1 y 0.12 m/s para invierno y verano respectivamente.

Figura 4-7. Render de presión al interior del laboratorio.



En la **Figura 4-7** se observa una representación de la presión manométrica dentro del laboratorio. Como se puede observar dentro del mismo tiene una magnitud constante y corresponde a un valor de 2.3×10^{-3} Pa. Lo que implica una diferencia de presión baja entre el interior del sistema y el exterior. Aunque positiva difiere bastante del valor máximo requerido.

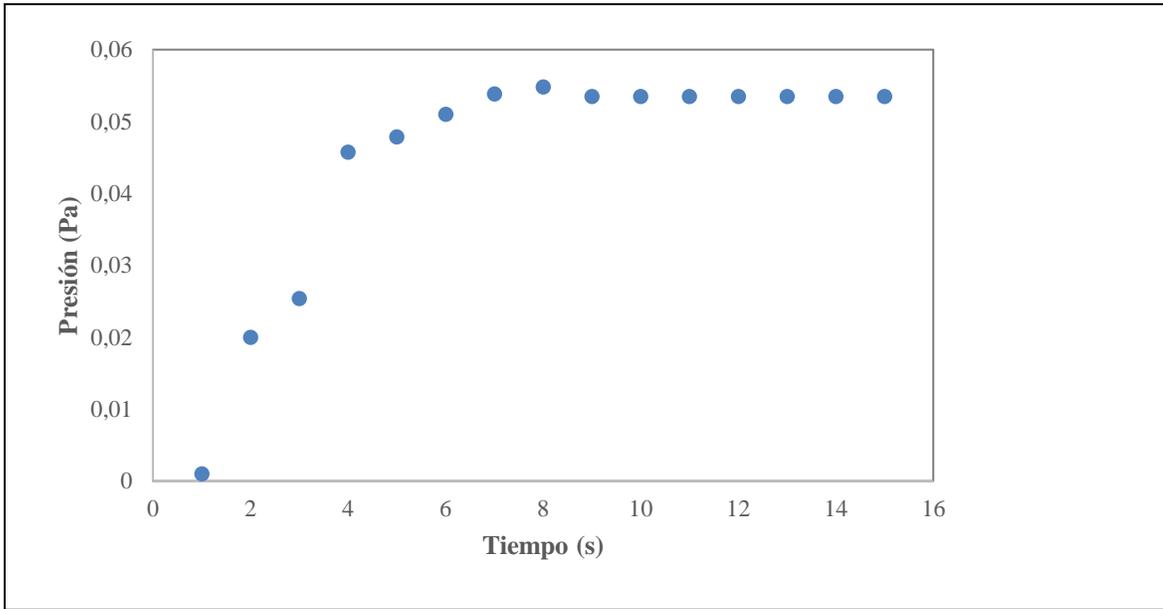
Figura 4-8. Render de energía cinética turbulenta y contorno en el plano yz a una distancia de 5cm de la salida del primer punto del distribuidor de aire.



En la **Figura 4-8** se presenta el render de energía cinética turbulenta para el sistema. Se puede observar que en promedio se tiene un valor de 1.3×10^{-4} J/kg y por lo tanto es laminar dentro del área de trabajo. Es importante destacar que el régimen laminar a la salida de los puntos del sistema de distribución puede verse comprometido al tener velocidades de flujo más altas de lo que se obtiene en este caso. Aun así, el contorno de energía cinética turbulenta presenta un valor máximo de 2.2×10^{-4} J/kg lo que se acepta como valor adecuado.

Se hizo el seguimiento de la solución para llegar a un estado estacionario, tal como se presenta en la **Figura 4-9**, a los 15 segundos el sistema llega a estado estacionario y es en este punto en el que se toman los datos reportados.

Figura 4-9. Comportamiento de la presión manométrica al interior del laboratorio en el tiempo



Se procede entonces a aumentar la velocidad de entrada, con el fin de analizar cada escenario en términos de la presión dentro del laboratorio y la turbulencia generada. Se analizaron 1, 2 y 4 m/s. Siendo esta última velocidad la máxima recomendada para flujo de aire en sistemas de ventilación, según la norma ANSI/ASHRA 62.1-2004 (Stanke et al., 2007).

Resultados CFD para diferentes casos de velocidad de entrada de aire

Se analizaron las variables de velocidad de aire, presión al interior del laboratorio y turbulencia para cada uno de los escenarios definidos por la velocidad de entrada de aire. En la **Tabla 4-3** se presentan los resultados de estas variables para cada uno de los escenarios propuestos; las Figuras 4-10 a 4-18 presentan dicho resultados en detalle.

Tabla 4-3. Resumen de resultados para cada uno de los escenarios planteados

Variable/Escenario	Caso base	1m/s	2m/s	4m/s
Velocidad promedio en el laboratorio (m/s)	3.7×10^{-4}	2.3×10^{-3}	5.6×10^{-3}	0.012
Presión manométrica en el laboratorio (Pa)	0.053	0.623	2.14	5.65
Turbulencia promedio en el laboratorio (J/kg)	1.25×10^{-4}	1.20×10^{-3}	1.9×10^{-3}	1.1×10^{-2}

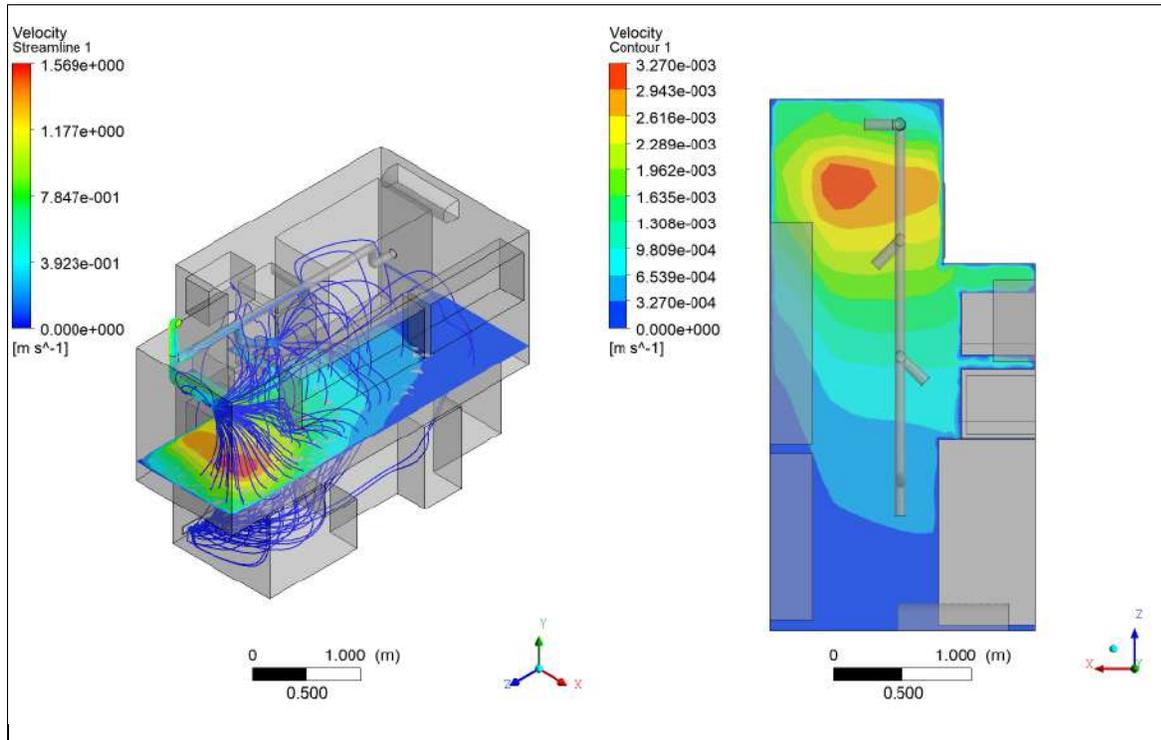
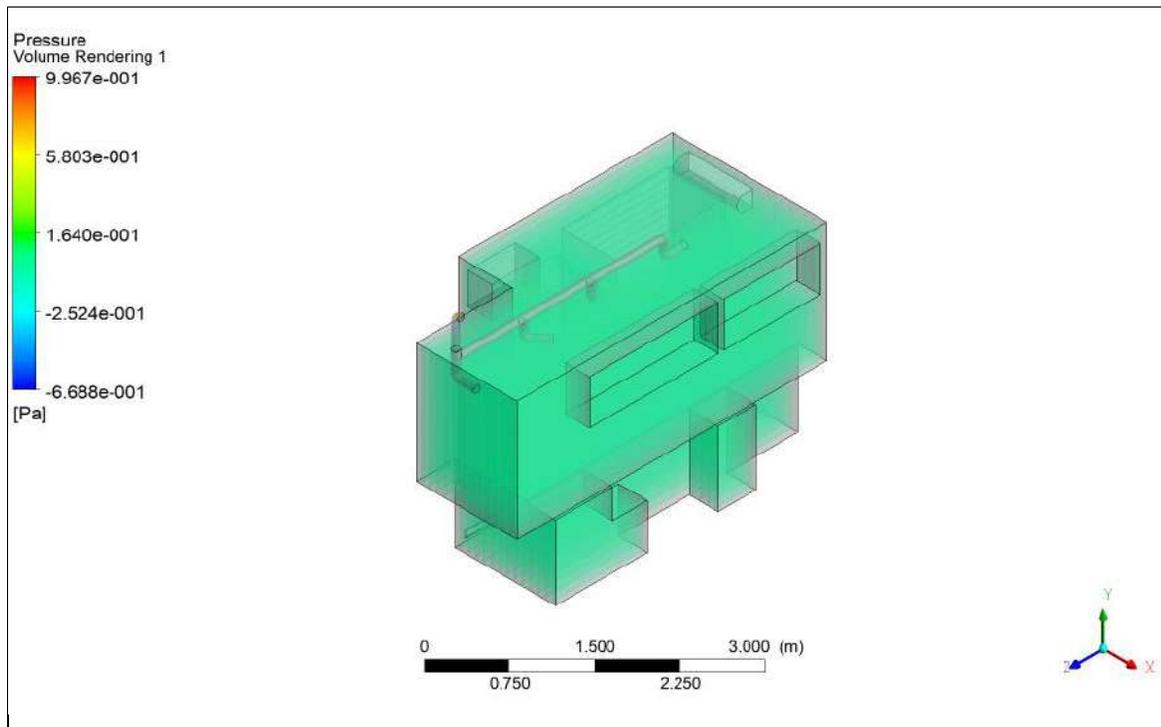
Figura 4-10. Líneas de corriente y contorno de velocidad para el escenario de 1 m/s.**Figura 4-11.** Render de presión para el escenario de 1m/s.

Figura 4-12. Render de energía cinética turbulenta y contorno de energía cinética turbulenta para el escenario de 1m/s.

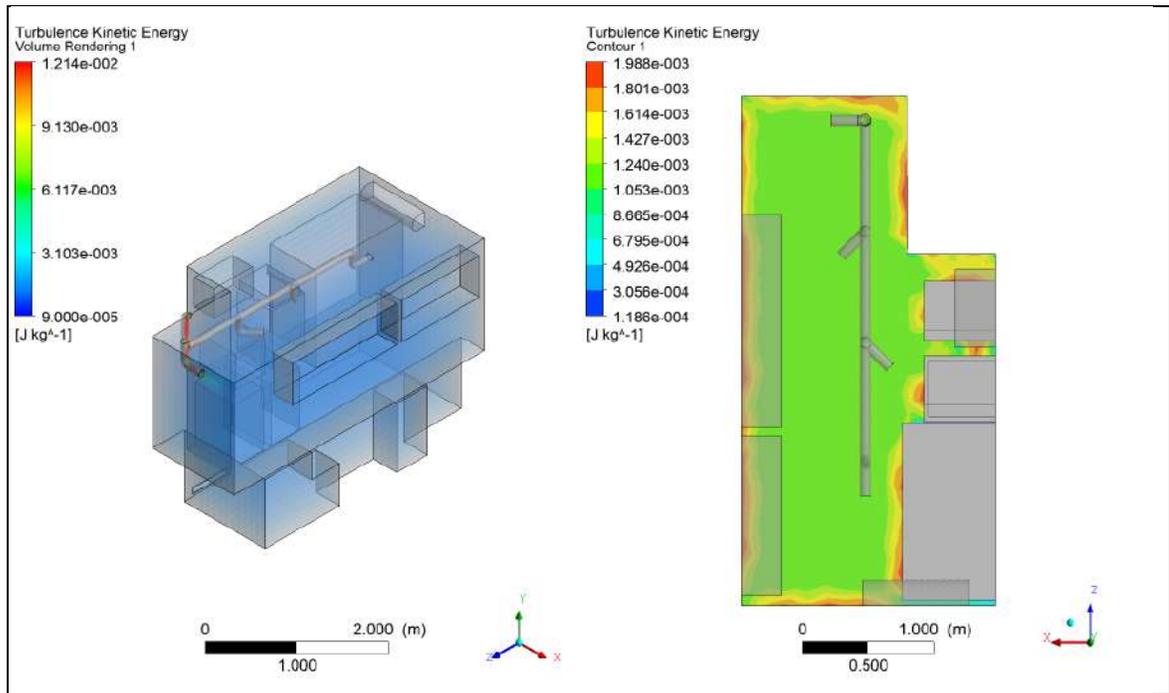


Figura 4-13. Líneas de corriente y contorno de velocidad para el escenario de 2 m/s.

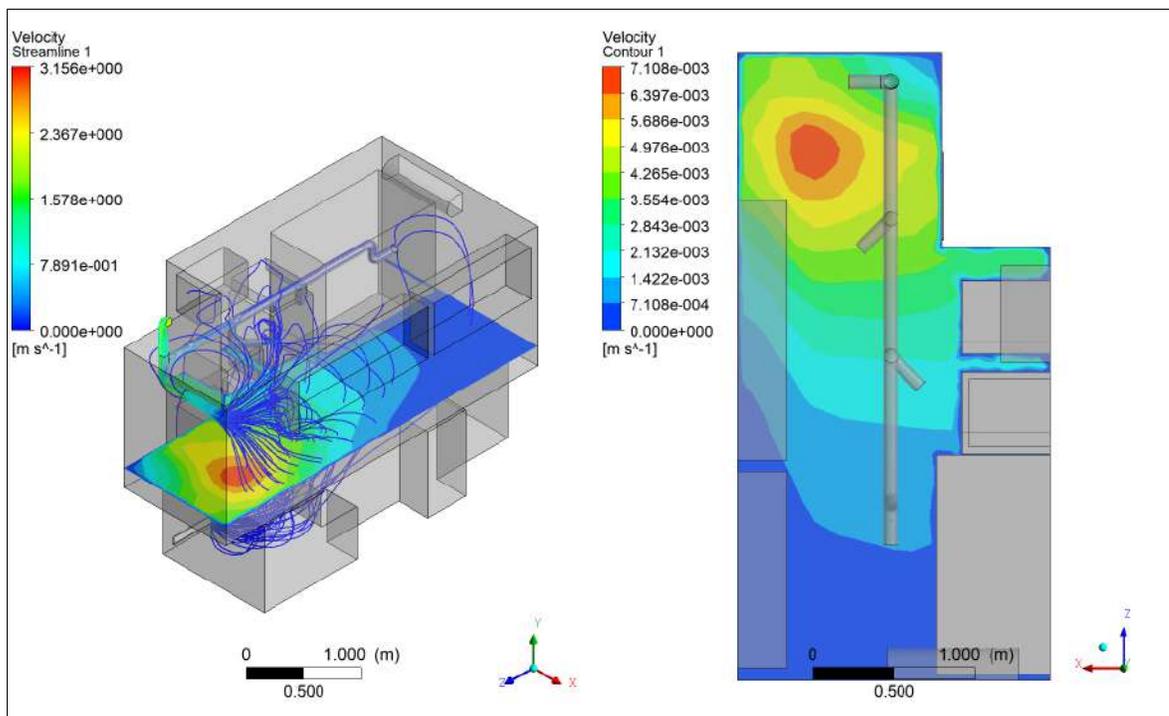


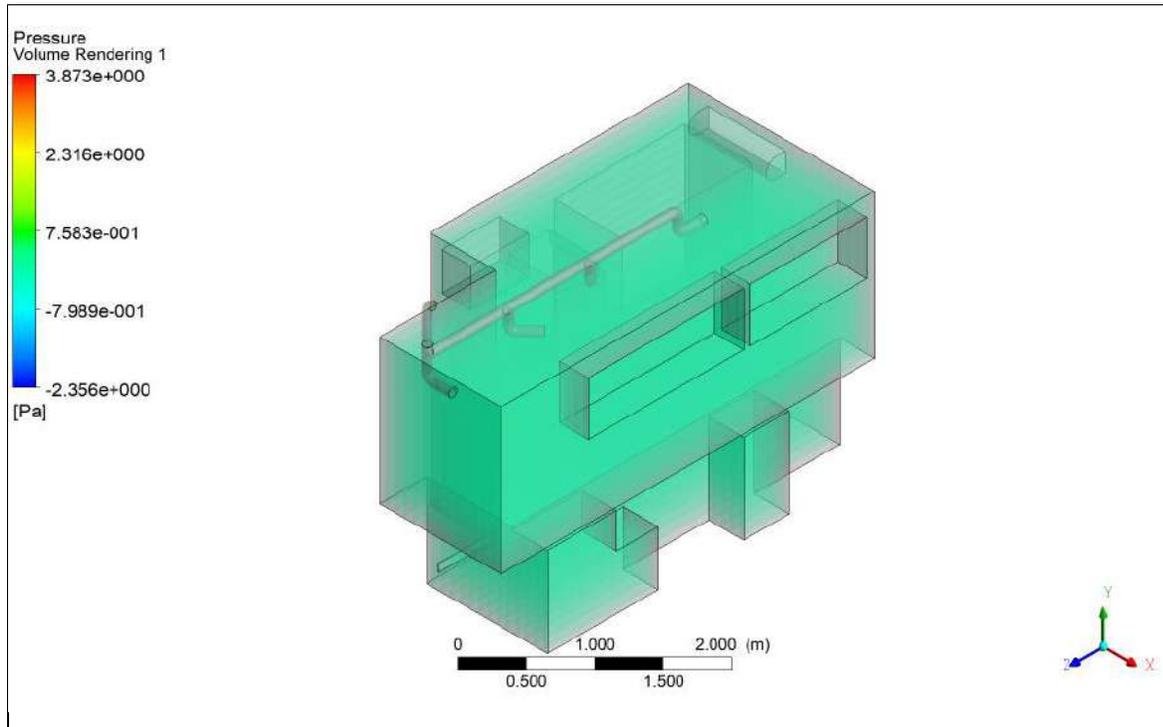
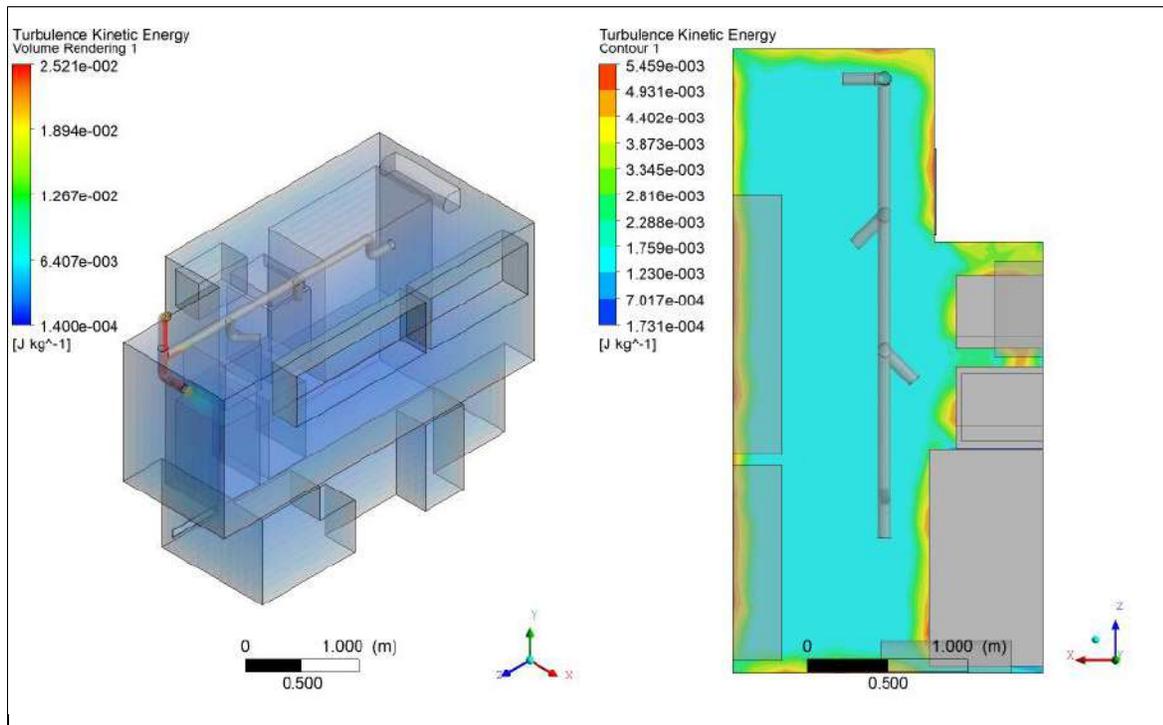
Figura 4-14. Render de presión para el escenario de 2m/s.**Figura 4-15.** Render de energía cinética turbulenta y contorno de energía cinética turbulenta para el escenario de 2m/s.

Figura 4-16. Líneas de corriente y contorno de velocidad para el escenario de 4 m/s.

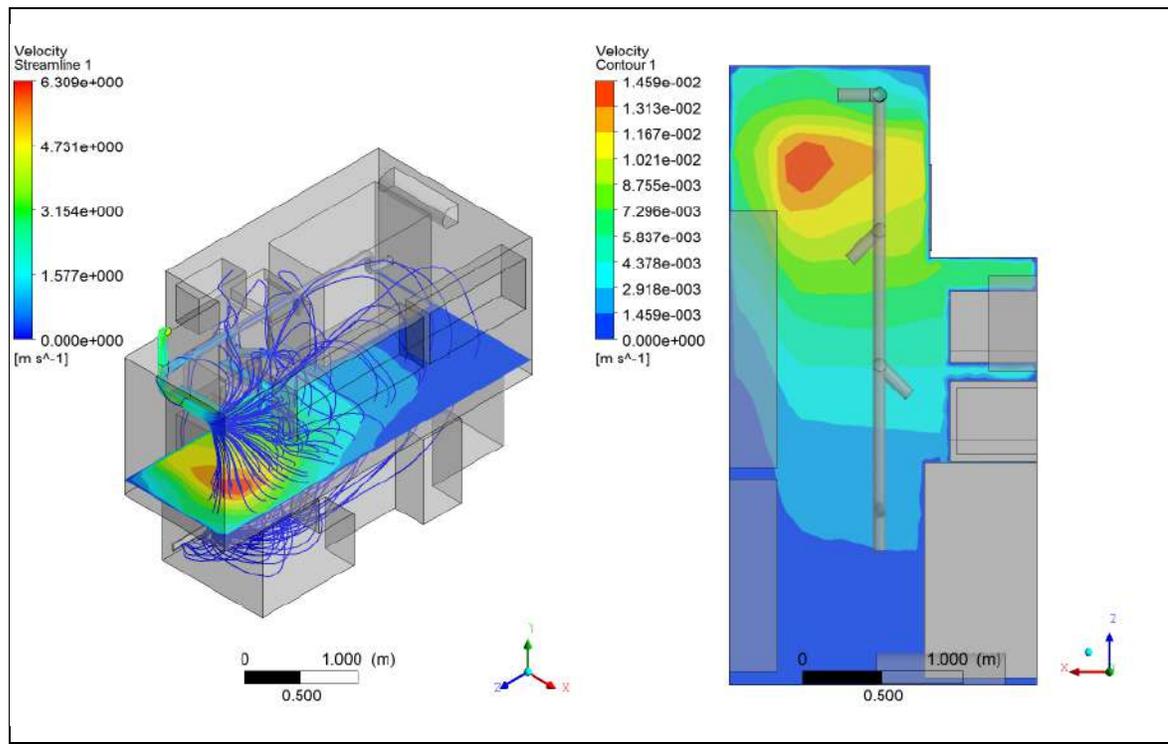


Figura 4-17. Render de presión para el escenario de 4m/s.

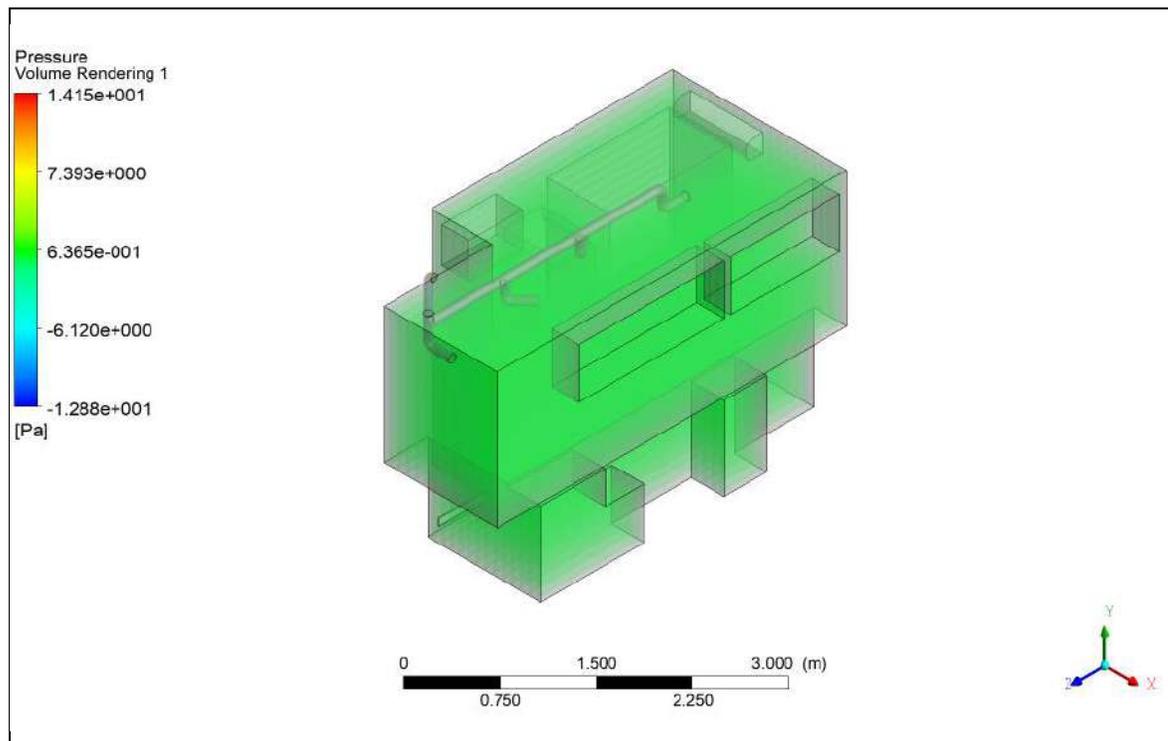
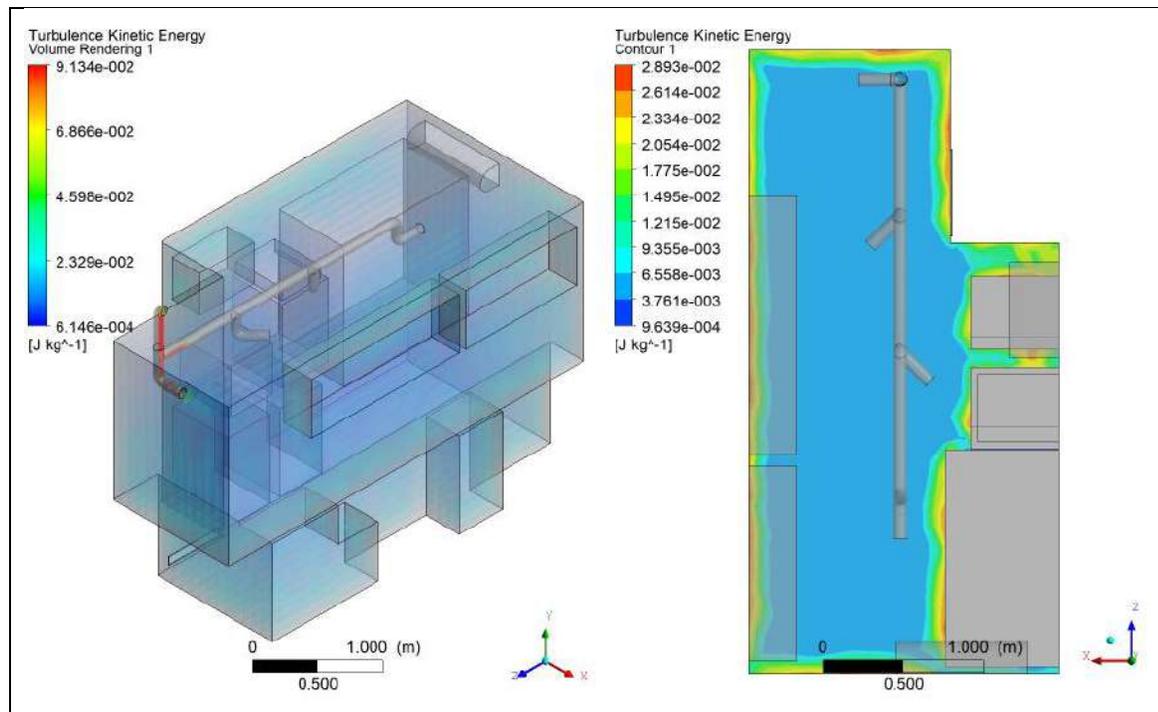


Figura 4-18. Render de energía cinética turbulenta y contorno de energía cinética turbulenta para el escenario de 4m/s.



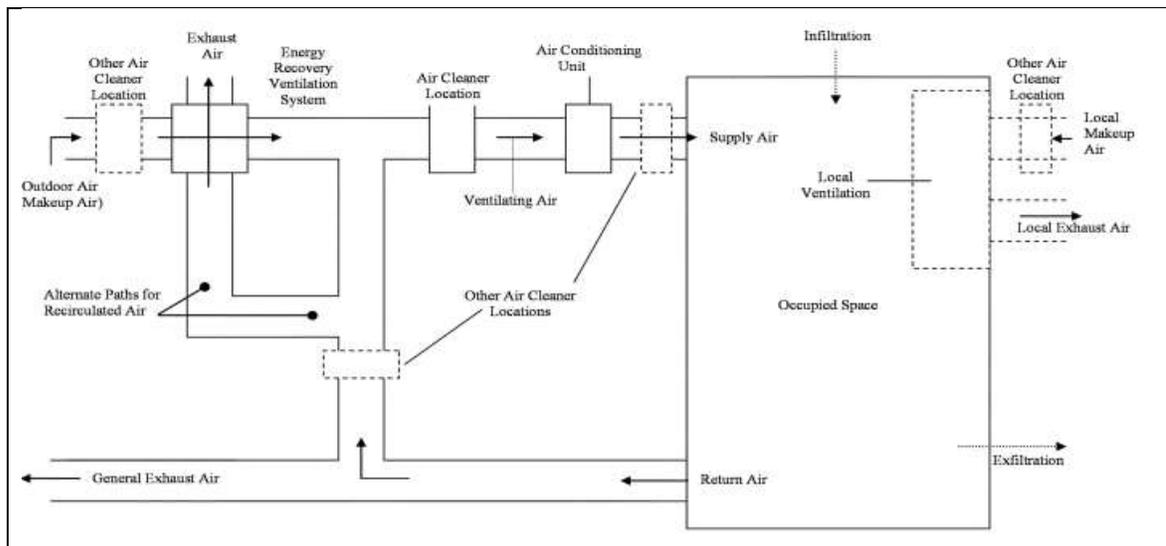
4.5.1.5 Sistema HVAC recomendado

Se recomienda instalar el sistema de ventilación de acuerdo con la norma ANSI/ASHRA 62.1-2004 para garantizar el confort y calidad de aire de ventilación. Esto se debe realizar en paralelo con la instalación de los filtros HEPA para laboratorios de biotecnología según el grado que corresponda; la **Figura 4-19** presenta la configuración recomendada de acuerdo con la normatividad correspondiente. Se recomienda adicionalmente utilizar campanas para disminuir la turbulencia a la salida del aire en el distribuidor.

4.5.1.6 Conclusiones

- La geometría del equipo fue digitalizada en 3D de acuerdo con los planos arquitectónicos del laboratorio.
- Se evaluaron diferentes escenarios teniendo como variables de seguimiento la velocidad promedio en el laboratorio, la presión manométrica y la turbulencia expresada como energía cinética turbulenta para escenarios de velocidad de aire de entrada de: 0.17, 1, 2 y 4 m/s.

Figura 4-19. Esquema de proceso para el sistema de ventilación de acuerdo a la norma ANSI/ASHRA 62.1-2004.



- De acuerdo a los resultados se propone utilizar una velocidad de 2m/s en el diseño del ventilador con el fin de tener una presión positiva considerable y no afectar a los usuarios del laboratorio. Teniendo en cuenta que la tubería de distribución es PVC Sch.40 de 3", los 2 m/s son equivalentes a un caudal de $9.54 \times 10^{-3} \text{ m}^3/\text{s}$ o 20,21 cfm.

4.6 Presupuesto Detallado

El presupuesto detallado de las intervenciones, redes y mobiliario consignados en el **ANEXO 3**. Planos constructivos detallados y el **ANEXO 4**. Isométricos detallados de instalación de sistemas principales. fue construido tomando como base algunos de los procesos de intervención de laboratorios de Bioseguridad de la Universidad (Dirección de Laboratorios - UN, 2017) y páginas web de referencias al respecto (CYPE IngenieroS S.A., 2017) se presenta en el **ANEXO 5. Presupuesto detallado de adecuaciones locativas y dotación**; de este documento se concluye que el presupuesto aproximado para realizar la implementación del laboratorio de acuerdo con los diseños realizados es de \$95.008.348 COP, para un total de \$13.195.604 por cada m².

El acápite 2.4. presenta un estimado de los costos de intervención de \$10.500.000 COP por m² para el año 2014; teniendo en cuenta que la TRM empleada en ese momento era

de \$2000 COP/USD y proyectándolo a la TRM actual de \$2900 COP/USD se obtiene un valor de \$15.225.000 COP por m²; con lo cual es posible concluir que el estimado de la ingeniería detallada se encuentra dentro del costo aproximado esperado.

4.7 Equipos

La descripción detallada y el presupuesto definitivo de adquisición de los equipos se encuentra disponible en el **ANEXO 6. Presupuesto detallado y especificaciones de Equipos**. Se obtiene a partir de este análisis un costo total de equipos de \$170.643,02 USD para un equivalente en COP de \$494.864.754 habiendo excluyendo los equipos que se encuentran ubicados en los espacios de los laboratorios anexos. Lo que equivaldría a una inversión total (equipos + adecuaciones locativas) de: \$589.873.102 COP.

5. Implementación del Laboratorio

El interés del GPQB-UN por realizar actividades de investigación en el contexto del cultivo de células animales inicia a partir del año 2008 con el regreso del Ing. Rubén Godoy de sus estudios de doctorado en *Ohio State University*, donde desarrolló investigaciones al respecto. Con base en las necesidades presentadas en el acápite, se requería la implementación del laboratorio BSL2 del LIQ para el desarrollo de dichas actividades de investigación, sin embargo, realizar una inversión inmediata y completa de \$589.873.102 COP para garantizar su montaje no resultaba viable en ese momento para la Universidad, la Facultad de Ingeniería o el Departamento de Ingeniería Química y Ambiental.

A raíz de dicha situación, se procedió a implementar el laboratorio de forma periódica y paulatina en la medida en que fuera posible obtener financiación de diversas fuentes, de la Universidad, proyectos de inversión, proyectos de investigación y extensión. La cronología de las adquisiciones, operaciones al interior del espacio y los costos relacionados se encuentran en la **Figura 5-1** y el personal involucrado en el ANEXO 13.

5.1 Infraestructura adicional generada

Teniendo en cuenta las limitaciones de presupuesto, se procuró realizar los diseños, construcciones y/o adaptaciones de equipos necesarias con el fin de equipar el laboratorio totalmente. Durante estos procesos se generaron una serie de sistemas adicionales que se describen a continuación.

5.1.1 Montaje de unidad de control de un biorreactor para cultivo de células animales mediante operación por lote y lote alimentado.

El GPQB-UN contaba inicialmente con una jarra de reactor de 3L, tapa e instrumentación para realizar control de agitación, temperatura y pH (propiedad del Ing. Rubén Godoy),

FIGURA 5.1. CRONOLOGÍA DE IMPLEMENTACIÓN DEL CUARTO DE CULTIVO DE CÉLULAS ANIMALES DEL LIQ

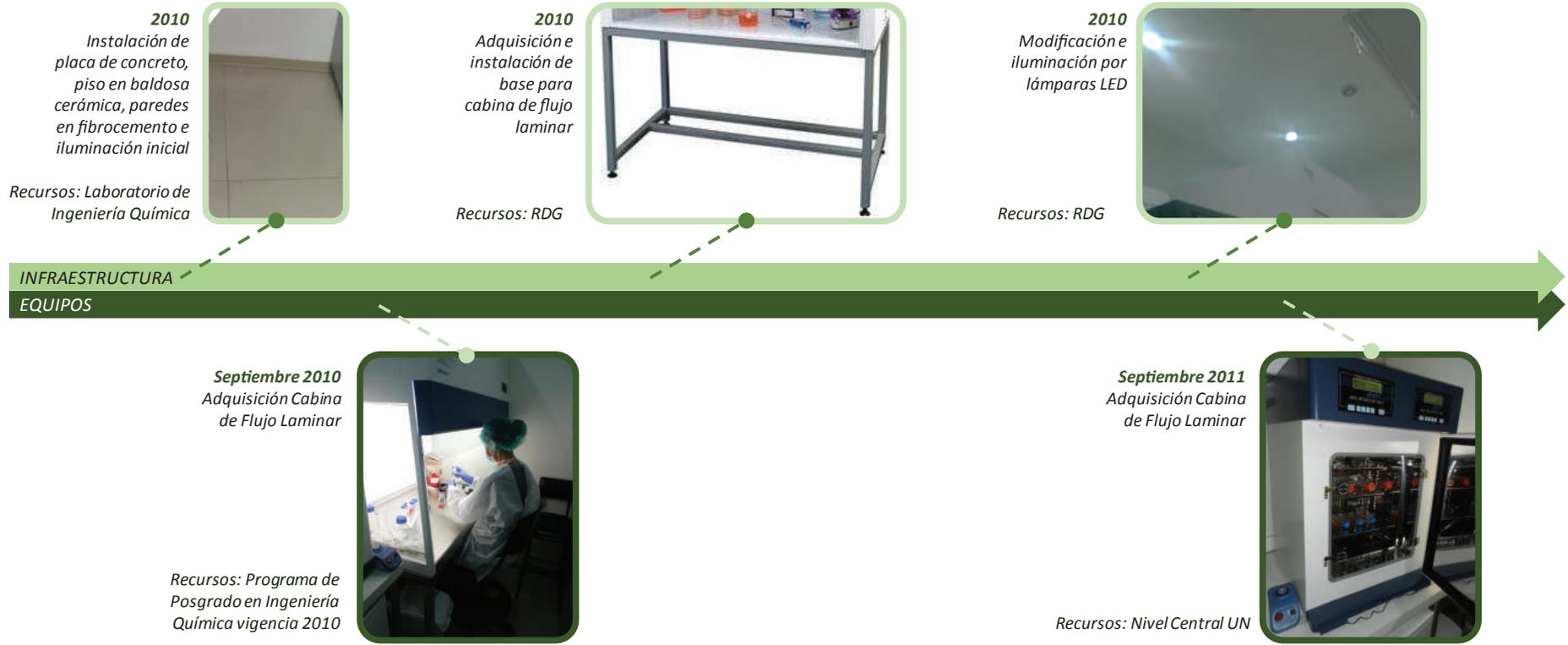


FIGURA 5.1. CRONOLOGÍA DE IMPLEMENTACIÓN DEL CUARTO DE CULTIVO DE CÉLULAS ANIMALES DEL LIQ

2012
Adquisición e Instalación de mesón continuo en L, e instalación de red hidrosanitaria

Recursos: RDG



2013
Adquisición e Instalación de mobiliario de almacenamiento inferior

Recursos: RDG



2013
Adquisición e Instalación de Mesón recto y silla de laboratorio fija

Recursos: RDG

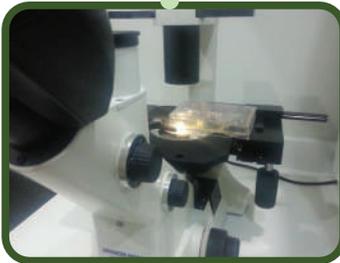


INFRAESTRUCTURA

EQUIPOS

Julio 2011
Adquisición Microscopio invertido

Recursos: Proyecto Colciencias "Estrategias para selección de indicadores tecnológicos en procesos de deshidratación de frutas y hortalizas utilizando herramientas de automatización y control"



Noviembre 2012
Adquisición Centrifuga

Recursos: División de Investigación – Sede Bogotá. Apoyo a grupos de investigación.



2013
Adquisición de Nevera y microondas

Recursos: RDG



FIGURA 5.1. CRONOLOGÍA DE IMPLEMENTACIÓN DEL CUARTO DE CULTIVO DE CÉLULAS ANIMALES DEL LIQ

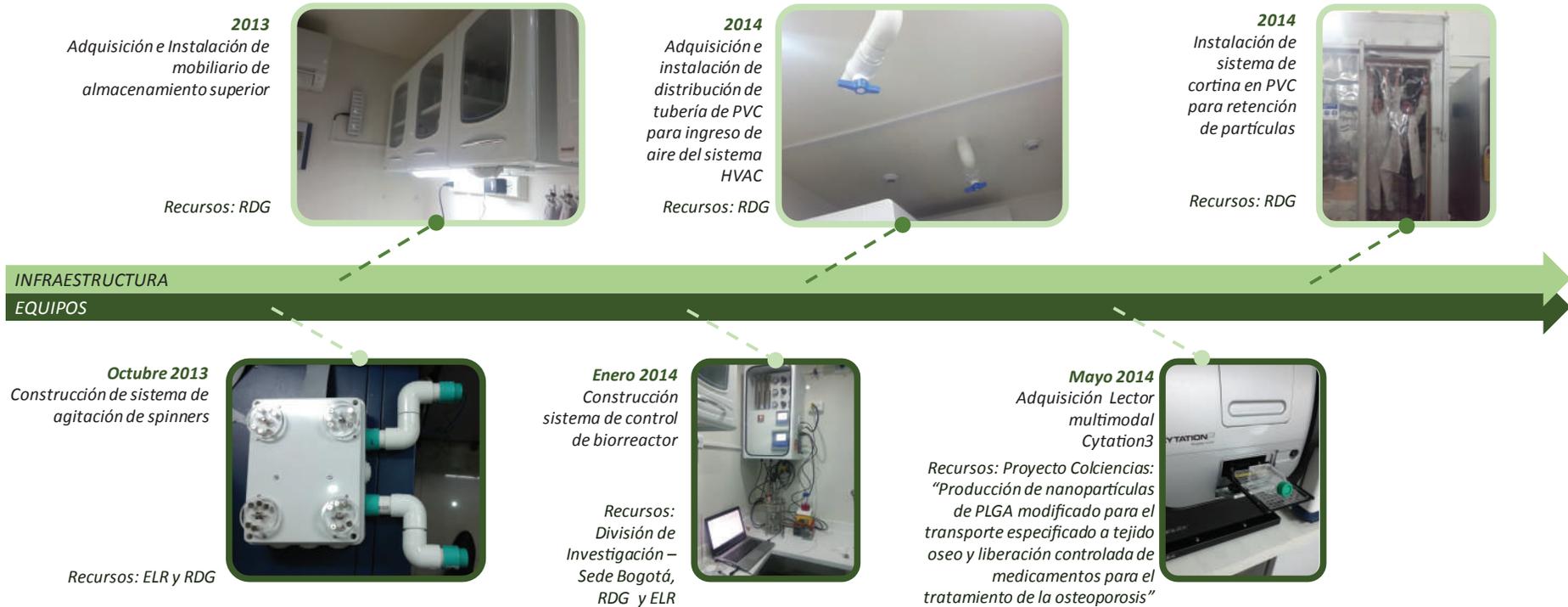


FIGURA 5.1. CRONOLOGÍA DE IMPLEMENTACIÓN DEL CUARTO DE CULTIVO DE CÉLULAS ANIMALES DEL LIQ



FIGURA 5.1. CRONOLOGÍA DE IMPLEMENTACIÓN DEL CUARTO DE CULTIVO DE CÉLULAS ANIMALES DEL LIQ

INFRAESTRUCTURA

EQUIPOS

ESTADO ACTUAL



esterilizable por autoclave. Sin embargo, entre los sistemas de control disponibles el sistema de control de agitación del reactor resultó incompleto por lo cual tendría que ser diseñado y montado nuevamente. No se disponía de controlador de Oxígeno disuelto (OD) ni de medición de flujo de gases de alimentación (CO_2 , aire, oxígeno); por lo cual se requería la adquisición del sistema de control del reactor de forma independiente (que no es posible de acuerdo con el proveedor) o en su defecto diseñar y construir un sistema de control a partir de algunos componentes disponibles como un controlador de pH, electrodo de pH, electrodo de oxígeno disuelto y algunos rotámetros.

5.1.1.1 Diseño y construcción de unidad de mezcla de gases

La incubadora empleada para los cultivos en Frascos T y en *spinner* tiene control de temperatura y control de entrada de CO_2 a la cámara de incubación; sin embargo, cuando se realizan cultivos en reactor, se realizan fuera de la incubadora, se requiere mantener la atmósfera controlada y permitir el contacto del medio de cultivo con una mezcla de gases específica.

Por lo tanto, se realizó el diseño y construcción de un prototipo de unidad que permitiera enriquecer aire comprimido con CO_2 en la proporción requerida en el reactor (normalmente 5%). El primer sistema diseñado para evaluación funcional y distribución de componentes se realizó en madera (Figura 5-2a) y la unidad definitiva en aluminio cubierto con pintura electrostática (Figura 5-2b). La unidad incluye sistemas de regulación de flujo y de presión para cada gas y la mezcla de los mismos se realiza en su interior, de forma tal que la salida de esta unidad se alimenta directamente a la entrada de gases del reactor para burbujeo durante el cultivo.

Como característica adicional se incorporó al sistema una línea de gas adicional para oxígeno, esta cuenta con una electroválvula que permite el enriquecimiento de la mezcla gaseosa con oxígeno en pequeños pulsos, esta electroválvula se consideró iría conectada al controlador de oxígeno disuelto al interior del reactor para facilitar el mantenimiento de esta variable al interior del mismo.

5.1.1.2 Diseño de Acople de sistema de Agitación

El servomotor adquirido para la agitación del sistema, no era de la misma marca ni especificaciones que el motor original, ya que el proveedor dejó de ofrecerlos hace algunos

Figura 5-2. Sistema de mezcla de gases versión preliminar (a) y definitiva (b). Proceso de diseño y construcción



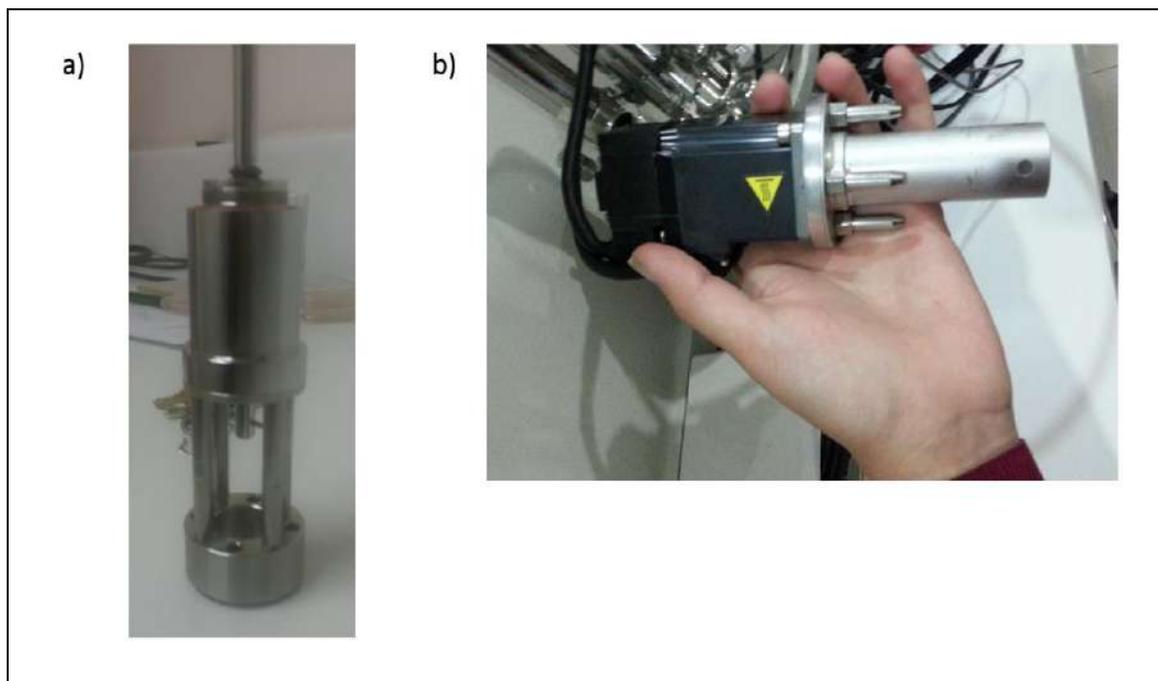
años. Por esta razón, fue necesario diseñar una pieza de acople adicional para el motor nuevo que permitiera su uso en el reactor. El agitador del reactor se presenta en la Figura 5-3a y la Figura 5-3b presenta el servomotor nuevo con el nuevo acople instalado.

5.1.1.3 Diseño, construcción e instalación de Unidad Integrada de Control

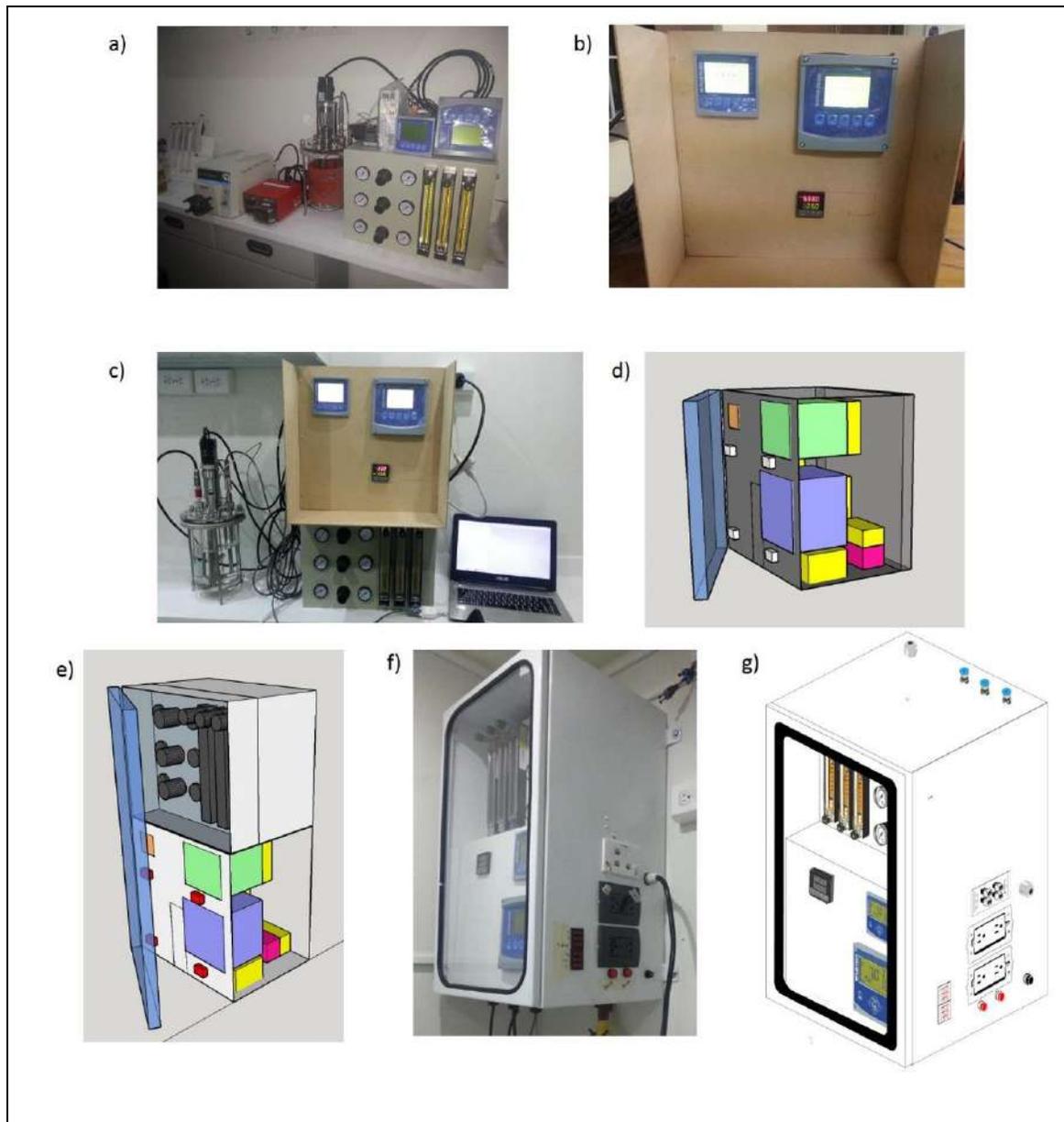
Una vez se contó con todos los componentes de control y todos los equipos auxiliares requeridos se hizo evidente que se requería un espacio muy grande para el uso del reactor y la cantidad de cableado requerido para su funcionamiento iba a ser considerable (Figura 5-4a). Teniendo en cuenta que se había elaborado una caja independiente de mezcla de gases, se construyó una versión prototipo de una caja de control con todos los accesorios electrónicos (Figura 5-4b), una vez armada esta caja se probó el funcionamiento de todos

los controladores (Figura 5-4c), el mapa de cableado y conexiones para el funcionamiento se encuentra en el **ANEXO 7**. Mapas de circuitos generados para conectividad de controladores.; se montaron planos definitivos para la construcción de la unidad definitiva (Figura 5-4d), sin embargo, el espacio seguía siendo considerable y ocupaba espacio sobre mesón que es un recurso limitado en el Laboratorio. Fue por este motivo que se consideró la construcción de un equipo centralizado de funcionamiento para el reactor, que incluyera la recolección de datos y la configuración vía computador de todas las variables y controladores (Figura 5-4e). La unidad fue construida y montada sobre pared en el laboratorio (Figura 5-4f). El despiece detallado de la misma se encuentra presentado en la Figura 5-4g y la Figura 5-5 para posteriores usos, modificaciones o duplicación.

Figura 5-3. Adecuaciones sistema de agitación.

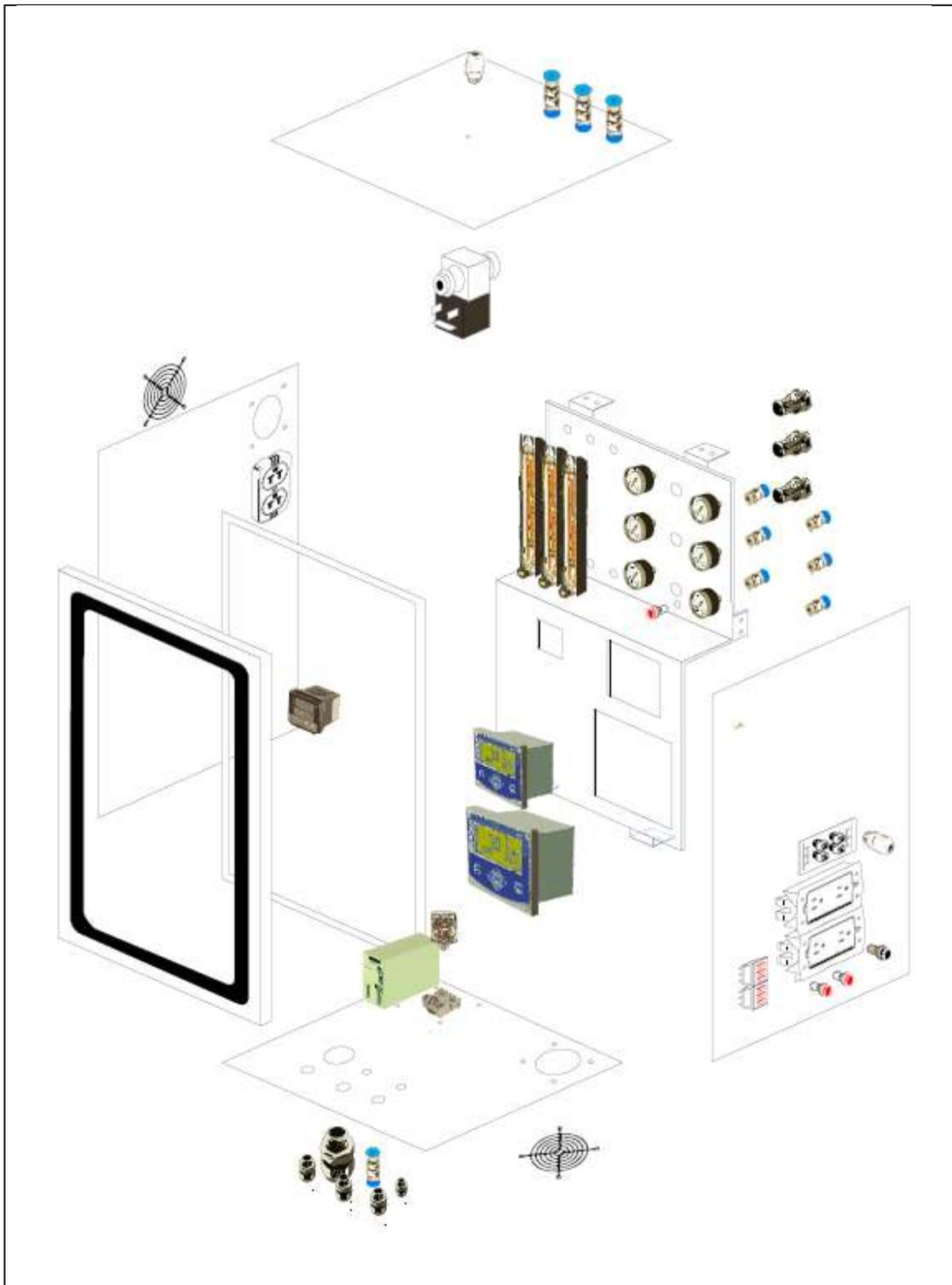


El sistema integrado de control requiere conexión eléctrica de 110V y de 220V y suministro de gases; por su parte genera finalmente control de aireación, pH, agitación y oxígeno disuelto todos ellos con acceso a datos de forma digital y manejo desde computador, este equipo también incluye el manejo de las bombas peristálticas de carga o descarga del reactor; adicionalmente se realizó la calibración de los sistemas de control involucrados.

Figura 5-4. Evolución sistemas de control para Reactor de 3L.

En cuanto a equipos y accesorios el sistema integral de control cuenta con los componentes enumerados a continuación:

Figura 5-5. Despiece detallado de sistema de control y ubicación de sus componentes.



Instalados de forma periférica:

- Estructura externa
- Panel frontal
- Puerta
- Tapa trasera
- 3 bombillos
- 2 switch balanceable de 9 pines
- 2 tomas de corriente dobles con circuitos independientes
- Panel de distribución de datos USB
- 2 rejillas de ventilación
- 1 Prensaestopa grande (29)
- 5 Prensaestopas medianas
- 1 Prensaestopa pequeña
- 4 acoples gases
- 2 visagras
- 1 porta fusibles

Instalados en el interior:

- 6 manómetros
- 3 válvulas
- 3 rotámetros
- 1 electroválvula
- 1 toma de corriente
- Panel eléctrico de distribución
- Ventilador
- Contactor
- Fuente 24V
- Drive motor
- Controlador O2
- Controlador pH
- Controlador temperatura

5.1.1.4 Planos de diferentes tapas para instrumentación del reactor

-En vista de los costos de producción de cada lote de reactor, se previó la posibilidad de emplear el mismo sistema de control e instrumentación en un reactor más pequeño. Es así como se desarrollaron en detalle los planos de la Tapa original del reactor de 3L para futuros duplicados y se diseñó una Tapa equivalente en para un reactor de 1,5L – 2 L de volumen que pueda ser operado empleando el mismo sistema de control. Los planos desarrollos se encuentran en el **ANEXO 8**. Planos de tapas para biorreactores de 3L y de 1,5 - 2L.del presente documento.

5.1.2 Base de agitación para *spinners*

Los reactores *spinner*, empleados en el laboratorio, requieren para su funcionamiento una base de agitación magnética; las bases de agitación magnética convencionales disponibles en el laboratorio presentaron algunas limitaciones técnicas en cuanto a la velocidad de agitación ya que los reactores requieren agitación entre 50 y 200 rpm, velocidades que resultan muy bajas para las especificaciones estándar de planchas de agitación. Adicionalmente, al ubicar las cámaras en la incubadora de CO₂, la temperatura

de ésta se incrementó incontrolablemente de 37 a 43 °C en las dos primeras horas de uso, lo que impide su uso en cultivos convencionales que deben ser mantenidos a 37°C. Los sistemas comerciales de agitación magnética para este tipo de cámaras y *Spinners* son costosos (entre 1400 y 2500 US dólares).

Debido a limitaciones económicas y en tiempo, se optó por diseñar y construir un sistema de agitación que permitieran realizar el control de la agitación entre 10 y 200 rpm; de acuerdo con el tamaño de la incubadora disponible se consideró un sistema con 4 puestos de agitación. El sistema electrónico de control de los motores se construyó con colaboración de algunos estudiantes de Ing. Electrónica de la Universidad (Figura 5-6a). Como ensayo, se introdujeron los motores en la incubadora a emplear para observar su comportamiento en periodos prolongados de tiempo (Figura 5-6b) sin embargo, el funcionamiento de los motores adentro de la cabina de incubación elevaba la temperatura de la incubadora en poco tiempo (Figura 5-6c) por lo cual se ubicaron los motores en una base independiente (Figura 5-6d) y la incubadora fue desensamblada en su parte posterior y en su interior se ubicó la base de agitación fuera del espacio de incubación, pero dentro de la incubadora donde se encuentran sus conexiones y el espacio para su funcionamiento (Figura 5-6e). Una vez realizadas estas modificaciones se verificó con un termohigrómetro inalámbrico el interior de la cabina de la incubadora mientras el sistema de agitación se encontraba funcionando, el procesamiento de las condiciones registradas se encuentra presentado en la Figura 5-6f donde se evidencia la estabilidad de la temperatura con el tiempo. La instalación definitiva al interior de la incubadora requería desarrollar una plataforma robusta y ventilada, dicho sistema y su montaje se presenta en la **Figura 5-7**.

5.1.3 Adaptación de impulsores de *Spinners*

Una vez funcionó adecuadamente el sistema de agitación se iniciaron los cultivos de prueba en los *Spinners* y se notó una acumulación significativa de biomasa en el fondo de los reactores cuando se empleaban velocidades menores a 80 rpm en todos los Spinner e incluso a 100 rpm en los Spinner que presentaban un impulsor de agitación de paleta plana (Figura 5-8a). Por lo tanto se maquinaron las tapas, impulsores y acoples necesarios para tener disponibles *Spinners* exactamente iguales y con impulsores de aleta (Figura 5-8b).

Figura 5-6. Fotografías relacionadas con la implementación de un sistema de agitación magnético para *Spinners*.

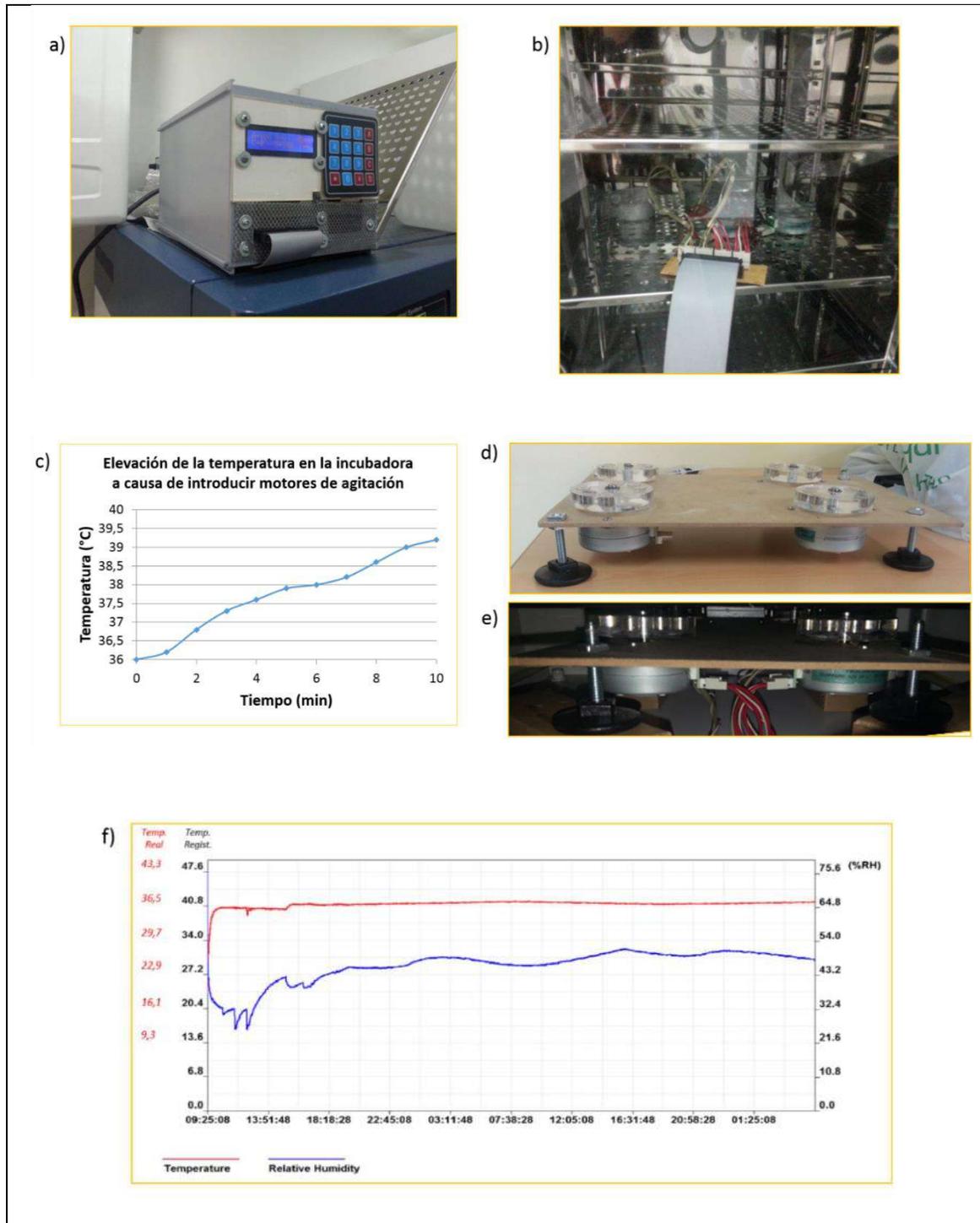


Figura 5-7. Registro fotográfico de la versión final del dispositivo y su instalación

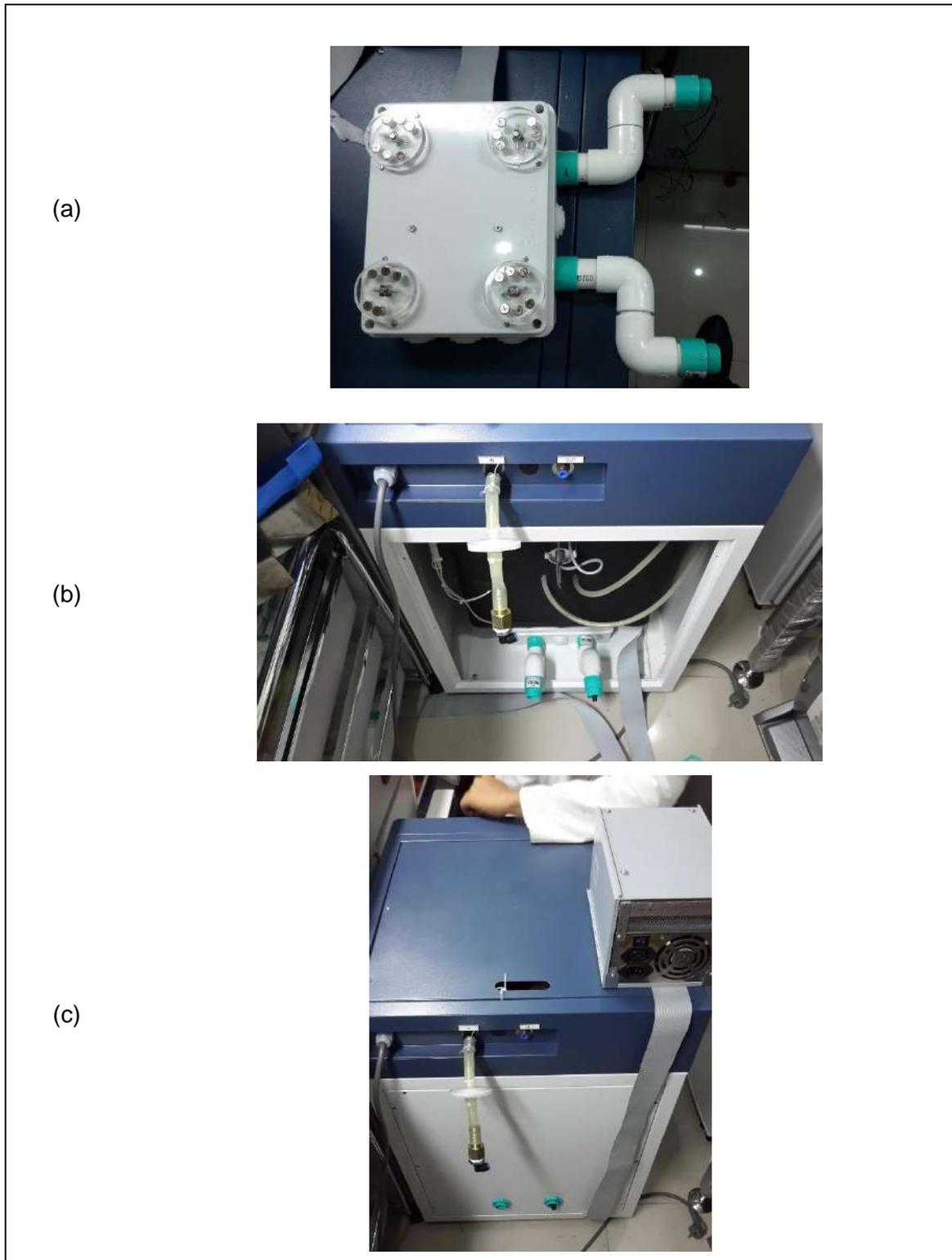
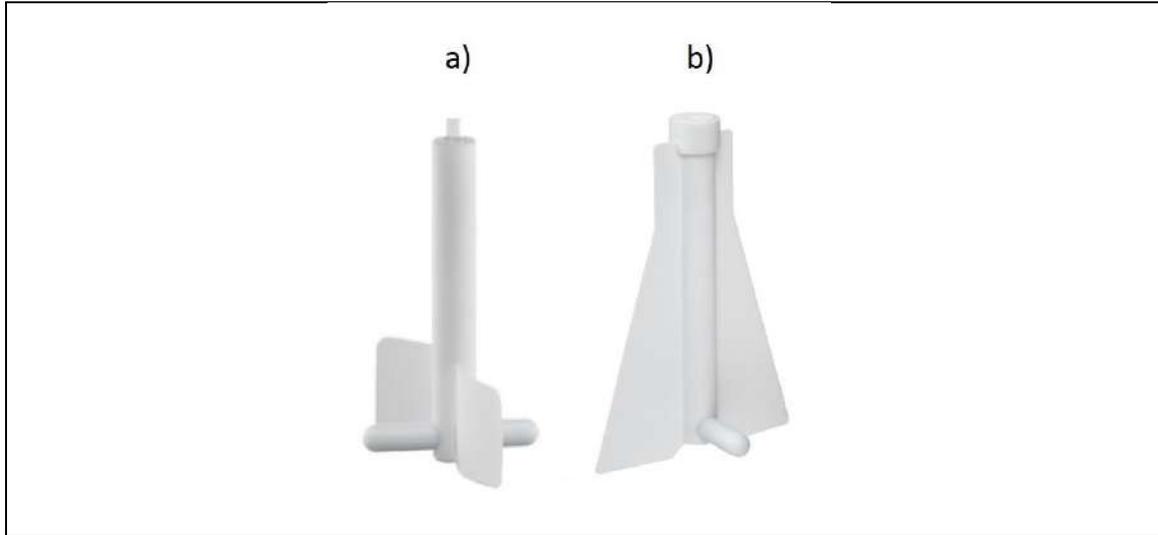
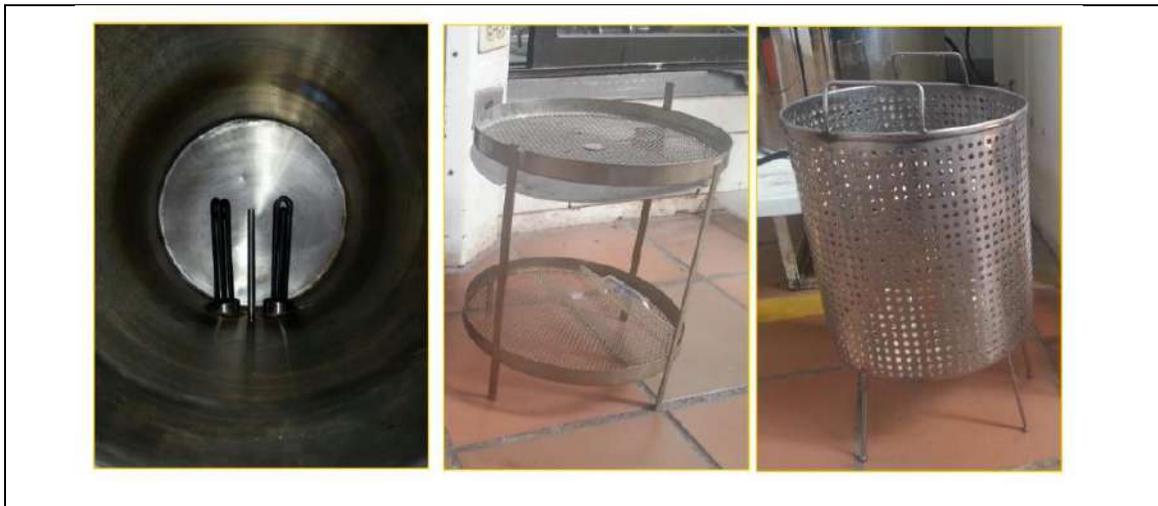


Figura 5-8. Impulsores para *spinner*

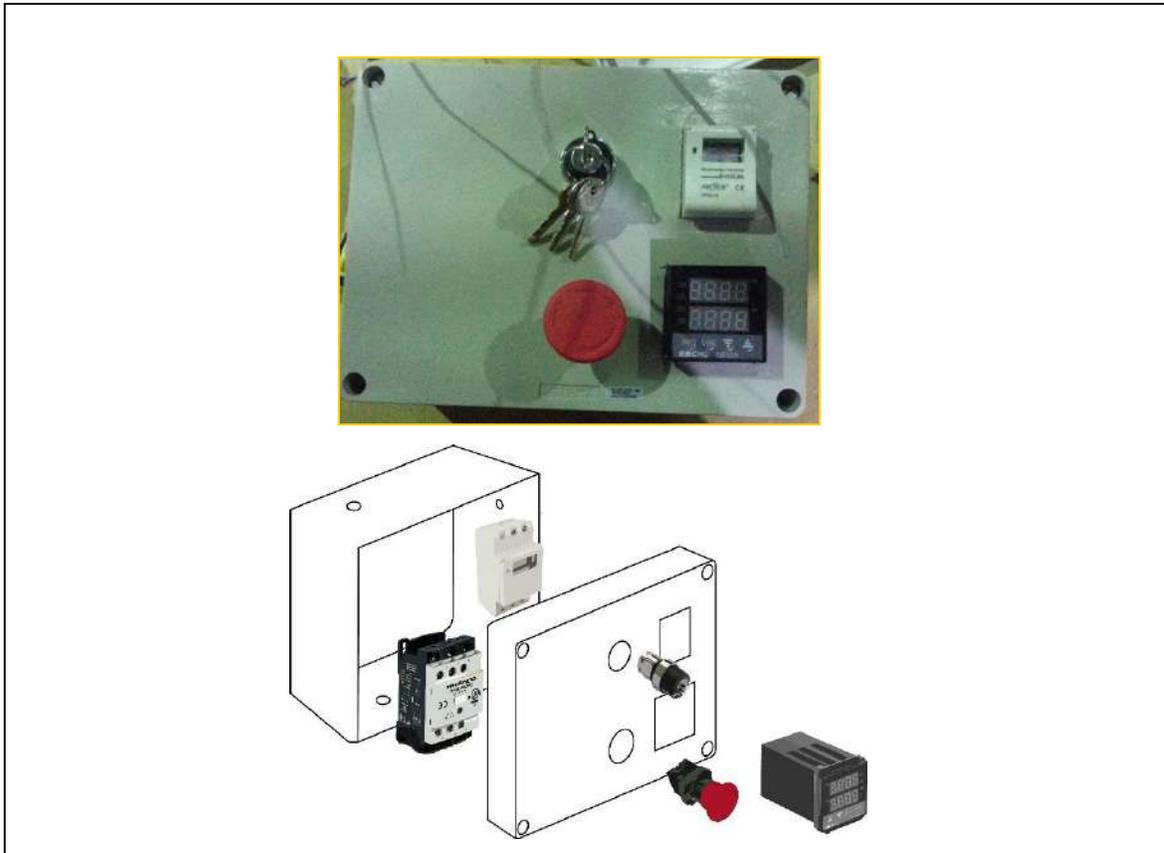
5.1.4 Restauración y puesta en funcionamiento de autoclave

Para el desarrollo de las actividades, se revisó el autoclave disponible en el Laboratorio de Bioprocesos del LIQ y se encontró que no estaba en funcionamiento; sin embargo, la estructura estaba en buen estado y se decidió repararlo y adaptarlo para las necesidades del laboratorio BSL2. Se le instalaron resistencias internas nuevas, un termo-pozo sumergido, y una válvula de seguridad; se adaptó una base para la ubicación del material a esterilizar. El registro fotográfico de dichas adecuaciones se presenta en la **Figura 5-9**.

Figura 5-9. Adaptaciones físicas realizadas al autoclave.

Con el fin de garantizar el buen funcionamiento del Autoclave y que no requiera presencia continua del personal del laboratorio se desarrolló para este un sistema de control de Temperatura que regula la Temperatura interrumpiendo el funcionamiento de las resistencias en su interior. La fotografía y el esquema del sistema instalado se presenta en la **Figura 5-10**.

Figura 5-10. Sistema de control automático del autoclave.



Para este sistema se emplearon los siguientes elementos:

- Temporizador o *timer*
- Relevador de estado sólido de 110 - 220 V
- Botón de encendido con llave
- Botón de parada de emergencia
- Controlador de Temperatura

La fotografía disponible en la **Figura 5-11** presenta el sistema en funcionamiento. Hoy en día este equipo hace parte de la planta piloto del LIQ y se encuentra disponible para uso en investigación.

Figura 5-11. Montaje del autoclave en Planta piloto

5.2 Pruebas de la implementación del laboratorio, e infraestructura generada

A raíz de la implementación del Laboratorio fue posible desarrollar diversos experimentos, y protocolos. Los resultados obtenidos en la fase de implementación y uso de la infraestructura se encuentran evidenciados en los resultados presentados como: **“ANEXO 9. Protocolo de manejo de la línea celular Sp2/0-Ag14 en el Laboratorio de Cultivo de Células Animales del Laboratorio de Ingeniería Química (LCCA-LIQ). Mantenimiento, conteo y viabilidad.”** y **“ANEXO 10. Borrador de artículo redactado como parte de verificación de la infraestructura generada.** del presente documento.

Así mismo, contar con esta infraestructura ha permitido la formulación de nuevos proyectos de investigación como: “Estudio de la producción colombiana de anticuerpos recombinantes y de las condiciones para que sea un negocio nacional e internacionalmente rentable, en su trayecto desde el laboratorio hasta la planta industrial”

y “Produccion de nanoparticulas de PLGA modificado para el transporte especificado a tejido oseo y liberacion controlada de medicamentos para el tratamiento de la osteoporosis, entre otros.

El presupuesto total empleado en la implementación del laboratorio se ve reflejado en el **ANEXO 11**.

5.3 Diagnóstico

Con el fin de verificar el carácter de bioseguridad del laboratorio, se realizó la encuesta en forma de lista de chequeo emitida por la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2005) para tal fin, el cual se presenta como **ANEXO 12**. Lista de revisión de bioseguridad de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud de este documento.

Al realizar la verificación de los parámetros, se evidenció que aquellos que están señalados en el cuestionario en color rojo, representan un riesgo para la operación del laboratorio. La **Tabla 5-1**, presenta la lista de características que no cumple el laboratorio, la descripción de la falla y la(s) propuesta(s) de mitigación de dicho riesgo.

El desempeño del Cuarto de Cultivo de Células Animales del LIQ como laboratorio de bioseguridad 2 es bueno, sin embargo, a raíz de la falta del sistema HVAC requerido se incurre en adquisiciones y afectaciones de su funcionamiento como el sistema de aire acondicionado *mini-split* instalado.

De acuerdo con los resultados de la Matriz de análisis de condiciones de bioseguridad se observa que en cuanto adecuaciones o adquisiciones, se requiere particularmente el sistema HVAC, un sistema de lavajos y ducha de emergencia y una conexión interna eléctrica adicional. El resto de actividades hacen referencia a trabajo conceptual y de capacitación en cuanto a establecimiento de protocolos, procedimientos y el manual de bioseguridad.

Ahora bien, a pesar de que para el nivel de bioseguridad requerido en el laboratorio no es indispensable se recomienda considerar realizar un cambio del acabado de los pisos y

medias cañas con el fin de que sean una estructura monolítica y no demanden tanto tiempo en las sesiones de limpieza y desinfección, ya que la instalación actual obliga a ser cuidadosos con la limpieza del emboquillado del piso y los remates de la media caña plástica.

Tabla 5-1. Matriz de análisis de condiciones de bioseguridad, fallas y estrategias de mitigación.

Id.	Capítulo	Ítem	Descripción de la falla	Estrategias de mitigación
1	Equipo Eléctrico	Tomas de corriente montadas fuera del suelo	En la parte media de la pared interna nor-oriental del laboratorio se encuentra una multi-toma aérea instalada en la pared, a pesar de no ser móvil, no se constituye una conexión establecida.	Realizar la instalación mediante cableado estructurado y tomas de corriente fijas para dicho punto del laboratorio.
2	Equipo de Protección Personal	Material para lavado de ojos en el laboratorio	El laboratorio no cuenta en su interior con un sistema lavaojos	A pesar de que el sistema de lavaojos se encuentra instalado en la parte periférica del laboratorio, se recomienda instalar un sistema en el interior del espacio de laboratorio ya que en caso de emergencia el proceso de salida hasta el lavaojos más cercano se encuentra obstaculizado por la esclusa y puerta principal
3	Equipo de Protección Personal	Ducha de seguridad disponible	El laboratorio no cuenta en su interior con un sistema de ducha de emergencia	A pesar de que el sistema de ducha de emergencia se encuentra instalado en la parte periférica del laboratorio, se recomienda instalar un sistema en el interior del espacio de laboratorio ya que en caso de emergencia el proceso de salida hasta la ducha más cercana se encuentra obstaculizado por la esclusa y puerta principal
4	Programas de salud y seguridad en el trabajo	Comunicación de riesgos	El laboratorio no cuenta con un manifiesto de información de riesgos al personal interno o externo del mismo.	A pesar de que el personal que va a ingresar al laboratorio es instruido en las políticas y procedimientos del mismo, se recomienda instalar en un lugar visible tanto en el interior como en el exterior la información concerniente a los riesgos del laboratorio tanto internos como que puedan generar afectación del exterior
5	Prácticas y procedimientos generales	Los hornos microondas están claramente rotulados: "Prohibida la preparación de alimentos. Uso exclusivo del laboratorio"	El laboratorio cuenta con un horno microondas y 2 neveras que no se encuentran debidamente rotuladas	Se recomienda rotular con la advertencia de: "Prohibida la preparación o almacenamiento de alimentos. Uso exclusivo para el laboratorio" según corresponda, ya que por ser mobiliario regular de cocina pueden ser erróneamente empleados.

Tabla 5-1. Matriz de análisis de condiciones de bioseguridad, fallas y estrategias de mitigación.

Id.	Capítulo	Ítem	Descripción de la falla	Estrategias de mitigación
6	Cabina de Seguridad Biológica	Certificada en los doce meses anteriores	El laboratorio cuenta con una cabina de flujo laminar, la cual no ha sido certificada en el último año	A pesar de que este equipo protege la integridad de las muestras y no del personal, se recomienda realizar l verificación anual para garantizar su óptimo funcionamiento
7	Cabina de Seguridad Biológica	Posición incorrecta en relación con las corrientes de aire en la sala	A raíz de la falta del sistema HVAC, se instaló al interior del laboratorio un sistema de aire acondicionado <i>mini-split</i> , por su tamaño, únicamente pudo ser ubicado en la parte superior y lateral a la cabina de flujo laminar, esta ubicación genera perturbaciones en el perfil de velocidades regular del aire en la cabina.	Se recomienda realizar cuanto antes la adquisición del sistema HVAC de forma que se regule la temperatura y humedad al interior del laboratorio. En su defecto, se recomienda reconsiderar la posición del sistema <i>mini-split</i> . Reubicar la cabina no resulta conveniente ya que esta se encuentra ubicada estratégicamente con respecto a las demás corrientes de aire al interior del laboratorio.
8	Descontaminación	Descontaminación de todas las superficies de trabajo antes y después de cada operación, todos los días y tras cualquier derrame.	Regularmente le personal del laboratorio realiza la descontaminación de las superficies de trabajo de la zona estéril (cabina de flujo laminar) en cada uso, sin embargo, no es así necesariamente en el resto de superficies del laboratorio. Con respecto a éstas se realiza limpieza en caso de derrames, y jornadas de aseo general semanal o según se observe sean requeridas.	Se recomienda estructurar el procedimiento de descontaminación de todas las superficies del laboratorio tras su uso.
9	Prácticas	Se ha preparado y adoptado un manual de bioseguridad	A pesar de que el personal que ingresa al laboratorio recibe capacitación y acompañamiento por parte de personal entrenado en BPL (Buenas prácticas de Laboratorio) no se ha estructurado aún un manual de bioseguridad para adoptar al interior del laboratorio.	Se recomienda generar un documento: "Manual de bioseguridad en el Laboratorio" directamente enfocado al laboratorio y realizar su socialización con el personal involucrado.

Tabla 5-1. Matriz de análisis de condiciones de bioseguridad, fallas y estrategias de mitigación.

Id.	Capítulo	Ítem	Descripción de la falla	Estrategias de mitigación
10	Prácticas	El personal lee, revisa y sigue las instrucciones sobre prácticas y procedimientos (obligatorio una vez al año para todo el personal)	El personal del laboratorio no reciba anualmente una actualización o capacitación reciente sobre prácticas y procedimientos	Se recomienda generar sesiones de capacitación anuales con respecto a prácticas y procedimientos a realizar en el interior del laboratorio.

6. Conclusiones y Recomendaciones

6.1 Conclusiones

Las conclusiones de este trabajo se presentan a continuación a partir de cada etapa.

Con respecto al estado del arte...

Las políticas y directrices con respecto a laboratorios de bioseguridad y sus políticas son en su mayoría recomendaciones, no necesariamente reglas estrictas, sin embargo, ellas velan por la protección del personal y los productos involucrados en procesos realizados en dichos espacios.

Particularmente la Universidad Nacional de Colombia no posee una directriz para la concepción laboratorios de bioseguridad; se considera que la recopilación presentada en el acápite **1.4 Manual de Diseño de Laboratorios de Bioseguridad Nivel 2 en la Universidad Nacional de Colombia**. Es el primer paso en la construcción de una política única a nivel Universidad que garantice la realización de diseños inherentemente seguros que minimizan los riesgos a interior de los laboratorios y facilitan la realización de actividades de docencia, investigación y extensión en su interior.

Con respecto a las fases de ingeniería conceptual, básica y detallada...

El estado del arte y el bosquejo de Manual generado resulta ser un insumo fundamental del proceso de ingeniería conceptual de los laboratorios de bioseguridad, como parte fundamental de este proceso el análisis de contexto permitió plantear un espacio alternativo y adicional a la Infraestructura del Laboratorio de Ingeniería Química que sin

resultar un laboratorio redundante diversifica los horizontes de investigación del Departamento de Ingeniería Química y Ambiental.

Identificar otros ejemplos de diseños, experiencias y proyectos similares permitió contextualizar la realización del Diseño y observar los diferentes horizontes o escenarios que se pueden presentar durante el desarrollo del mismo.

Los diagramas de proceso al interior del laboratorio junto con el análisis de simultaneidad de actividades y usos son excelentes herramientas para los procesos de dimensionamiento y ubicación de espacios y equipos; por ende, se recomiendan en los procesos de toma de decisiones con respecto al uso del espacio en este tipo de proyectos.

Realizar el diseño del laboratorio realizando sucesivamente los procesos de ingeniería conceptual, básica y de detalle, permite tener la idea completa de las necesidades del mismo y lo constituye como un proceso interdisciplinar, resultado de una planeación estratégica del uso de recursos.

Con respecto a la fase de implementación...

Si bien el resultado del proyecto de ingeniería completo puede resultar abrumador en términos presupuestales, es recomendable que en caso de no realizar la inversión de forma unificada, las pequeñas inversiones a largo plazo se desarrollen manteniendo el proyecto original a la vista, de forma tal que al finalizar el proceso de implementación se a posible evidenciar las directrices de diseño que dirigieron el proceso constructivo del laboratorio y con ello garantizar que es adecuado en cuanto a funcionalidad y normatividad en todo momento de su proceso de desarrollo.

El presupuesto real invertido para las adecuaciones del laboratorio fue menor que el esperado durante las fases de diseño, a pena de no contar con algunas de las características arquitectónicas y de calidad que mejorarán la funcionalidad del laboratorio. Sin embargo y a pesar de ello, el laboratorio implementado es completamente funcional y permite el desarrollo de investigaciones serias y completas con respecto al cultivo de células animales y sus procesos de escalado.

De forma similar la infraestructura adicional generada para el uso en el laboratorio es mucho más económica que la adquisición de los equipos comerciales para tal fin y se adapta perfectamente a las necesidades de las investigaciones a realizar.

Con respecto a la fase de diagnóstico...

El laboratorio o Cuarto de Cultivo de Células Animales efectivamente es un espacio de nivel de bioseguridad 2 y cumple con la mayoría de las exigencias que este nivel demanda. Los aspectos de bioseguridad que no satisface al 100% en este momento son reparables y ahora que se encuentran claramente identificados se convierten en una prioridad para posibles inversiones a corto y mediano plazo.

A nivel general, la implementación de este proyecto no habría sido posible sin el aporte económico y apoyo del Ingeniero Rubén D. Godoy y de todos los miembros de su grupo de investigación.

6.2 Recomendaciones

A raíz del diseño realizado y de los espacios disponibles se recomienda no ampliar la infraestructura en términos de equipos del laboratorio; teniendo en cuenta que los equipos son relativamente nuevos (2012 – 2016) y sus vidas útiles extensas se espera que por lo menos en un horizonte de 5 años no se requiera el cambio de los mismos. La actualización de los equipos es posible siempre en reemplazo de la infraestructura existente.

Se recomienda realizar la redacción del manual de prácticas de bioseguridad para el laboratorio y su análisis de riesgos así como la divulgación de dichos documentos con la comunidad del LIQ. y del Departamento de Ingeniería Química y Ambiental.

Una vez el laboratorio cumpla con la totalidad de las exigencias de la OMS será posible constituirlo como un punto de realización de ensayos para algunas empresas farmacéuticas o de alimentos, se recomienda prever los contactos para el desarrollo de dichas interacciones.

Se recomienda establecer los planes de mantenimiento preventivo de todos los equipos ubicados en el laboratorio ya que no hay evidencia de la realización de dichos controles y son fundamentales para el correcto funcionamiento del laboratorio.

ANEXO 1. Referencias empleadas para construcción de la Figura 1-1.

En cuanto a su contenido, la línea de tiempo se basa, principalmente, en algunos de los hechos relevantes presentados por:

- Davis, Ruane, & Hernández (2008) en su artículo titulado: *Lab and Community Make for Uneasy Neighbors*.
- Infante (2002) en su artículo titulado: *Diritto e Diritti: A historical overview of Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*.
- Weidmann, Silman, Butaye, y Elschner (2014) en su artículo titulado: *Working in Biosafety Level 3 and 4 Laboratories*.

En cuanto a los insumos gráficos para la realización de las mismas, las imágenes empleadas se encuentran disponibles on-line en los links presentados a continuación:

Fecha	Link de acceso para la imagen empleada
1941	http://www.sanar.org/files/sanar/brucelosis.jpg
1943	https://aquellasarmasdeguerra.files.wordpress.com/2015/08/fort_detrick.jpg?w=497&h=378
1943-1945	http://science.dodlive.mil/files/2013/11/Caution-Biowarfare.jpg
1949	https://aos.iacpublishinglabs.com/question/aq/1400px-788px/primary-functions-four-types-tissue-found-human-body_4cbc141570b67815.jpg?domain=cx.aos.ask.com
1949	http://blausen.com/cover/getvideocover/?id=56c449a32320c916688eeb8e
1951	https://i.kinja-img.com/gawker-media/image/upload/s--cBErKc4s--/c_fit,fl_progressive,q_80,w_320/aen95ryelw782l7zr7cn.jpg
1955	http://biosafety-community.com/img/ABSA%20.jpg
1957	https://fcw.com/~media/GIG/FCWNow/Logos/USDA.jpg
1964	http://phoenixrising.me/wp-content/uploads/doNOTreuselBrainPain.jpg
1964-1965	http://www.healthnutnews.com/wp-content/uploads/2016/09/cdc-logo.jpg
1966	http://wildhunt.org/wp-content/uploads/2016/04/maxresdefault.jpg
1967	http://dhmh.maryland.gov/laboratories/PublishingImages/virus.jpg

1970's	https://pbs.twimg.com/profile_images/3443048571/ef5062acfce64a7aef1d75b4934fbee6_400x400.png
1973	http://mabasa.com.mx/wp-content/uploads/2015/10/logo-osha.jpg
1974	http://logonoid.com/images/usps-logo.png
1980's	http://www.osiriswater.co.uk/media/risk_measurement_400_clr_5483-300x300.png
1980	http://static.vix.com/es/sites/default/files/imj/6/6-mitos-y-verdades-sobre-el-vih-sida-1.jpg
1983	https://www.diariodicen.es/wp-content/uploads/2017/01/who_logosolo.png

El diseño y diagramación es en su totalidad producto de la autora.

ANEXO 2. Matrices de tiempos y movimientos

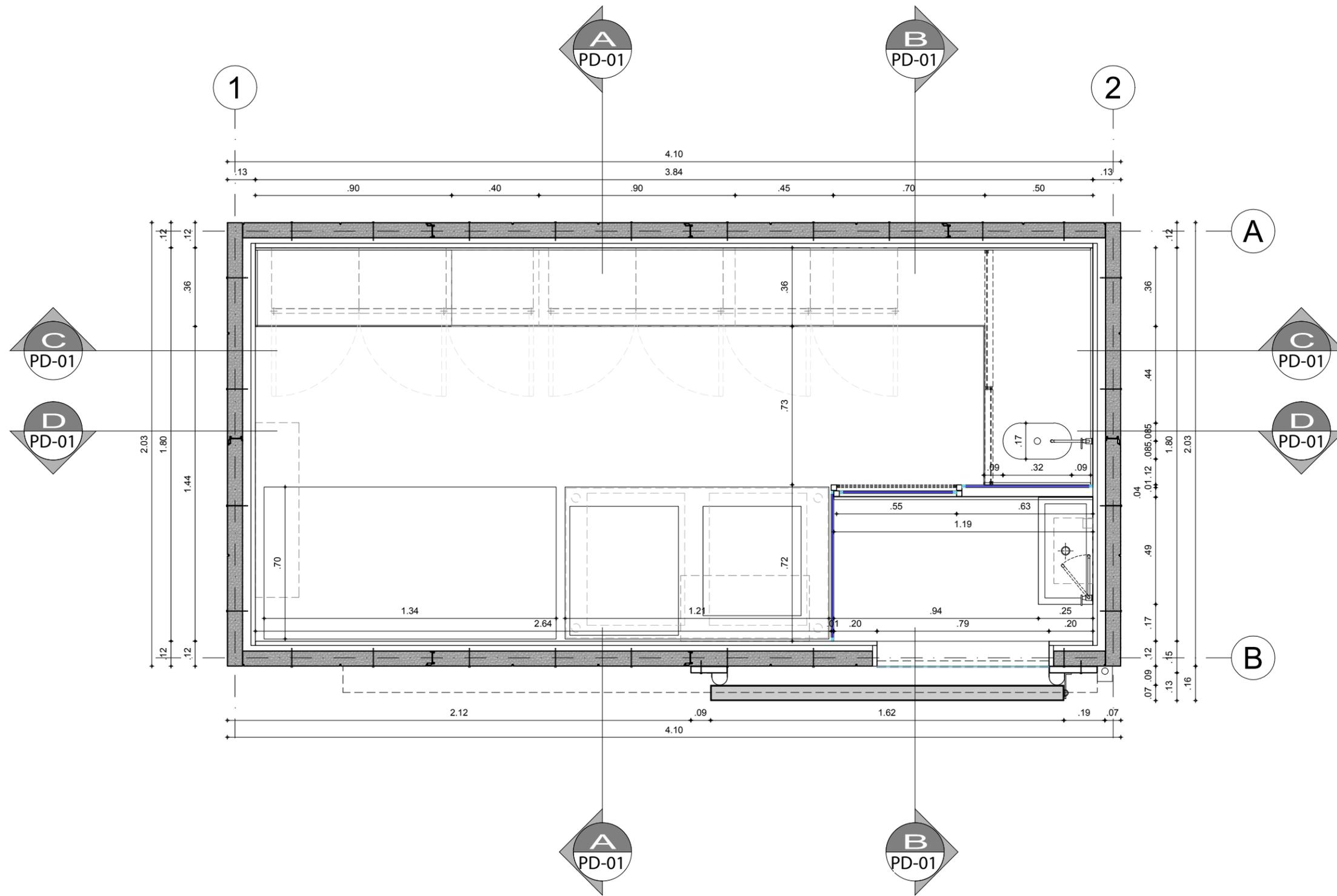
No. ejecuciones del proceso x mes	Tiempo de uso (min)	Tiempo de uso / mes (min)	Equipo
60	1	60	Sistema de Ingreso
60	3	180	Almacenamiento en esclusa
60	1	60	Lavamanos
60	1	60	Dispensador de jabon y/o desinfectante
60	2	120	Almacenamiento en esclusa
4	1	4	Dosificador de desinfectante (portátil)
4	1	4	No Aplica
4	1	4	Almacenamiento superior
4	1	4	Dosificador de desinfectante (portátil)
4	1	4	No Aplica
4	1	4	Almacenamiento inferior
8	40	320	Dispensador de jabón
8	40	320	Poceta amplia
8	40	320	Mufla o secador
8	30	240	Mesón Amplio
8	120	960	Autoclave
8	5	40	Almacenamiento superior
1	15	15	Balanza analítica
1	20	20	Vortex
1	20	20	Plancha de agitación magnética
1	5	5	Equipos analíticos
1	5	5	Almacenamiento inferior
2	3	6	
2	60	120	Bomba de vacío
2	60	120	Sistema de Filtración
2	60	120	Cabina de flujo laminar
2	60	120	Almacenamiento refrigerado
0,5	5	2,5	Sistema de Crio-preservación
0,5		0	
0,5	15	7,5	Pipeteador eléctrico
0,5	15	7,5	Cabina de flujo laminar
0,5	5	2,5	Centrífuga
0,5	5	2,5	Vortex
0,5	5	2,5	Pipeteador eléctrico
0,5	5	2,5	Cabina de flujo laminar
0,5	2	1	Sistema de cultivo
0,5	10	5	Microscopio
0,5	60	30	Equipos analíticos
60	3	180	Sistema de cultivo
60	2	120	Pipeteador eléctrico
60	2	120	Cabina de flujo laminar
60	15	900	Centrífuga
60	3	180	Pipeteador eléctrico
60	10	600	Microscopio
60	20	1200	Cabina de flujo laminar
60	4	240	Sistema de cultivo
0,5	2	1	Sistema de cultivo
0,5	2	1	Pipeteador eléctrico
0,5	2	1	Cabina de flujo laminar
0,5	15	7,5	Centrífuga
0,5	5	2,5	Pipeteador eléctrico
0,5		0	Cabina de flujo laminar
0,5	90	45	Almacenamiento refrigerado
0,5	5	2,5	Sistema de Crio-preservación
6	3	18	Almacenamiento refrigerado
6	60	360	Equipos analíticos

Equipo	Equipo (Convención UCINET®)	Tiempo de uso / mes (min)
Sistema de Ingreso	Ingreso	60
Almacenamiento en esclusa	Alm_escl	300
Lavamanos	Lavamanos	60
Dispensador de jabon y/o desinfectante	DispensDes	60
Dosificador de desinfectante (portátil)	Dosif_des	8
Almacenamiento superior	Alm_sup	44
Almacenamiento inferior	Alm_inf	9
Dispensador de jabón	Disp_jab	320
Poceta amplia	Poceta	320
Mufla o secador	Mufla	320
Mesón Amplio	Mesón	240
Autoclave	Autoclave	960
Balanza analítica	Balanza	15
Vortex	Vortex	22,5
Plancha de agitación magnética	Planch_agi	20
Equipos analíticos	Analitic	395
Bomba de vacío	Bomb_vac	120
Sistema de Filtración	Sist_filt	120
Cabina de flujo laminar	CFL	1451
Almacenamiento refrigerado	Alm_ref	183
Sistema de Crio-preservación	Sist_crio	5
Pipeteador eléctrico	Pipet_elec	313,5
Centrífuga	Centrifug	910
Sistema de cultivo	Sist_cult	242
Microscopio	Microscop	605

No. ejecuciones del proceso x mes	Tiempo de uso (min)	Tiempo de uso / mes (min)	Espacio
60	1	60	Exterior
60	3	180	Esclusa o zona de cambio
60	1	60	Esclusa o zona de cambio
60	1	60	Esclusa o zona de cambio
60	2	120	Esclusa o zona de cambio
4	1	4	Sobre mesón
4	1	4	Sobre mesón
4	1	4	Almacenamiento
4	1	4	Sobre mesón
4	1	4	Sobre mesón
4	1	4	Almacenamiento
8	40	320	Esterilización y lavado
8	40	320	Esterilización y lavado
8	40	320	Esterilización y lavado
8	30	240	Esterilización y lavado
8	120	960	Esterilización y lavado
8	5	40	Almacenamiento
1	15	15	Zona de preparación
1	20	20	Zona de preparación
1	20	20	Zona de preparación
1	5	5	Zona de preparación
1	5	5	Almacenamiento
2	3	6	Zona estéril
2	60	120	Zona estéril
2	60	120	Zona estéril
2	60	120	Zona estéril
2	60	120	Almacenamiento
0,5	5	2,5	Zona limpia
0,5	2	1	Zona limpia
0,5	15	7,5	Zona estéril
0,5	15	7,5	Zona estéril
0,5	5	2,5	Zona limpia
0,5	5	2,5	Zona estéril
0,5	5	2,5	Zona estéril
0,5	5	2,5	Zona estéril
0,5	2	1	Zona estéril
0,5	10	5	Zona limpia
0,5	60	30	Zona limpia
60	3	180	Zona limpia
60	2	120	Zona estéril
60	2	120	Zona estéril
60	15	900	Zona limpia
60	3	180	Zona estéril
60	20	1200	Zona limpia
60	10	600	Zona limpia
60	4	240	Zona limpia
0,5	2	1	Zona limpia
0,5	2	1	Zona estéril
0,5	2	1	Zona estéril
0,5	15	7,5	Zona limpia
0,5	5	2,5	Zona estéril
0,5		0	Zona estéril
0,5	90	45	Zona limpia
0,5	5	2,5	Zona limpia
6	3	18	Zona limpia
6	60	360	Zona limpia
	30	0	Todas las áreas
	30	0	Todas las áreas
	30	0	Todas las áreas

Espacio	Tiempo de uso / mes (min)
Exterior	60
Esclusa o zona de cambio	420
Sobre mesón	16
Almacenamiento	173
Esterilización y lavado	2160
Zona de preparación	60
Zona estéril	814
Zona limpia	3595

ANEXO 3. Planos constructivos detallados.



PLANTA GENERAL: LABORATORIO BSL2

ESC: 1:20



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

CONTIENE:
PLANO DE DETALLE
PLANTA GENERAL: LABORATORIO BSL2

OBSERVACIONES:

FIRMA:

ESC:
INDICADA

FECHA:
Diciembre - 2016

CODIGO:

PLANO:

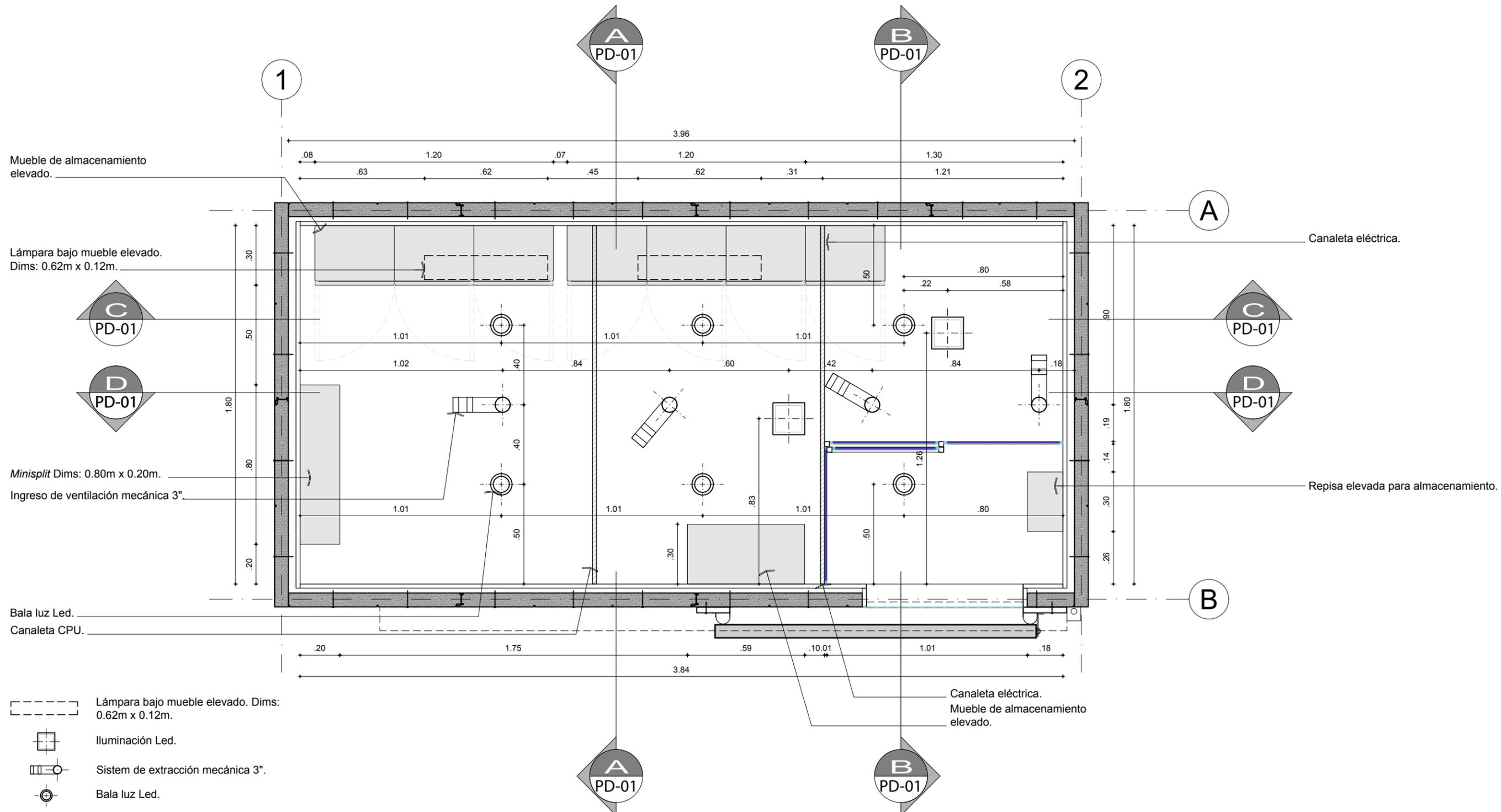
01

DE:

09

Laboratorio de Ingeniería Química
Universidad Nacional de Colombia edf, 412

PD-01



PLANTA CIELO RASO: LABORATORIO BSL2

ESC: 1:20



<p>CONTIENE: PLANO DE DETALLE PLANTA CIELO RAZO: LABORATORIO BSL2</p>
--

<p>OBSERVACIONES:</p> <hr/> <hr/> <hr/>
--

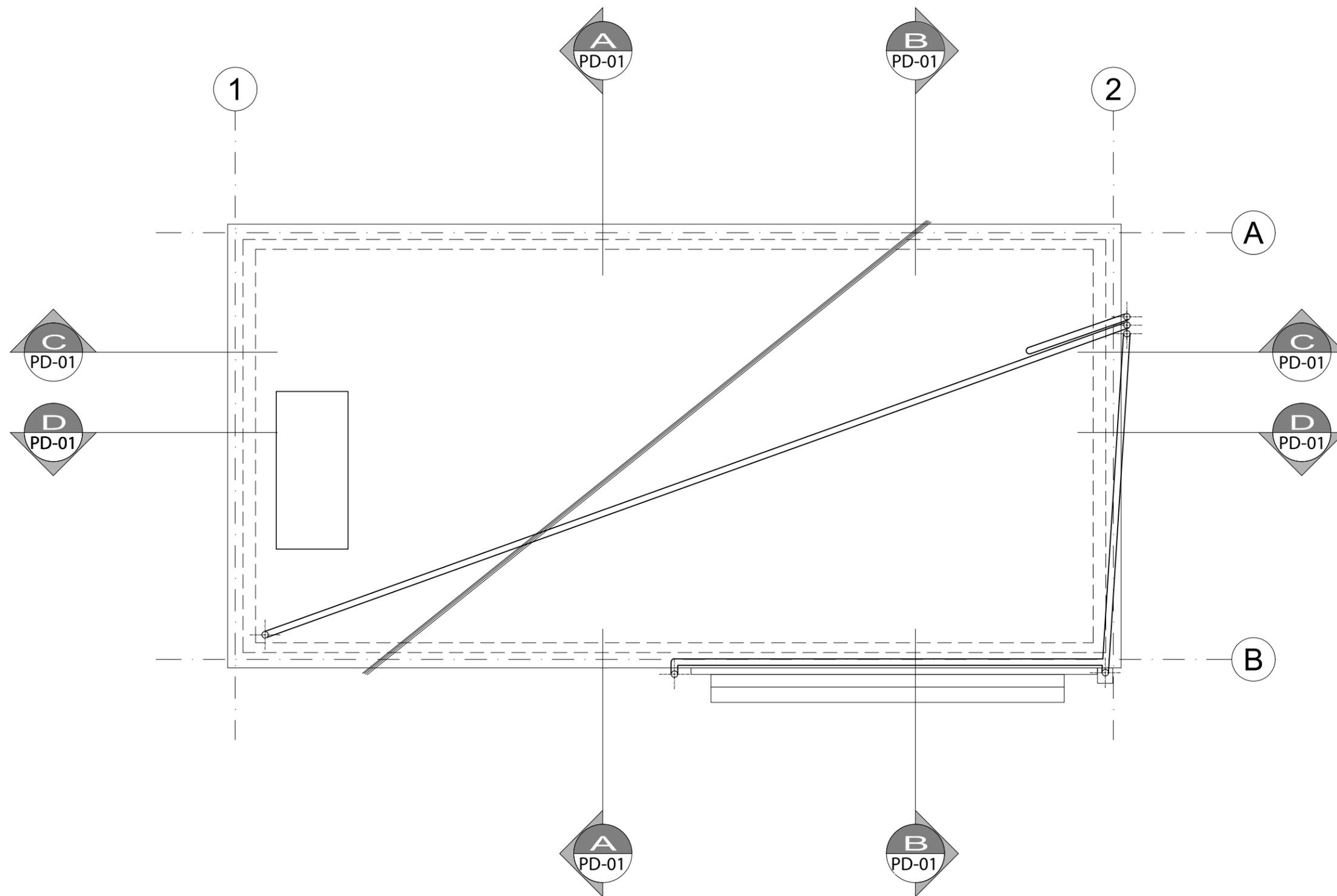
<p>FIRMA:</p>

<p>ESC: INDICADA</p>

<p>FECHA: Diciembre - 2016</p>

<p>CODIGO: PD-02</p>	<p>PLANO: 02</p>
<p>DE: 09</p>	

Laboratorio de Ingeniería Química
 Universidad Nacional de Colombia edf, 412



PLANTA CUBIERTA: LABORATORIO BSL2
 ESC: 1:20



CONTIENE:
 PLANO DE DETALLE
 PLANTA CUBIERTA: LABORATORIO BSL2

OBSERVACIONES:

FIRMA:

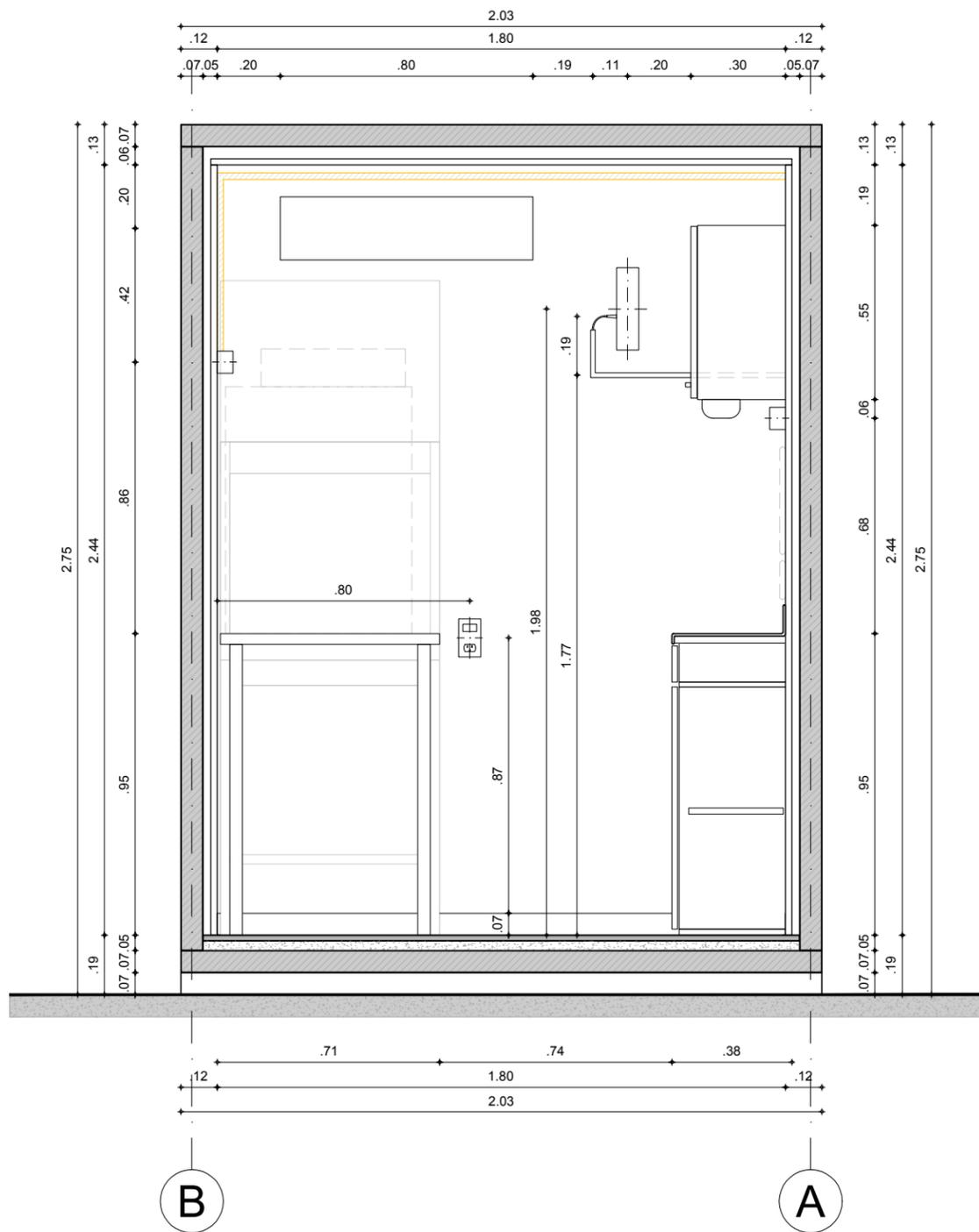
ESC:
 INDICADA

FECHA:
 Diciembre - 2016

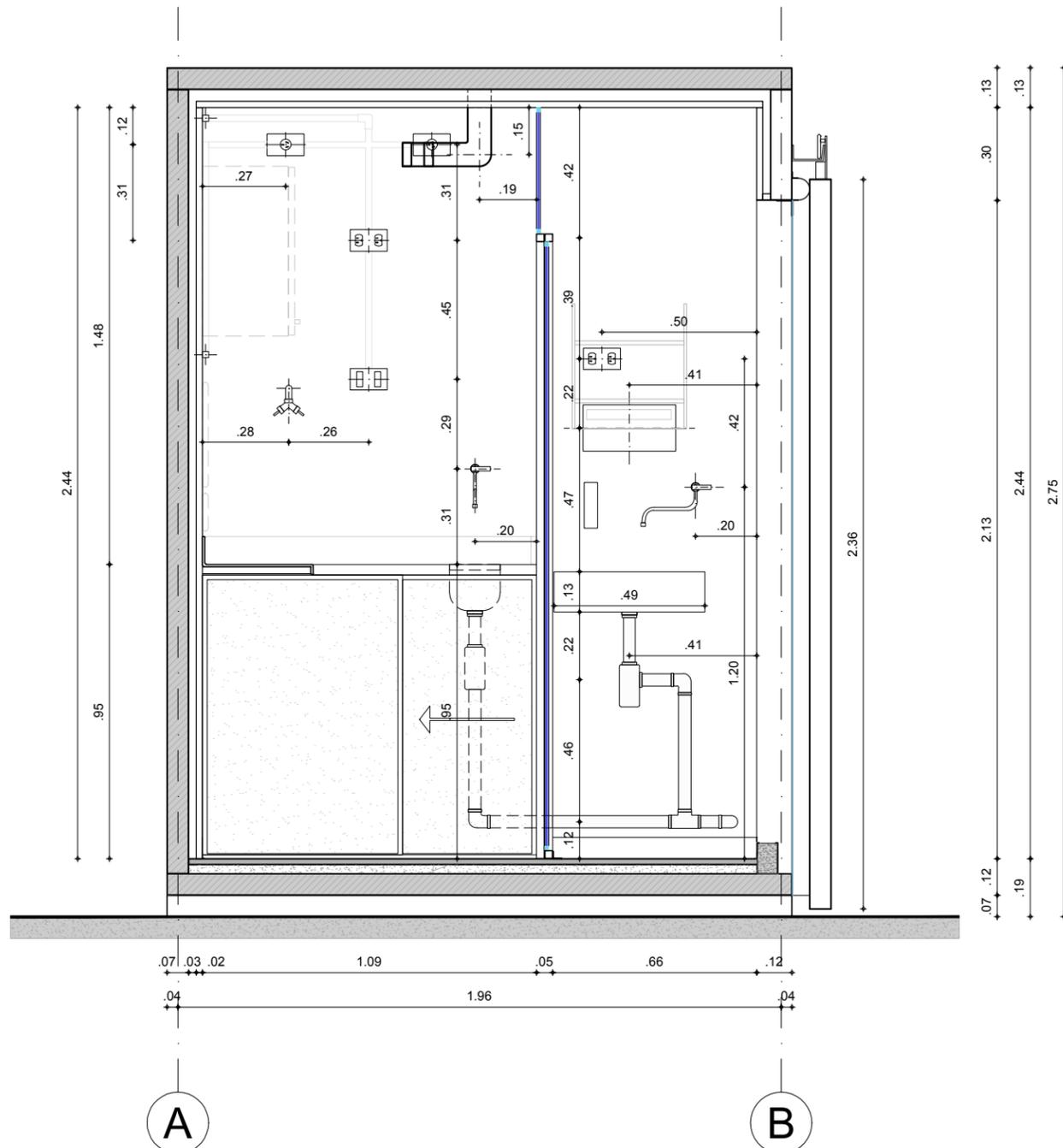
CODIGO:
 PD-03

PLANO:
 03
 DE:
 09

Laboratorio de Ingeniería Química
 Universidad Nacional de Colombia edf, 412



CORTE AA
ESC: 1:20



CORTE BB
ESC: 1:20



CONTIENE:
PLANO DE DETALLE
CORTE AA
CORTE BB

OBSERVACIONES:

FIRMA:

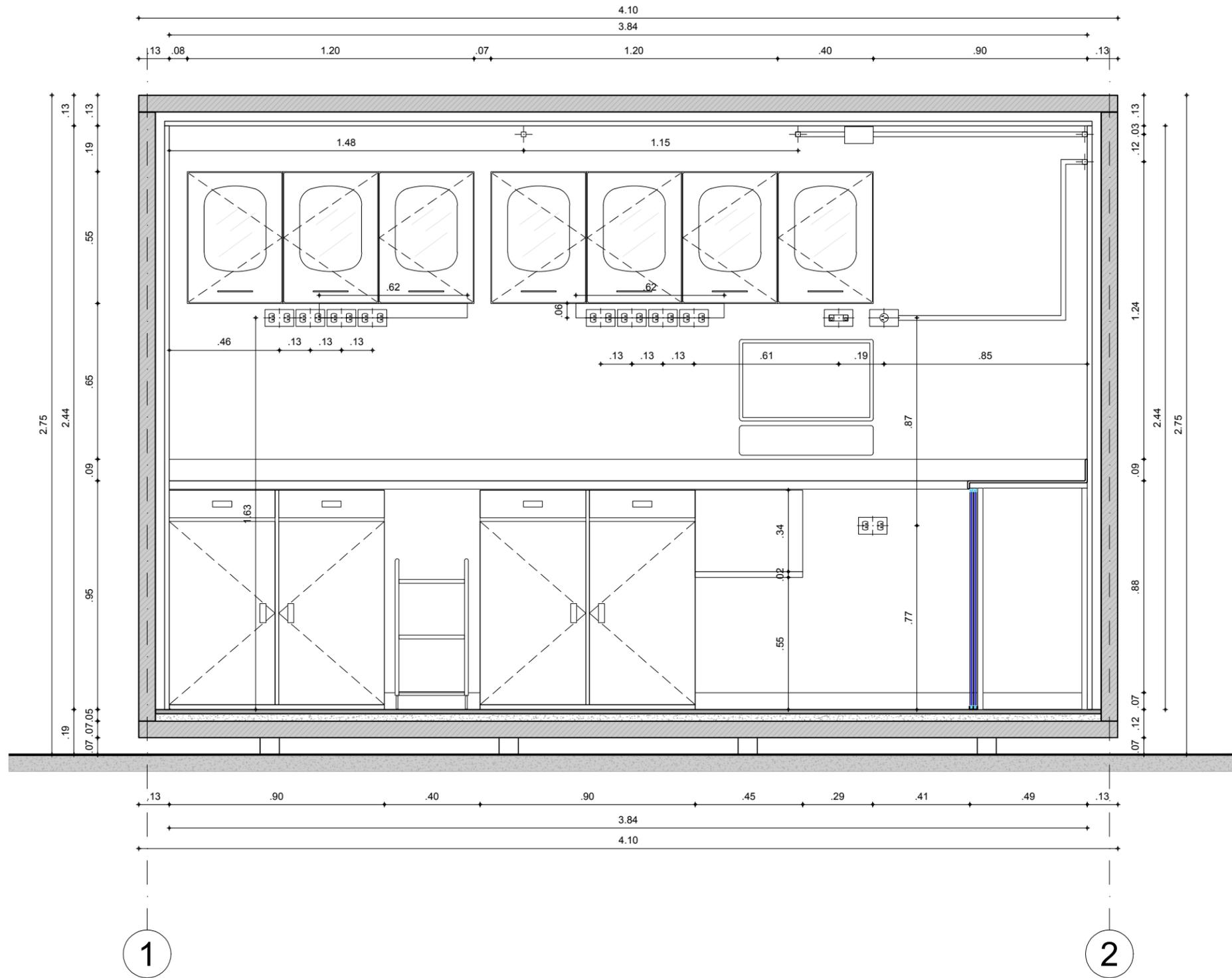
ESC:
INDICADA

FECHA:
Diciembre - 2016

CODIGO:
PD-04

PLANO:
04
DE:
09

Laboratorio de Ingeniería Química
Universidad Nacional de Colombia edf, 412



CORTE CC
 ESC: 1:20



CONTIENE:
 PLANO DE DETALLE
 CORTE CC

OBSERVACIONES:

FIRMA:

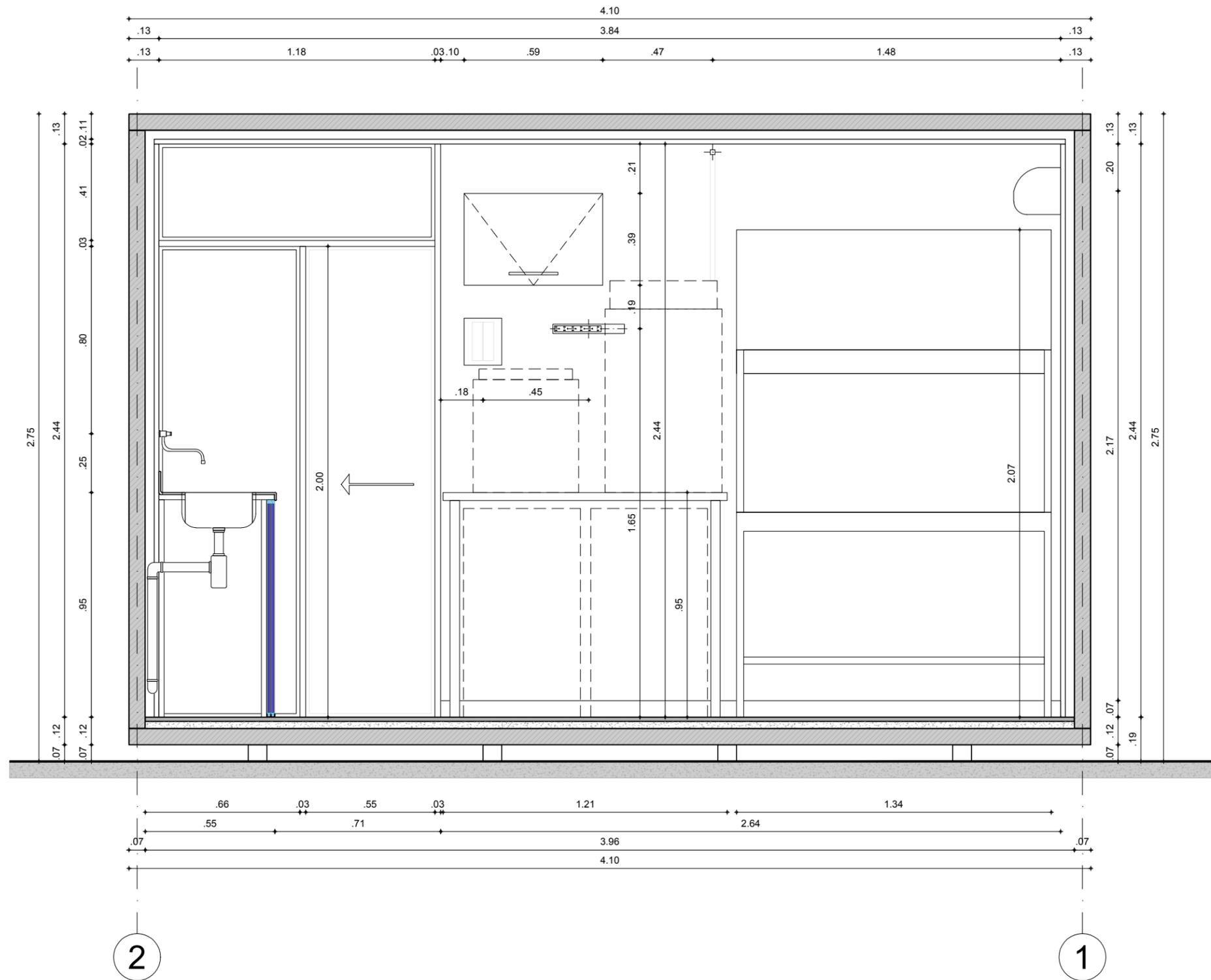
ESC:
 INDICADA

FECHA:
 Diciembre - 2016

Laboratorio de Ingeniería Química
 Universidad Nacional de Colombia edf, 412

CODIGO:
 PD-05

PLANO:
 05
 DE:
 09



CORTE DD
ESC: 1:20



CONTIENE:
 PLANO DE DETALLE
 CORTE DD

OBSERVACIONES:

FIRMA:

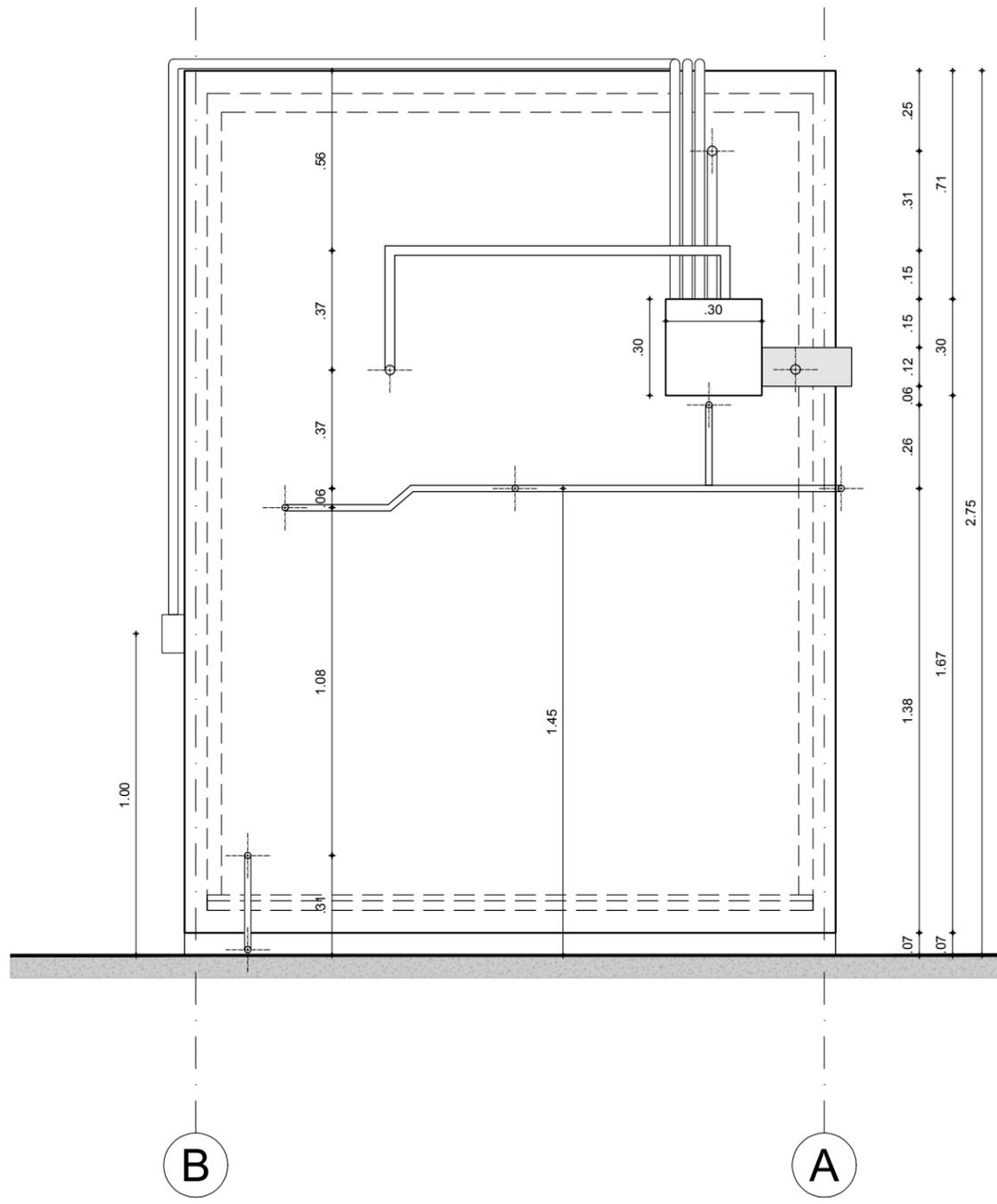
ESC:
 INDICADA

FECHA:
 Diciembre - 2016

Laboratorio de Ingeniería Química
 Universidad Nacional de Colombia edf, 412

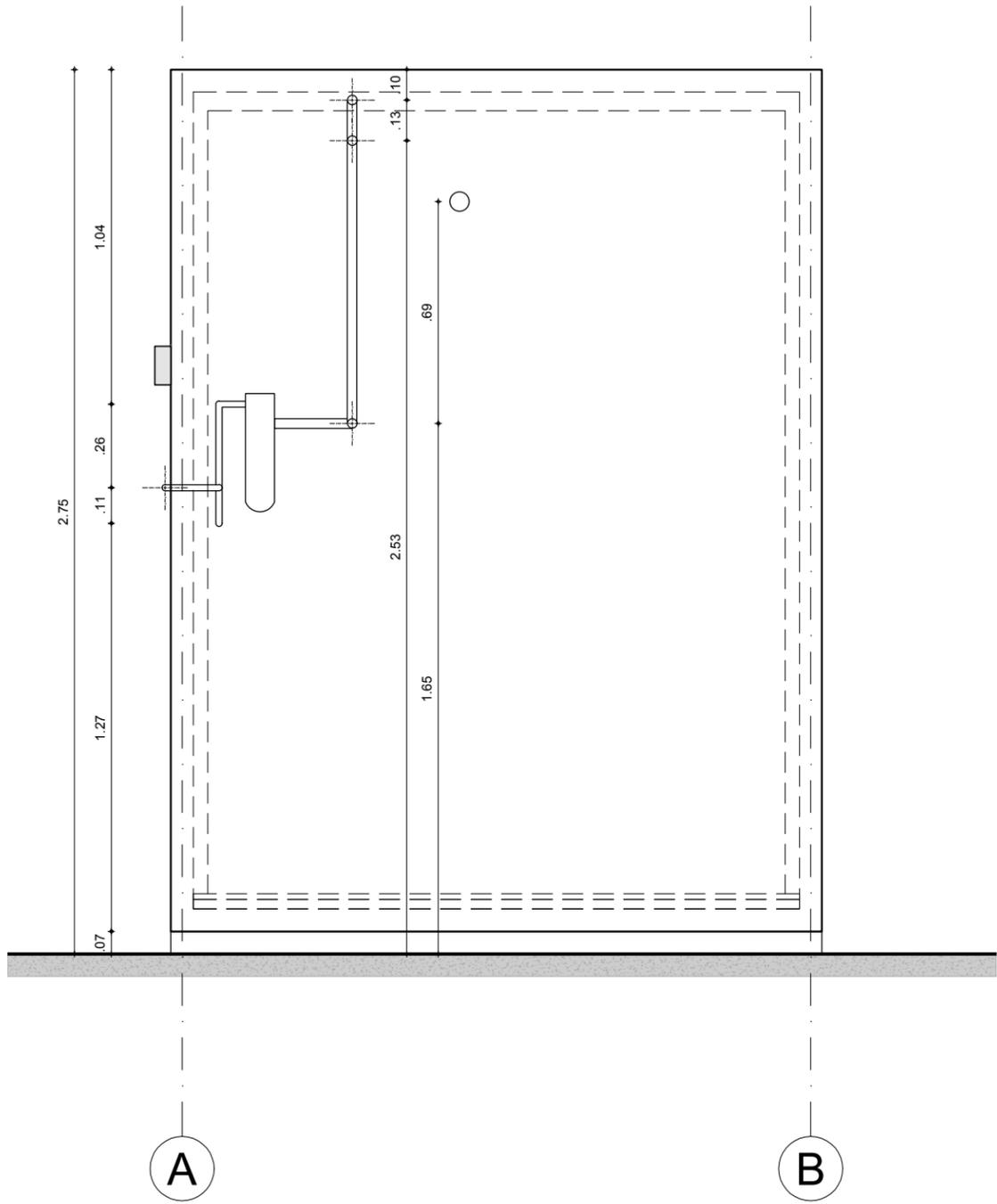
CODIGO:
 PD-06

PLANO:
 06
DE:
 09



ALZADO LATERAL DERECHO

ESC: 1:20



ALZADO LATERAL IZQUIERDO

ESC: 1:20



CONTIENE:
 PLANO DE DETALLE
 ALZADO LATERAL DERECHO
 ALZADO LATERAL IZQUIERDO

OBSERVACIONES:

FIRMA:

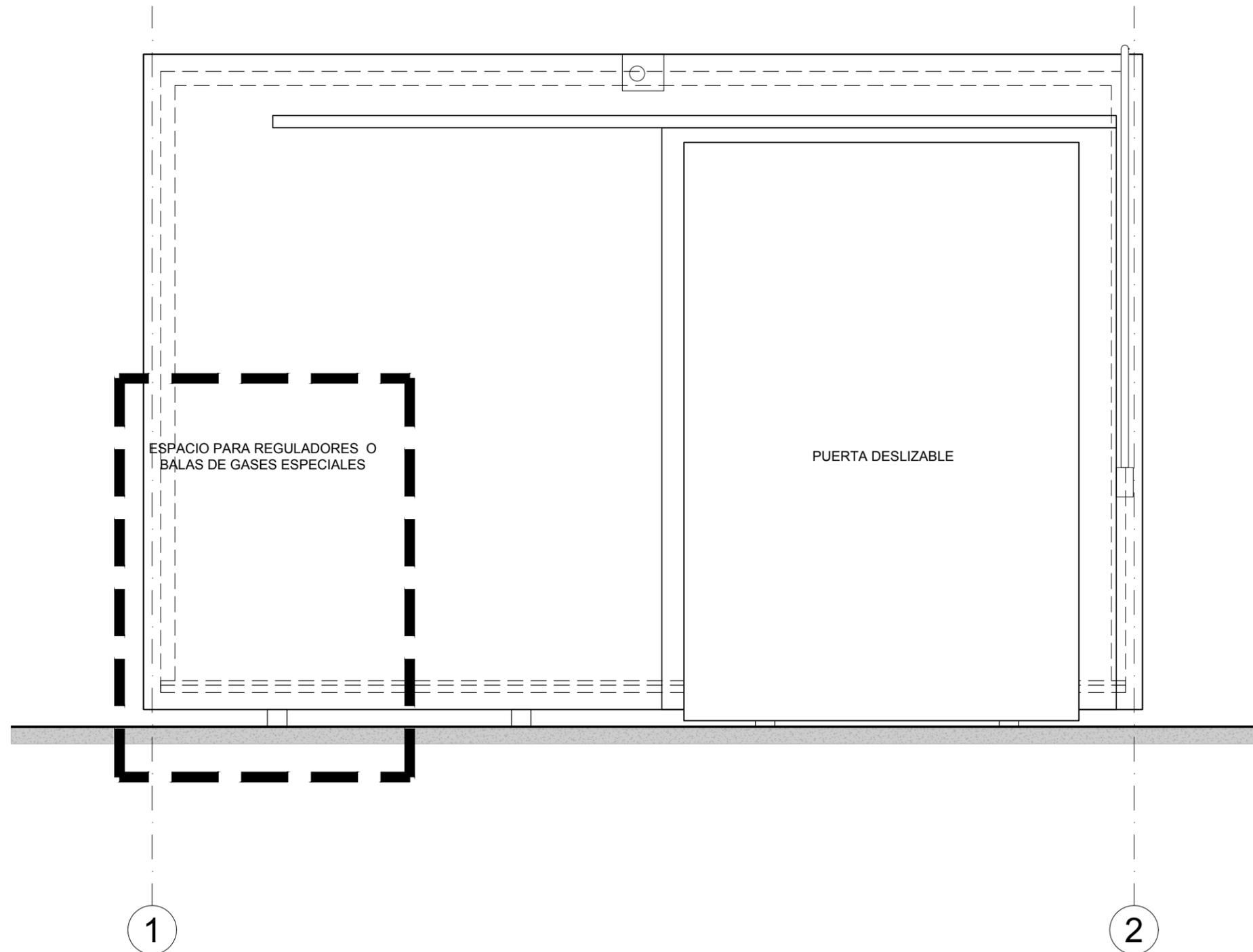
ESC:
 INDICADA

FECHA:
 Diciembre - 2016

Laboratorio de Ingeniería Química
 Universidad Nacional de Colombia edf, 412

CODIGO:
 PD-07

PLANO:
 07
 DE:
 09



ALZADO FRONTAL

ESC: 1:20



CONTIENE:
PLANO DE DETALLE
ALZADO FRONTAL

OBSERVACIONES:

FIRMA:

ESC:
INDICADA

FECHA:
Diciembre - 2016

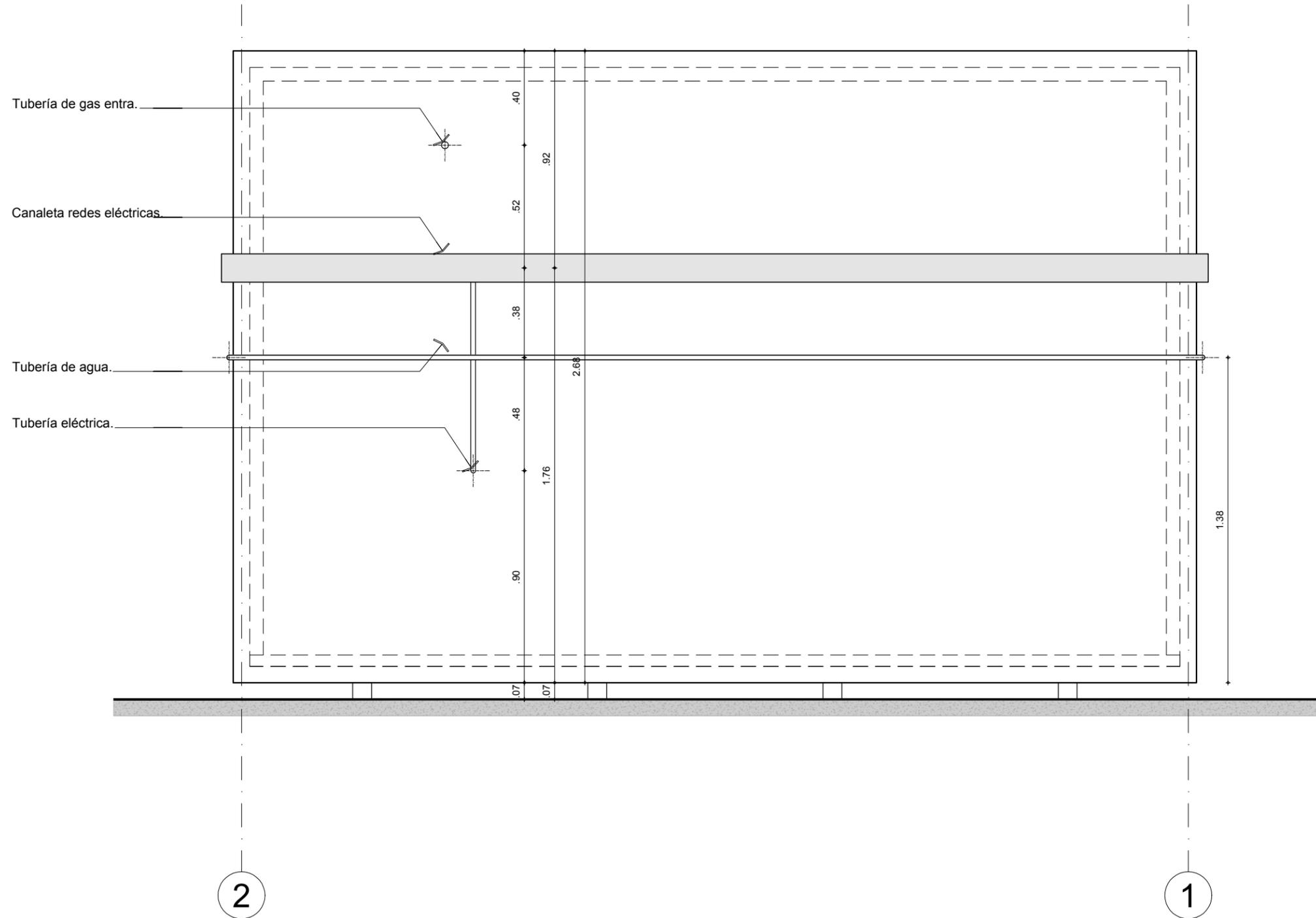
CODIGO:

PLANO:
08

Laboratorio de Ingeniería Química
Universidad Nacional de Colombia edf, 412

PD-08

DE:
09



ALZADO POSTERIOR

ESC: 1:20



CONTIENE:
PLANO DE DETALLE
ALZADO POSTERIOR

OBSERVACIONES:

FIRMA:

ESC:
INDICADA

FECHA:
Diciembre - 2016

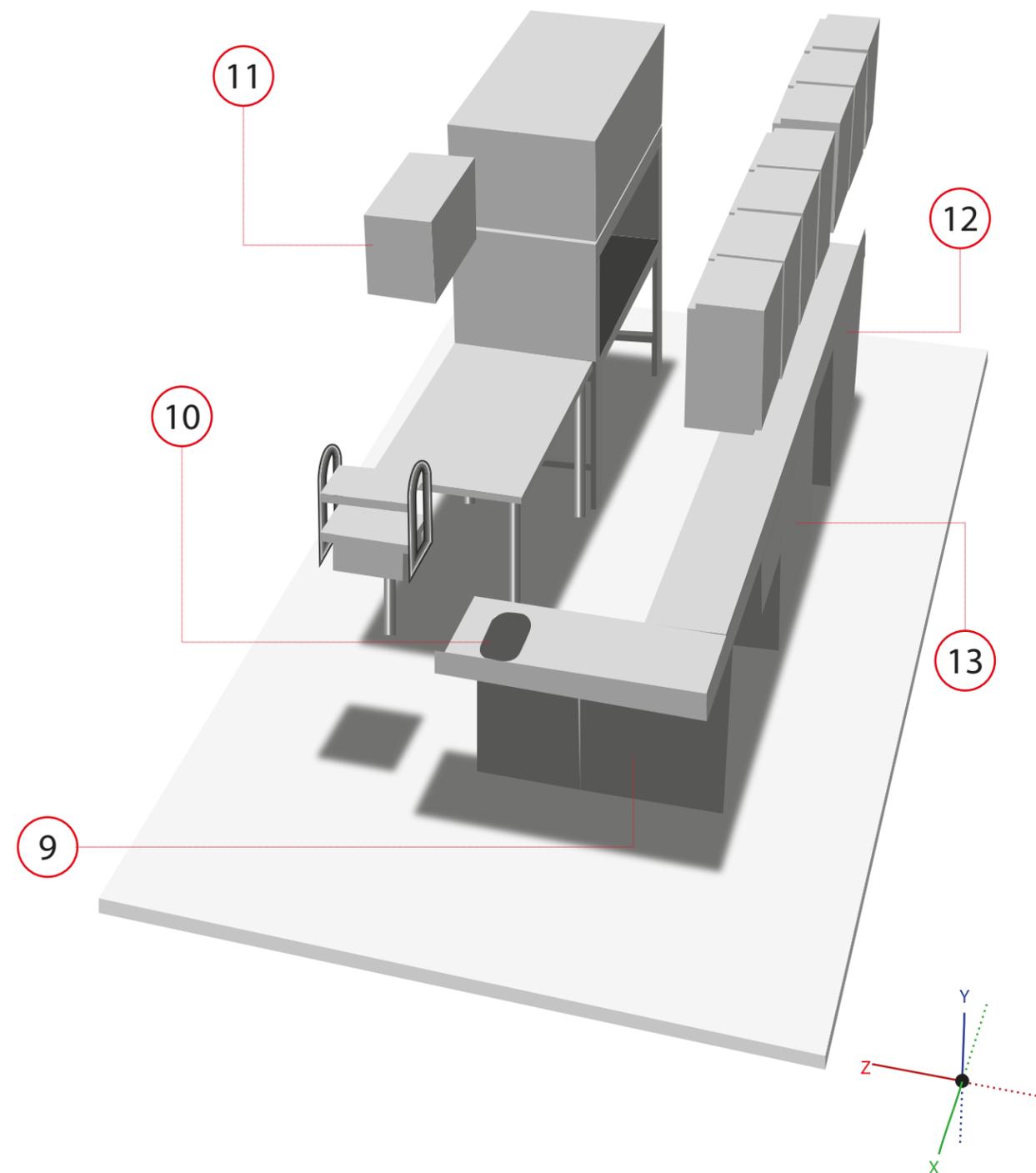
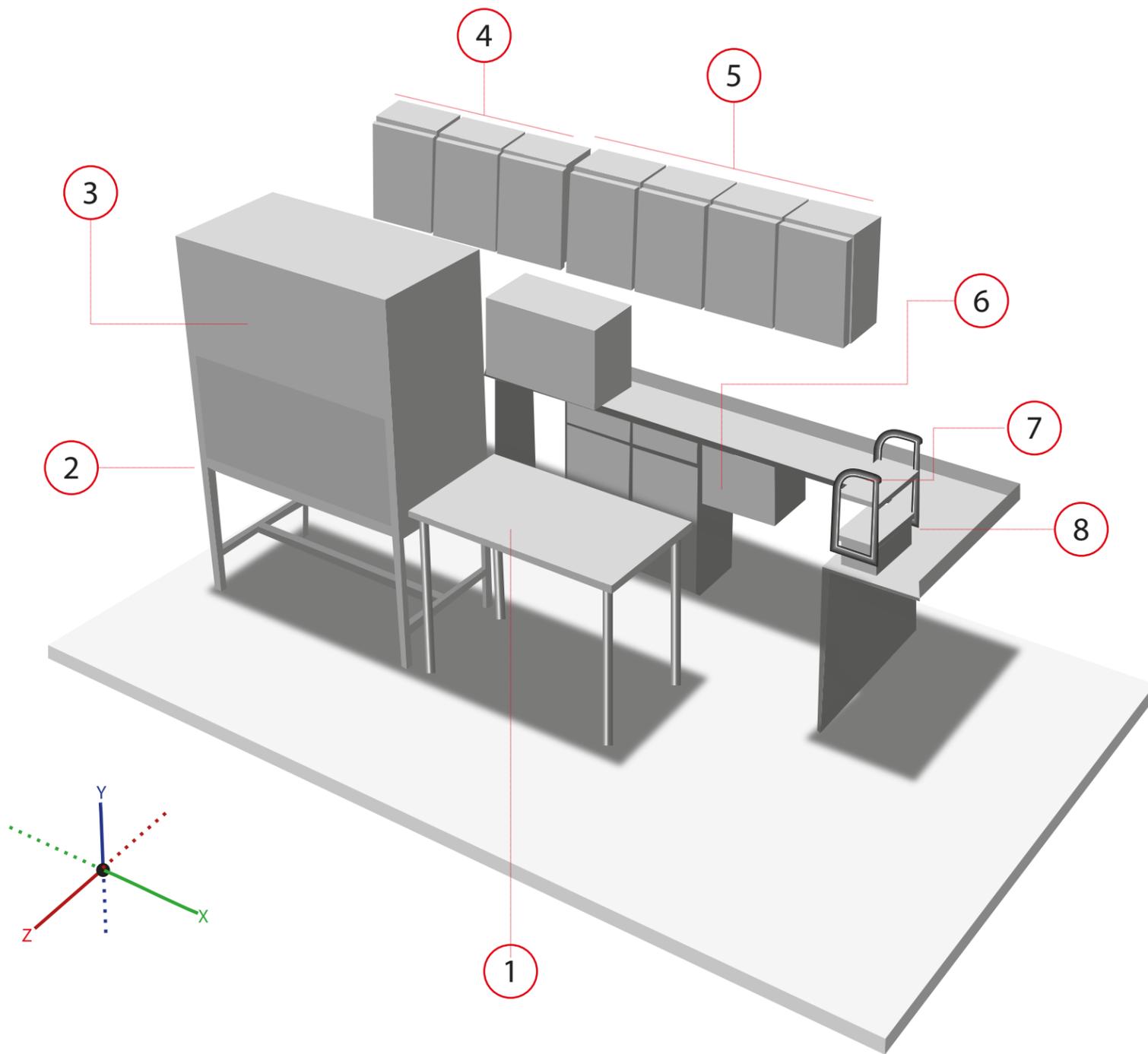
CODIGO:
PD-09

PLANO:
09

Laboratorio de Ingeniería Química
Universidad Nacional de Colombia edf, 412

DE:
09

**ANEXO 4. Isométricos detallados
de instalación de sistemas
principales.**



LABORATORIO BSL2

ESC: No Registrada



CONTIENE:
ISOMÉTRICO DE DETALLE DE MOBILIARIO
LABORATORIO BSL2

OBSERVACIONES:

FIRMA:

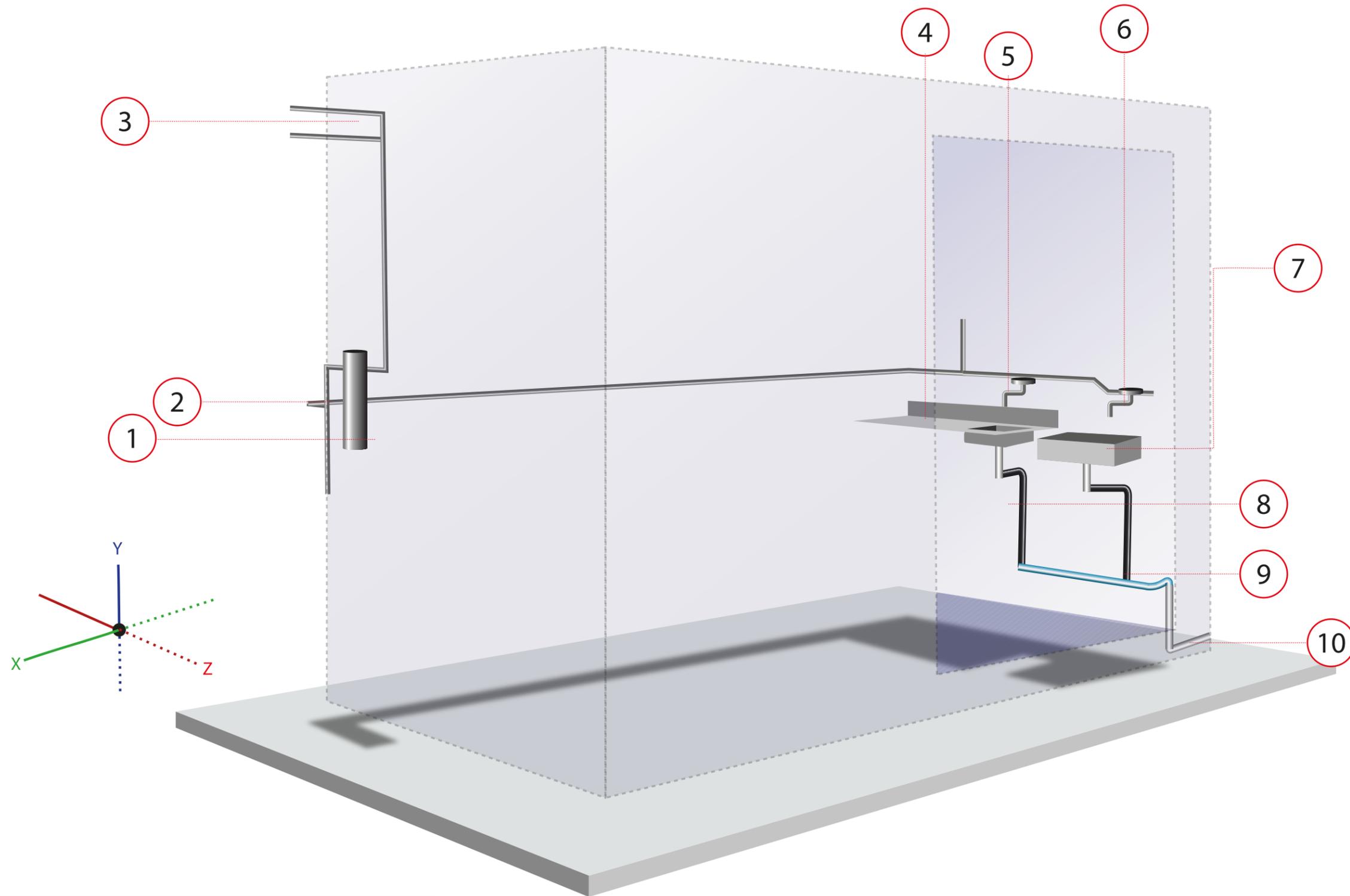
ESC:
N.R.

FECHA:
Diciembre - 2016

Laboratorio de Ingeniería Química
Universidad Nacional de Colombia edf, 412

CODIGO:
ID-01

PLANO:
01
DE:
04



LABORATORIO BSL2

ESC: No Registrada



CONTIENE:
ISOMÉTRICO DE DETALLE DE RED HIDROSANITARIA
LABORATORIO BSL2

OBSERVACIONES:

FIRMA:

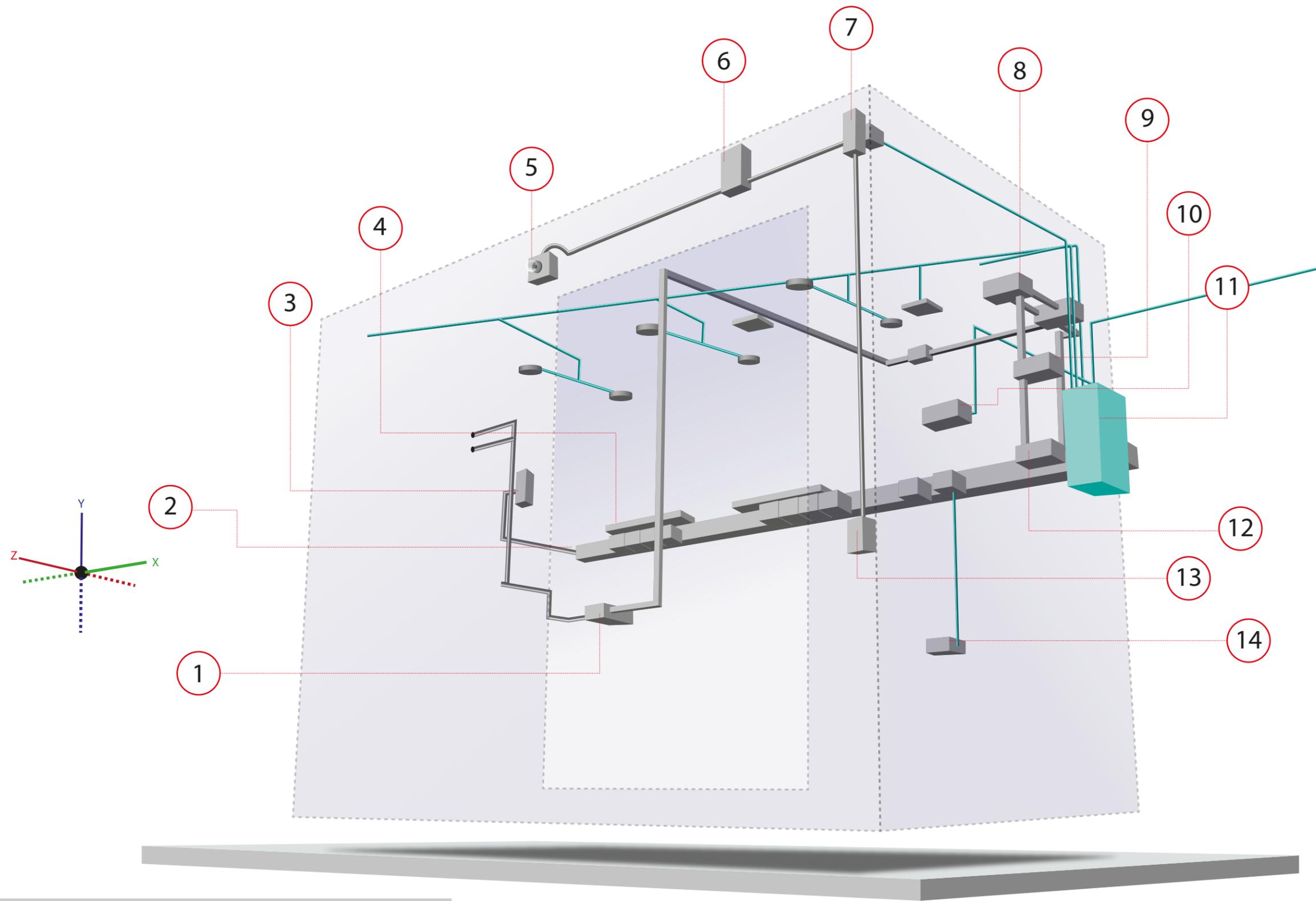
ESC:
N.R.

FECHA:
Diciembre - 2016

Laboratorio de Ingeniería Química
Universidad Nacional de Colombia edf, 412

CODIGO:
ID-02

PLANO:
02
DE:
04



LABORATORIO BSL2
 ESC: No Registrada



CONTIENE:
 ISOMÉTRICO DE DETALLE DE RED ELÉCTRICA E ILUMINACIÓN
 LABORATORIO BSL2

OBSERVACIONES:

FIRMA:

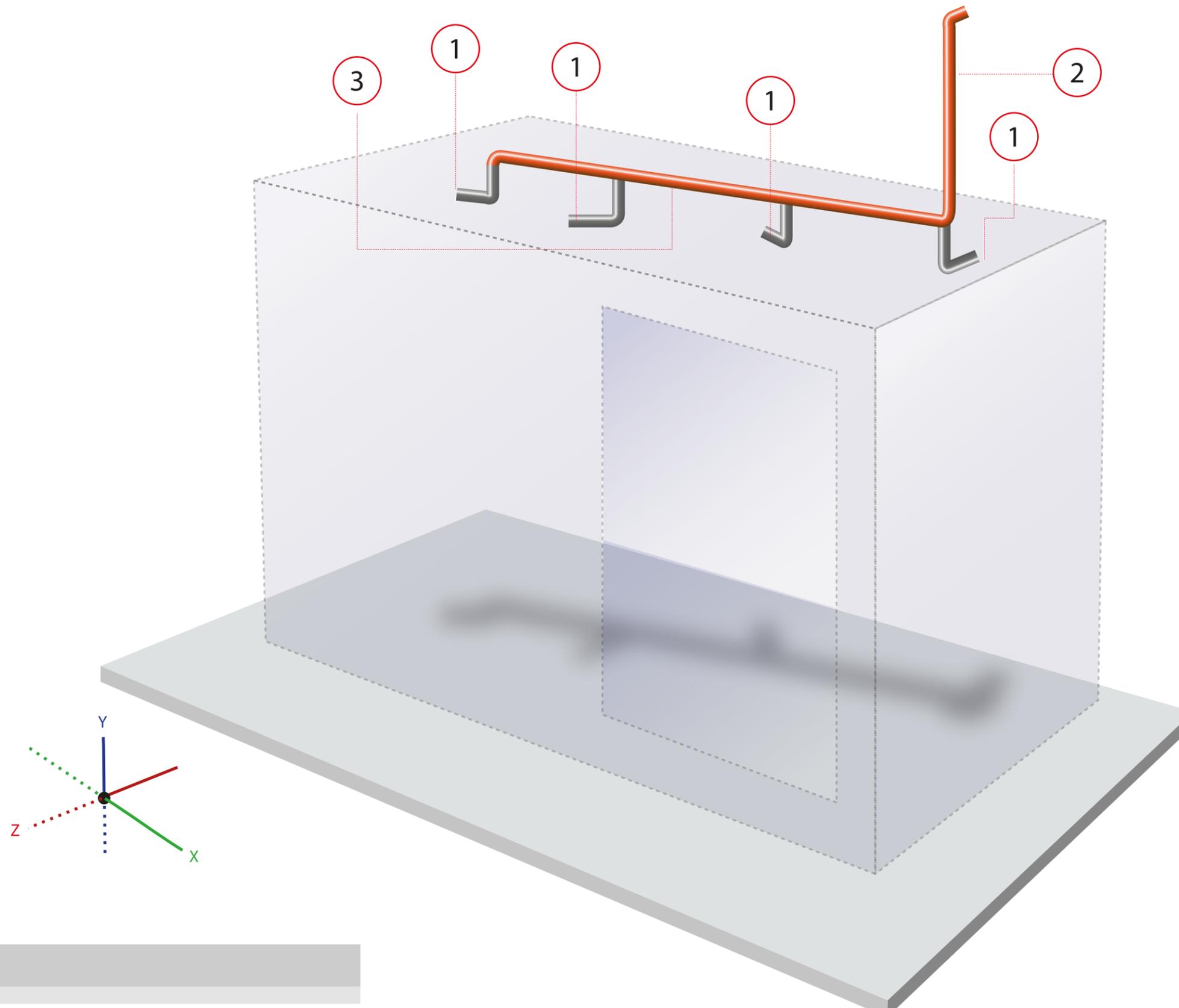
ESC:
 N.R.

FECHA:
 Diciembre - 2016

Laboratorio de Ingeniería Química
 Universidad Nacional de Colombia edf, 412

CODIGO:
 ID-03

PLANO:
 03
 DE:
 04



LABORATORIO BSL2

ESC: No Registrada



CONTIENE:
ISOMÉTRICO DE DETALLE DE RED HVAC INSTALADA
LABORATORIO BSL2

OBSERVACIONES:

FIRMA:

ESC:
N.R.

FECHA:
Diciembre - 2016

Laboratorio de Ingeniería Química
Universidad Nacional de Colombia edf, 412

CODIGO:
ID-04

PLANO:
04
DE:
04

**ANEXO 5. Presupuesto detallado
de adecuaciones locativas y
dotación.**

ITEM	DESCRIPCIÓN	UNIDAD	CANTIDAD	VR. UNITARIO	VR. TOTAL	VR. POR CAPITULO
1	MUROS EN CONSTRUCCION LIVIANA EN SECO. Adecuación periférica en PANELES DE FIBROCEMENTO					\$2.475.433
1.1.	Muro en Panel Sencillo de Fibrocemento : Superboard una (1) cara vista en lamina de fibrocemento de 5 mm con estructura galvanizada base 9 cal.24 con paral cada 40 cm , encintada, masillada y rematada, con acabado en pintura de vinilo color blanco	m2	25,833	\$79.971	\$2.065.849	
1.2.	Dintel <=1.00 m en Panel Doble de Fibrocemento : Superboard dos (2) cara vista en lamina de fibrocemento de 5 mm con estructura galvanizada base 9 cal.24 con paral cada 40 cm , encintada, masillada y rematada, con acabado en pintura de vinilo color blanco	m	0,79	\$109.748	\$86.701	
1.3.	A.I.U.	%	15%		\$322.883	
2	PISOS					\$2.910.967
2.1.	SUMINISTRO e INSTALACION DE ESTRUCTURA DE SOPORTE PISO FLOTADO CONFORMADA POR UNA PLACA DE CEMENTO CONCRETO, HOMOGÉNEA Y LISA	m2	6,912	\$134.823	\$931.897	
2.2.	SUMINISTRO e INSTALACION MASTICO AUTONIVELANTE SCHONOX FA 4000 PARA INSTALACION PISO VINILICO	m2	6,912	\$9.928	\$68.623	
2.3.	SUMINISTRO e INSTALACION MEDICA CAÑA PREFABRICADA DE CAUCHO TIPO IMPARK o EQUIVALENTE, RADIO = 5 cm. INSTALADA CON ADHESIVO ESPECIAL PARA PISOS	m	10,490	\$33.428	\$350.658	
2.4.	SUMINISTRO e INSTALACION PISO VINILICO HOMOGENE EN ROLLO, USO COMERCIAL de 2 mm de ESPESOR, CON POLIUREATNO REFORZADO, REDUCCION AL SONIDO DE IMPACTO DE 4 dB, RESISTENCIA TERMICA de 0.0095 m2 k/w, RESISTENCIA QUIMICA, RESISTENCIA A HONGOS Y BACTERIAS. Ref. TARKETT EMINENT 092 o EQUIVALENTE. INCLUYE MATEIAL DE PEGA	m2	6,912	\$120.000	\$829.440	
2.5.	RECUBRIMIENTO MEDIA CAÑA CON PISO VINILICO HOMOGENE EN ROLLO, USO COMERCIAL de 2 mm de ESPESOR, CON POLIUREATNO REFORZADO, REDUCCION AL SONIDO DE IMPACTO DE 4 dB, RESISTENCIA TERMICA de 0.0095 m2 k/w, RESISTENCIA QUIMICA, RESISTENCIA A HONGOS Y BACTERIAS. Ref. TARKETT EMINENT 092 o EQUIVALENTE. INCLUYE MATEIAL DE PEGA	m	10,490	\$33.428	\$350.658	
	A.I.U.	%	15%		\$379.691	
3	CIELORRASOS					\$1.004.137
3.1.	Cielorraso en Lamina de Fibrocemento Tipo Superboard espesor de 5 mm, apoyada en estructura metalica de perfiles omega, acabado en pintura epoxica poliamide blanca de Terinsa o equivalente acabado mate de 12 mils (3 manos)	m2	6,912	\$79.859	\$551.983	
3.2.	Mediacaña Prefabricada en PVC radio = 5 cm, asegurada con tornillo autopercutor y chazo plastico, acabado en pintura epoxica poliamide blanca de Terinsa o equivalente acabado mate de 12 mils (3 manos)	m	11,280	\$27.997	\$315.806	
3.3.	Perfil Metalico Estructural "C" Cajon Negro PHR C 150 x 50 x 3 mm, Dintel Puertas	m	0,79	\$6.802	\$5.373	
	A.I.U.	%	15%		\$130.974	
4	PINTURA					\$844.657
4.1.	Pintura Epoxica Poliamide sobre superficie Interior en Superboard, una (1) mano, color blanco mate tipo Terinsa o equivalente.	m2	25,833	\$22.431	\$579.443	
4.2.	Pintura Epoxica Poliamide bajo superficie de Cielorrasos en Superboard, una (1) mano, color blanco acabado mate tipo Terinsa o equivalente	m2	6,912	\$22.431	\$155.041	
	A.I.U.	%	15%		\$110.173	
5	SEMI-PUERTA PARA LABORATORIO					\$363.400
5.1.	Puerta en segmentos de PVC para retención de partículas. Segmentos de PVC de 20 cms con solape de 4 cm a cada lado. Láminas atornilladas con tornillo de 1/4 x 1/4 a lámina de aluminio sobre dintel.	m	0,79	\$400.000	\$316.000	
	A.I.U.	%	15%		\$47.400	
6	MOBILIARIO					\$10.214.080
6.1.	MUEBLE 01: MESA DE LABORATORIO EN L (BSL2). DIMENSIONES: Brazo mayor 3.84 m X 0.36 m, Brazo menor 0.73 m x 0.50 m - Superficie, salpicadero y borde en resina epóxica, fenólica o Corian. - Superficie antimicrobiana, descontaminable, blanca y monocromática (sin texturizados, partículas visibles, o trazas de otros tonos), sin uniones, monolítica, de fácil limpieza y desinfección, completamente homogénea, no porosa, no absorbente, baja conductividad eléctrica y resistencia a choques térmicos. Resistente al impacto, al rayado y a la abrasión. Sus bordes deben ser redondeados o totalmente cóncavos. Debe ser resistente a altas temperaturas sin deformarse, o generar grietas y/o ampollas en la superficie (min 150°C). Índice de propagación de llama (FSI) <25 e índice de desarrollo de humo (SDI) <450 según ASTM E84 o su equivalente en otra normativa. - Debe incluir Estructura de soporte en acero estructural cold rolled o superior. Acabado en doble capa de pintura epoxi-poliéster en polvo horneada aplicada bajo sistema electrostático, mas clear transparente epoxi -poliéster o equivalente. - La superficie debe unirse a la pared en ambas direcciones a través de salpicaderos concavos (no rectos), los cuales deben ser del mismo material de la superficie. La superficie con sus bordes, salpicaderos y cantos deben ser monolíticos. Sus bordes y cantos deben ser redondeados o totalmente cóncavos Rmin=1/2". - La superficie debe incluir poceta en el mismo material y sistema de conexión a red hidrosanitaria.	und	1	#####	#####	
6.2.	MUEBLE 02: MESA DE LABORATORIO RECTA (BSL2). DIMENSIONES: 0.70 m x 1.34 m - Superficie, salpicadero y borde en resina epóxica, fenólica o Corian. - Superficie antimicrobiana, descontaminable, blanca y monocromática (sin texturizados, partículas visibles, o trazas de otros tonos), sin uniones, monolítica, de fácil limpieza y desinfección, completamente homogénea, no porosa, no absorbente, baja conductividad eléctrica y resistencia a choques térmicos. Resistente al impacto, al rayado y a la abrasión. Sus bordes deben ser redondeados o totalmente cóncavos. Debe ser resistente a altas temperaturas sin deformarse, o generar grietas y/o ampollas en la superficie (min 150°C). Índice de propagación de llama (FSI) <25 e índice de desarrollo de humo (SDI) <450 según ASTM E84 o su equivalente en otra normativa. - Debe incluir Estructura de soporte en acero estructural cold rolled o superior. Acabado en doble capa de pintura epoxi-poliéster en polvo horneada aplicada bajo sistema electrostático, mas clear transparente epoxi -poliéster o equivalente. - La superficie debe unirse a la pared en ambas direcciones a través de salpicaderos concavos (no rectos), los cuales deben ser del mismo material de la superficie. La superficie con sus bordes, salpicaderos y cantos deben ser monolíticos. Sus bordes y cantos deben ser redondeados o totalmente cóncavos Rmin=1/2". - La superficie debe incluir poceta en el mismo material y sistema de conexión a red hidrosanitaria. - La configuración de la superficie debe evitar hundimientos, abolladuras, elevaciones y/o curvaturas durante la vida útil del	und	1	\$2.501.333	\$2.501.333	

6.3.	MUEBLE 04: ALMACENAMIENTO SUPERIOR (3 MÓDULOS). Dimensiones: <u>1.60 m x 0.55 m x 0.27 m</u> - Incluye tapa hasta cielo raso. Altura a cielo raso <u>0.19 m</u> . El diseño debe evitar la acumulación de polvo en la parte superior. - En lamina de acero cold rolled doblada cal. 18. soldadura e 60 xx. acabado: doble capa de pintura epoxi-poliéster en polvo horneada ,aplicada bajo sistema electroestático ral : 9006 gris cromado mas clear transparente epoxi –poliéster. - Entrepaños en lamina de acero cold rolled doblada cal. 18. Soldadura e 60 xx. acabado: en doble capa de pintura epoxi-poliéster en polvo horneada , aplicada bajo sistema electroestático ral : 9006 gris cromado mas clear transparente epoxi –poliéster. - Puertas batientes entabornadas para cada módulo con manija grafada en lamina de acero cold rolled cal. 18. Soldadura e 60 xx. Acabado: en pintura epoxi-poliéster en polvo horneada aplicada bajo sistema electroestático Ral : 9003 blanco mas clear transparente epoxi poliéster.	und	1	\$396.900	\$396.900
6.4.	MUEBLE 05: ALMACENAMIENTO SUPERIOR (1 MÓDULO HORIZONTAL). Dimensiones: <u>0.59 m x 0.39 m x 0.30 m</u> - Incluye tapa hasta cielo raso. Altura a cielo raso <u>0.21 m</u> . El diseño debe evitar la acumulación de polvo en la parte superior. - En lamina de acero cold rolled doblada cal. 18. soldadura e 60 xx. acabado: doble capa de pintura epoxi-poliéster en polvo horneada ,aplicada bajo sistema electroestático ral : 9006 gris cromado mas clear transparente epoxi –poliéster. - Entrepaños en lamina de acero cold rolled doblada cal. 18. Soldadura e 60 xx. acabado: en doble capa de pintura epoxi-poliéster en polvo horneada , aplicada bajo sistema electroestático ral : 9006 gris cromado mas clear transparente epoxi –poliéster. - Puertas batientes entabornadas para cada módulo con manija grafada en lamina de acero cold rolled cal. 18. Soldadura e 60 xx. Acabado: en pintura epoxi-poliéster en polvo horneada aplicada bajo sistema electroestático Ral : 9003 blanco mas clear transparente epoxi poliéster. - Cerradura de superficie lisa y acabado color blanco con proceso electroquímico. - Bisagra embebida (oriental) en acero templado. ángulo de apertura 110° slide-on, caja 35 mm, base de montaje slide-on h=2 montaje en el lateral con perforación oval para permitir tolerancia en ajuste. Tipo formplex o superior. - Consultar especificaciones técnicas, planos de amueblamiento y verificar medidas en sitio.	und	1	\$210.900	\$210.900
6.5.	MUEBLE 06: ALMACENAMIENTO INFERIOR (Largo) Dimensiones: <u>0.9 m x 0.95 m x 0.38 m</u> - Mueble de almacenamiento bajo (cajones y gabinete), en acero inoxidable 304 calibre 16. El mueble debe tener rodachines o ruedas con sistema escualizable y giratorias, con capacidad de carga de 70 kg/rueda. Altura efectiva 4". Rueda tipo pb Ø 3", con rin de polipropileno de alto impacto. Banda de 1" en poliuretano blanco, color negro. Freno de pedal. Sujeción: soporte en acero inoxidable 304 con doble pista de esferas (Dim 1" x 1") fijado mediante tornillo de 1/2". Ref.: serie 19 ymsa o superior. - El diseño del mueble, dimensiones, cantidad de cajones y gabinetes están sujetos al catálogo del proveedor.	und	2	\$643.221	\$1.286.442
6.6.	MUEBLE 04: ALMACENAMIENTO SUPERIOR (3 MÓDULOS). Dimensiones: <u>1.20 m x 0.55 m x 0.27 m</u> - Incluye tapa hasta cielo raso. Altura a cielo raso <u>0.19 m</u> . El diseño debe evitar la acumulación de polvo en la parte superior. - En lamina de acero cold rolled doblada cal. 18. soldadura e 60 xx. acabado: doble capa de pintura epoxi-poliéster en polvo horneada ,aplicada bajo sistema electroestático ral : 9006 gris cromado mas clear transparente epoxi –poliéster. - Entrepaños en lamina de acero cold rolled doblada cal. 18. Soldadura e 60 xx. acabado: en doble capa de pintura epoxi-poliéster en polvo horneada , aplicada bajo sistema electroestático ral : 9006 gris cromado mas clear transparente epoxi –poliéster. - Puertas batientes entabornadas para cada módulo con manija grafada en lamina de acero cold rolled cal. 18. Soldadura e 60 xx. Acabado: en pintura epoxi-poliéster en polvo horneada aplicada bajo sistema electroestático Ral : 9003 blanco mas clear transparente epoxi poliéster. - Cerradura de superficie lisa y acabado color blanco con proceso electroquímico	und	1	\$296.900	\$296.900
	A.I.U.	%	15%		\$1.332.271

7	DIVISIÓN INTERNA ESCLUSA					\$511.407
7.1.	- Panel lateral de división interna en PVC fijado a piso y techo por canales de aluminio o acero. Fijo, lavable y sanitizable. Incluye panel de puerta corrediza. - Consultar especificaciones técnicas, planos de amueblamiento y verificar medidas en sitio. - Fabricación previa aprobación de muestra física y paleta de colores para la superficie.	m2	4,62	\$79.200	\$365.904	
7.2.	- Estructura remachada, no soldada. se debe instalar una vez hayan ingresado mesones y equipos robustos - Lavable y Sanitizable - Consultar especificaciones técnicas, planos de amueblamiento y verificar medidas en sitio.	m	18,722	\$2.233	\$41.806	
7.3.	Riel de corredera de puerta, debe ser suficiente para apertura en toda la longitud. se debe instalar en piso y techo. Consultar especificaciones técnicas, planos de amueblamiento y verificar medidas en sitio. - Fabricación previa aprobación de muestra física y paleta de colores para la superficie y la estructura	m	2,2	\$12.133	\$26.693	
7.4.	Pilar de soporte en aluminio en esquina de división. Perfil cuadrado 1". asegurado a cieloraso y piso.	m	2,44	\$4.221	\$10.299	
	A.I.U.	%	15%		\$66.705	

8	SILLAS					\$1.600.000
8.1.	SILLA ALTA DE LABORATORIO (Superficie de trabajo a mas de 0.85 cm del piso). Estructura conformada por piezas de polipropileno o poliamida reforzada con fibra de vidrio. Asiento de cinco (5) patas con ruedas o topes. Carcasas de asiento y espaldar fabricadas en polipropileno o poliamida reforzados con fibra de vidrio. El interior del asiento debe ser fabricado en espuma de poliuretano preformado y recubierto con tejido sintético a escoger según muestra. Previa aprobación de muestra física y paleta de colores por parte del taller de diseño de la OPT. Apoyapié en nylon graduable en altura por perilla, base en nylon reforzada con fibra de vidrio al 30%, 5 espas y deslizadores en polipropileno	und	2	\$800.000	\$1.600.000	
	A.I.U.	%	0		\$0	

9	SEÑALIZACION y OTROS					\$335.964
9.1.	SEÑALIZACION ACCESO LABORATORIOS EN VIDRIO TEMPLADO CON ACCESORIOS EN ACERO INOXIDABLE Y VINILO ADHESIVO de 500 x 281 mm	und	1	\$167.982	\$167.982	
9.2.	SEÑALIZACION ÁREAS DE TRABAJO LABORATORIOS EN VIDRIO TEMPLADO CON ACCESORIOS EN ACERO INOXIDABLE Y VINILO ADHESIVO de 200 x 180 mm	und	1	\$167.982	\$167.982	
	A.I.U.	%	0	\$335.964	\$0	

10	INSTALACIONES HIDROSANITARIAS					\$1.698.485
10.1.	PUNTO AF LAVAMANOS PVC-P 1/2"	und	2	\$74.751	\$149.502	
10.2.	PUNTO AF POCETA PVC-P 1/2"	und	2	\$73.035	\$146.070	
10.3.	PUNTO AF DOBLE PARA EQUIPOS PVC-P 1/2"	und	2	\$74.751	\$149.502	
10.4.	TUBERÍA PVC-P RDE 9 1/2" 1/2"	m	7,635	\$9.632	\$73.541	
10.5.	S.S. LAVAMANOS Y POCETA PVC-S 2"	und	1	\$73.761	\$73.761	
10.6.	CONEXION LAVAMANOS (M.O. CONEXIÓN, NO INCLUYE ELEMENTO DE CONEXIÓN CON EL APARATO)	und	1	\$57.287	\$57.287	
10.7.	CONEXIÓN POCETAS DE ASEO (M.O. CONEXIÓN LLAVE)	und	1	\$15.941	\$15.941	
10.8.	EMPATE A RED EXISTENTE PVC-P 1 1/4"	und	1	\$77.432	\$77.432	
10.9.	MANUAL DE OPERACIÓN Y MANTENIMIENTO	GLB	1	\$364.884	\$364.884	
10.10.	ELABORACION DE PLANOS RECORD	GLB	1	\$143.569	\$143.569	
10.11.	PRUEBA DE PRESION	GLB	1	\$42.725	\$42.725	
10.12.	PRUEBA DE FLUJO	GLB	1	\$38.232	\$38.232	
10.13.	PRUEBA DE ESTANQUEIDAD POR BAJANTE	GLB	1	\$65.362	\$65.362	
10.14.	PASE EN SUPERFICIE EXTERIOR DE ALUMINIO, AISLANTE DE FIBRA DE VIDRIO Y FIBROCEMENTO 0,013m 1/2"	und	3	\$14.230	\$42.690	
10.15.	PASE EN SUPERFICIE EXTERIOR DE ALUMINIO, AISLANTE DE FIBRA DE VIDRIO Y FIBROCEMENTO 0,013m 2"	und	2	\$18.223	\$36.446	

	A.I.U.	%	15%		\$221.541
11	INSTALACIONES RED CONTRA INCENDIO				\$1.362.592
11.1.	EXTINTORES PORTÁTILES	un	1	\$73.207	\$73.207
11.2.	Suministro e Instalación de sistema de detección de gases. Monitoreo mínimo de O2 y cO2	GLB	1	\$1.224.500	\$1.224.500
	A.I.U.	%	5%	\$1.297.707	\$64.885
12	INSTALACIONES ELECTRICAS e ILUMINACION				\$5.582.268
12.1.	Luminarias LED 20W 120V: Luminaria LED circulares de incrustar de 40 W 120V color 4000K. Dimensiones: 0.30 x 0.10	un	2	\$132.422	\$264.844
12.2.	Luminarias LED 40W 120V: Luminaria LED circulares de incrustar de 40 W 120V color 4000K. Dimensiones: LAMPARAS 0.11mX0.06m	un	6	\$48.225	\$289.350
12.3.	Luminaria de emergencia: Suministro, transporte e instalación de luminaria de emergencia TIPO BALA LED DE 5W,	un	1	\$130.224	\$130.224
12.4.	Luminaria LED 10W 120V bajo mueble elevado: instaladas bajo mueble elevado color 4000K. Dimensiones: 0.62 x 0.12	un	2	\$220.000	\$440.000
12.5.	Suministro, transporte e instalación de materiales y accesorios para salida de tomacorriente monofasica normal, tipo LEVITON, incluyendo ducto de EMT Ø ¾, cajas, conduletas, conectores, elementos de fijacion, conductor de cobre cable siete hilos 2No12 AWG, THHN -TC 90º C 600V, (FASE-NEUTRO), toma corriente doble con polo a tierra, 15 A, 120V(5-15R) conductor de cobre desnudo No12 para continuidad, conectores tipo resorte y demás accesorios.	un	16	\$69.233	\$1.107.736
12.6.	Suministro, transporte e instalación de materiales y accesorios para la salida de tomacorriente normal	un	3	\$102.245	\$306.735
12.7.	Suministro, transporte e instalación de ducto rectangular, incluye soportes, y accesorios, de montaje, sujeción y anclaje. (PARA RED ELECTRICA POSTERIOR)	m	4,3	\$123.187	\$529.703
12.8.	Suministro, transporte e instalación de ducto de circular, incluye soportes, y accesorios, de montaje, sujeción y anclaje. (PARA RED ELECTRICA SUPERIOR)	m	10	\$3.442	\$34.420
12.9.	Suministro, transporte e instalación de gabinete metálico construido en lámina Cold Rolled calibre No 16 (mínimo); refuerzos estructurales en perfil; con tratamiento superficial para protegerlos de la oxidación y lograr mayor adherencia de la pintura. Tablero regulado TR-1 con un totalizador de 3x50A 10KA TIPO INDUSTRIAL, 12 breaker tipo riel de 1x20A10KA 2 reservas. Un barraie tetrapolar en cobre rojo	UN	1	\$500.000	\$500.000
12.10.	Breaker tipo RIEL de 1x20A 10KA	UN	10	\$40.113	\$401.134
12.11.	Breaker tipo RIEL de 3x30A 10KA	UN	2	\$50.000	\$100.000
12.12.	Entrega de planos finales de acuerdo a lo construido, memorias técnicas, especificaciones materiales, manuales y plan de mantenimiento preventivo.	GBL	1	\$750.000	\$750.000
	A.I.U.	%	15%		\$728.122
13	INSTALACIONES DE AIRE ACONDICIONADO Y VENTILACION MECANICA				\$49.077.343
13.1.	Unidad condensadora, localización exterior, condensación por aire. UC - 01; 54.000 BTU/h, Un circuito; R-410 A, 11.4 EER MIN, 5.8 kW; 208-3-60	UND	1	\$11.234.409	\$11.234.409
13.2.	UNIDAD MANEJADORA DE AIRE - 54.000 BTU/h; 3.800 CFM; 2.5" c. a. Circuito sencillo; 3.0 HP, 208-3-60; Filtros MERV 8 y MERV 11	UND	2	\$8.223.344	\$16.446.688
13.3.	Bombas de condensado tipo peristálticas; 6.25 l/h, H=12 m; 208-1 - 60. Incluye tubería PVC desde la unidad		1	\$1.265.578	\$1.265.578
13.4.	TUBERÍA DE COBRE TIPO K (OD) L.L. Ø 1/2"	ML.	1	\$103.325	\$103.325
13.5.	Filtro secador refrigerante cuerpo largo, Diam 1/2"; tipo rosca	UND.	1	\$84.539	\$84.539
13.6.	Valvulas de corte para refrigerante - Diam 1/2" - Rosca	UND.	4	\$140.898	\$563.590
13.7.	Indicador de liquido y humedad - 1/2" - Rosca	UND.	1	\$112.718	\$112.718
13.8.	Refrigerante R - 410 A	CIL	1	\$300.000	\$300.000
13.9.	Válvulas de carga para refrigerante	UND.	2	\$46.966	\$93.932
13.10.	Sistema de control directo digital - Para un sistema de Volumen variable Incluye todos los controladores, sensores, actuadores, cableado, software y otros : - Controlador principal - Controladores secundarios - Sensores de temperatura - Proporcionales - Sensores de presión diferencial - Variadores de velocidad para UMAS y ventiladores - Actuadores - Manómetros diferenciales de presión en los muros - Elementos para prender y apagar el sistema - Cableado de control - Tableros para elementos de control - Software - Programación completa - Computador para peración y control con impresora - Capacitación - Manuales de operación y mantenimiento - Garantía de funcionamiento con asistencia por dos años - Actualización del software durante cinco años	GLB	1	\$2.000.000	\$2.000.000
13.11.	CAJA DE VOLUMEN VARIABLE CON RESISTENCIAS ELECTRICAS PROPORCIONALES; 120 CFM; resistencias 0.3 Kw 120-1-60. Incluye ductos e instalación.	GLB	1	\$4.223.441	\$4.223.441
13.12.	Persianas de toma y descarga de aire 60"x36"	UND.	1	\$723.233	\$723.233
13.13.	Filtro absoluto HEPA-1000 CFM	UND.	1	\$1.345.266	\$1.345.266
13.14.	Panel de filtros absolutos, con pre filtro y Filtro absoluto HEPA-1620 CFM	UND.	1	\$2.213.448	\$2.213.448
13.15.	Tubería de PVC-S para distribución interna de 3", incluye accesorios como codos y T, de acuerdo con el diseño.	m	8	\$3.223	\$25.784
13.16.	Balaceo de los caudales de aire	GLB	1	\$800.000	\$800.000
13.17.	Montaje, puesta en marcha	GLB	1	\$240.000	\$240.000
13.18.	Ingeniería, documentación, planos	GLB	1	\$900.000	\$900.000
	A.I.U.	%	15%		\$6.401.393
14	SISTEMA DE GASES ESPECIALES (Aire comprimido, CO2, Oxígeno y Nitrógeno)				\$5.986.619
14.1.	Suministro e instalación tubing acero inoxidable 316L x 1/4", incluye accesorios, montaje y demás. Espesor 0.049".	m	10	\$171.315	\$1.713.151
14.2.	Nitrógeno para pruebas de la red	m3	20	\$6.346	\$126.919
14.3.	Suministro e instalación Unidad de regulación URPT "Harris743" o "Redline point of use L 40, HIQ 3286, design C" para nitrógeno, metano, argón, oxígeno, hidrógeno, helio, óxido nítrico, dióxido de carbono, aire, dióxido de azufre, monóxido de carbono y amoníaco/helio con tablero, accesorios de fijación y demás.	un	3	\$1.013.320	\$3.039.960
14.4.	Suministro e instalación de Soporte para un cilindro con accesorios	un	1	\$130.287	\$130.287
14.5.	Suministro e instalación de Soporte para dos cilindros con accesorios	un	1	\$195.439	\$195.439
	A.I.U.	%	15%		\$780.863
15	SISTEMA DE SEGURIDAD y CONTROL				\$7.191.210
15.1.	Panel Deteccion Incendio	und	1	\$3.234.467	\$3.234.467
15.2.	Estaciones manuales de alarma	und	1	\$649.777	\$649.777
15.3.	Sirena /Luz estroboscópica	und	1	\$460.259	\$460.259
15.4.	Modulo de Control	und	1	\$595.629	\$595.629
15.5.	Modulo de Monitoreo	und	1	\$595.629	\$595.629
15.6.	Boton de panico	und	1	\$216.594	\$216.594
15.7.	Detector de movimiento en techo	und	1	\$324.889	\$324.889
15.8.	Detector de movimiento en pared	und	1	\$175.982	\$175.982
	A.I.U.	%	15%		\$937.984
16	SISTEMA de CCTV				\$3.849.786

16.1.	Unidad de Grabacion digital 2CH	und	1	\$2.165.926	\$2.165.926
16.2.	UPS	und	1	\$609.166	\$609.166
16.3.	Tuberia EMT 1"	m	1	\$34.013	\$34.013
16.4.	Tuberia EMT 3/4"	m	1	\$27.211	\$27.211
16.5.	Tuberia EMT 2"	m	6	\$49.887	\$299.324
16.6.	Cableado	GLB	1	\$212.000	\$212.000
	A.I.U.	%	15%		\$502.146

TOTAL COSTO DIRECTO	\$82.981.316
AREA INTERVENIDA (M2)	7,2
COSTO DIRECTO /M2	\$11.525.183

TOTAL A.I.U.	\$12.027.032
---------------------	--------------

COSTO TOTAL	\$95.008.348
AREA INTERVENIDA	7,2
COSTO TOTAL /M2	\$13.195.604

Descripción del A.I.U.	15%
ADMINISTRACION	5%
IMPREVISTOS	1%
UTILIDAD	8%
IVA SOBRE UTILIDAD	19%

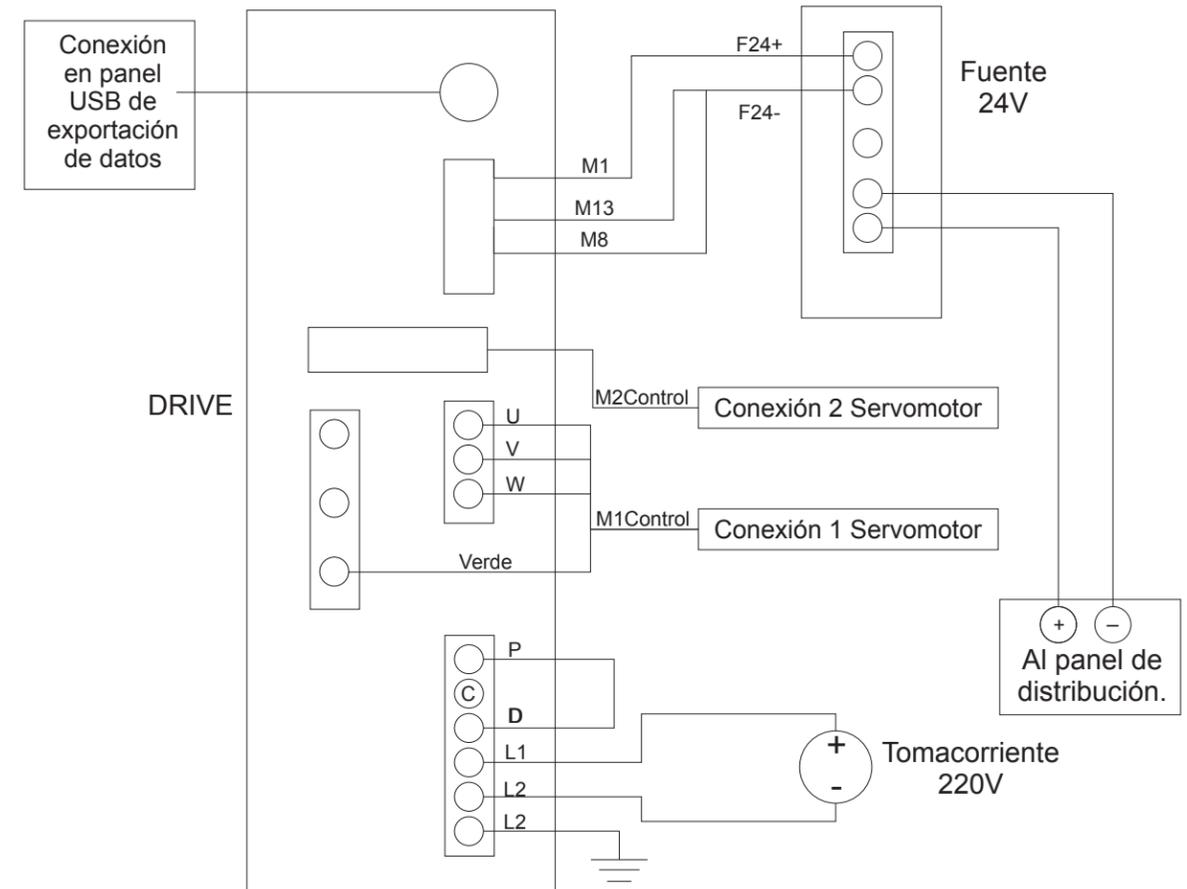
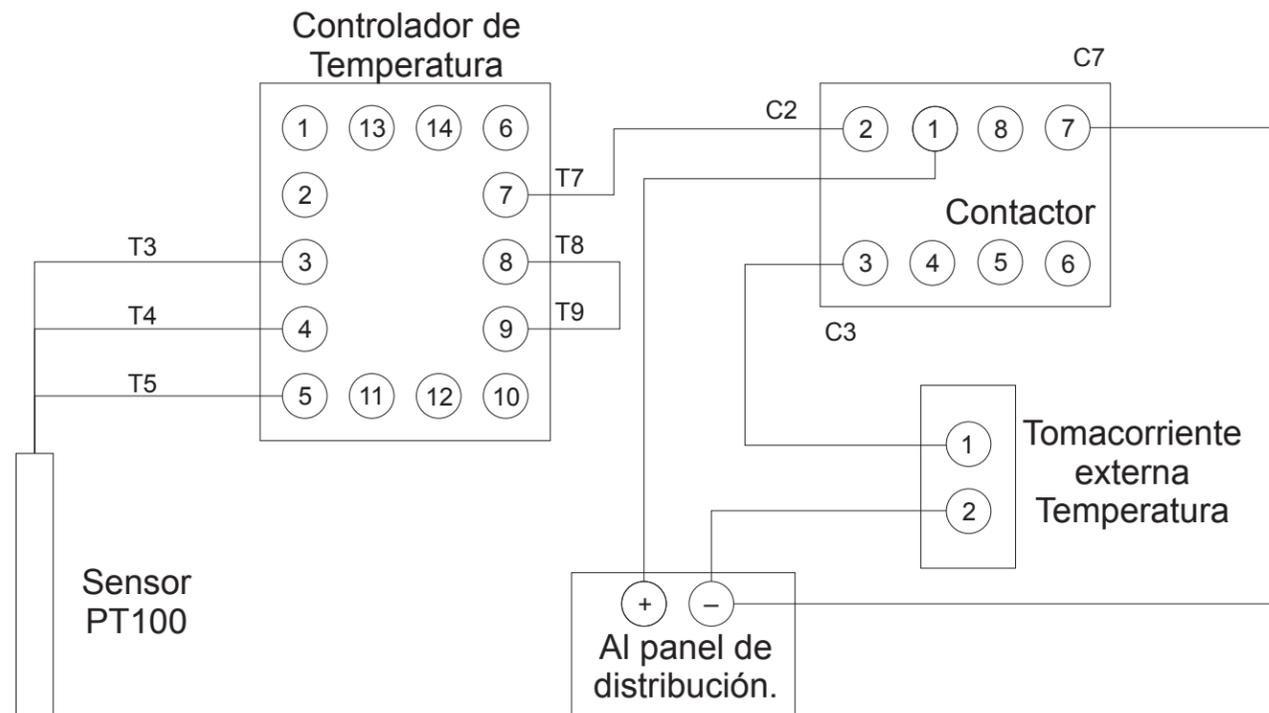
TRM 2014	\$ 2.000,00
Costo previsto año 2014	\$ 75.600.000
Costo previsto 2014/m2	\$ 10.500.000

TRM 2017	\$ 2.900
Costo al año 2017	\$ 109.620.000
Costo previsto 2017/m2	\$ 15.225.000

ANEXO 6. Presupuesto detallado y especificaciones de Equipos.

Sistema de ingreso con control de acceso	Exterior	Stanley	Basic PAC	Sistema de control de acceso al laboratorio mediante tarjeta magnética. 0-10 cm de distancia de lectura. AC 110-240V entrada y DC 12V/3A estable salida. Modos de desbloqueo: control remoto, pulsador, tarjeta de identificación, contraseña, tarjeta + contraseña. Modo de NC seguro: desbloqueo cuando se apaga, cerradas con llave cuando energía encendido. Tiempo de respuesta de 0-15s	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	110	N.D.	N.D.	No	No	No	No	\$ 2.526,00	\$ 7.325.400	http://www.stanley.com/la/solucion/estandar/control-de-acceso-con-tarjeta.html	http://accesshardware.com/wp-content/uploads/2017/02/Stanley-Locks-Price-List-6668T-V1-REV-LR.pdf
Vortex	Sobre mesón	Boeco	V1 plus	Vortex mixer V1 plus, AC Adaptador 110V. Tipo de movimiento: orbital, 4 mm Rango de velocidad (1/min): 300 - 3000 /min. Tiempo de aceleración: 3 s Capacidad de los tubos: 1,5-50ml.	70	80	140	0,9	12v	0,5	N.D.	No	No	No	No	\$ 268,97	\$ 780.000	http://www.boeco.com/arkiv5/how.php?ID=5	http://latiendamedica.co/aggiato-r-vortex.html
Micropipeta	Sobre mesón	Brand	Transferpette-S	Micropipeta analógica Pulsador de pipeteado grande en posición central y expulsor separado Esterilizable en autoclave a 121 °C (2 bar) Protección contra cambio del volumen Indicación de volumen de 4 dígitos	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0	0	0	No	No	No	No	\$ 303,00	\$ 878.700	http://www.brand.de/es/produkte/liquid-handling/pipettes-de-embudo/transferpette-s/	http://www.universalmedicalinc.com/brandtech-transferpette-s-single-channel-adjustable-volume-pipettes.html
Micropipeta multicanal (12)	Sobre mesón	Brand	Transferpette-12	Micropipeta de 12 canales, adaptable a 8. Volumen entre 10 y 200 µl por canal Unidad de pipeteo Esterilizable Indicación de volumen de 4 dígitos, siempre claramente visible. Corto recorrido del émbolo, de sólo 12,5 mm	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	110	N.D.	N.D.	No	No	No	No	\$ 1.080,00	\$ 3.132.000	http://catalog.brand.de/index.php?excel=3&ID_C_TREE_5R00/P=1904&tree=1904&ID_C_PRODUC_T=965&language=Spanish&start=1	http://www.sigmaldrich.com/catalog/product/view/id/703728/?lang=en&region=CO
Computador	Sobre mesón	HP	Pro Desk	Computador de escritorio. Procesador CORE i5 2.9 4GB. Disco Duro 1TB Memoria DDR3 8 GB Monitor 19" Quemador de DVD Tarjeta Wi-Fi Cable VGA para conexión de monitor de 5 metros de longitud Monitor de empotrar en pared Teclado y mouse inalámbrico La CPU debe contar con puertos FireWire	800	800	300	1	110	N.D.	N.D.	No	No	No	No	\$ 551,72	\$ 1.600.000	http://articulo.mercadolibre.com.co/MCO-448397120-computador-core-i5-de-7a-3d-gbc-com-monitor-20-rgb-_JM	http://articulo.mercadolibre.com.co/MCO-448397120-computador-core-i5-de-7a-3d-gbc-com-monitor-20-rgb-_JM

**ANEXO 7. Mapas de circuitos
generados para conectividad de
controladores.**



SISTEMA DE CONTROL BIORREACTOR 3L

ESC: No Registrada

CONTIENE: CABLEADO PARA CIRCUITO DE CONTROL DE TEMPERATURA SISTEMA DE CONTROL BIORREACTOR 3L	OBSERVACIONES: _____ _____ _____
---	--

FIRMA:	ESC: N.R.	FECHA: Enero - 2015	CR-01	01
Laboratorio BSL2. Cuarto de cultivo de celulas animales. Universidad Nacional de Colombia. Edf. 412			DE: 04	

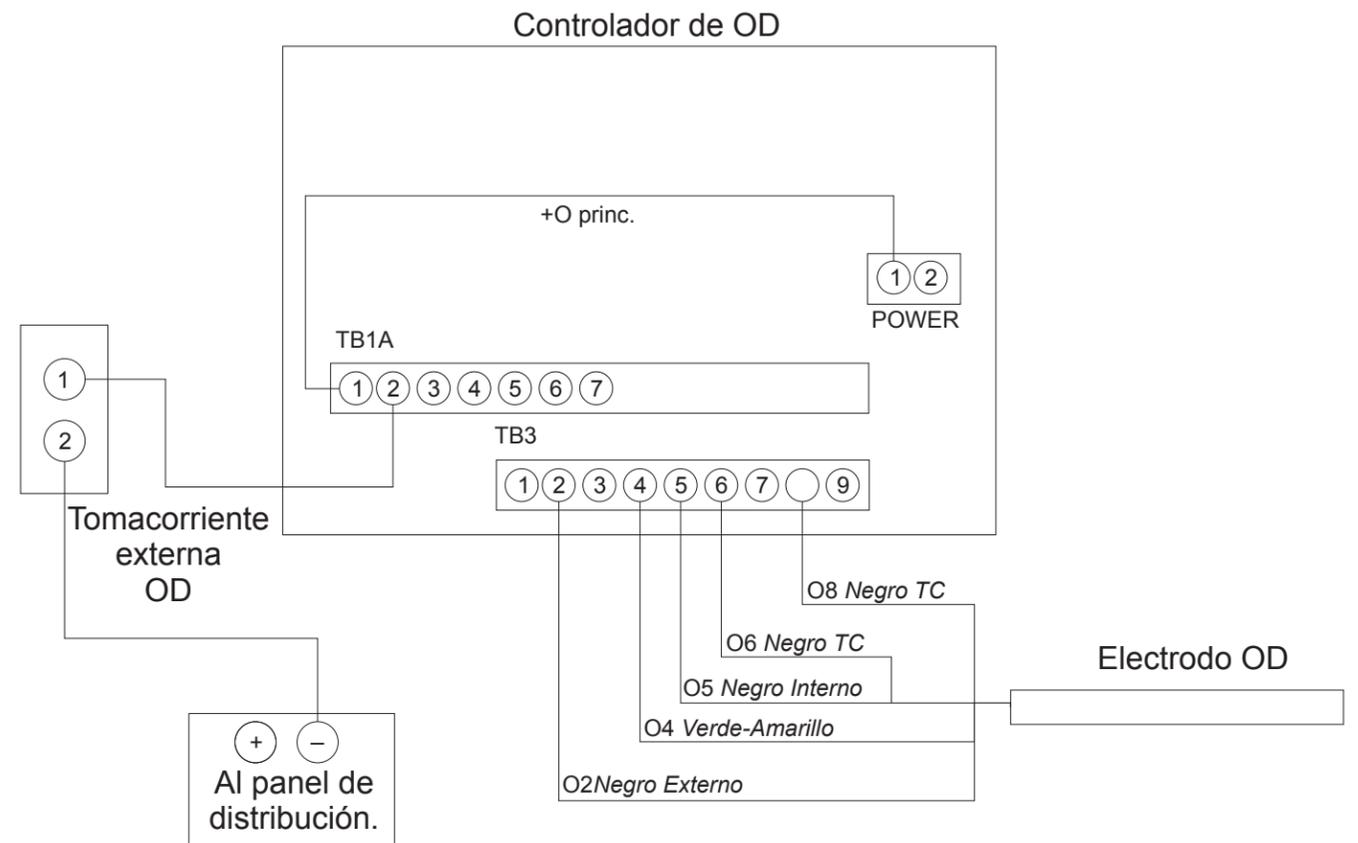
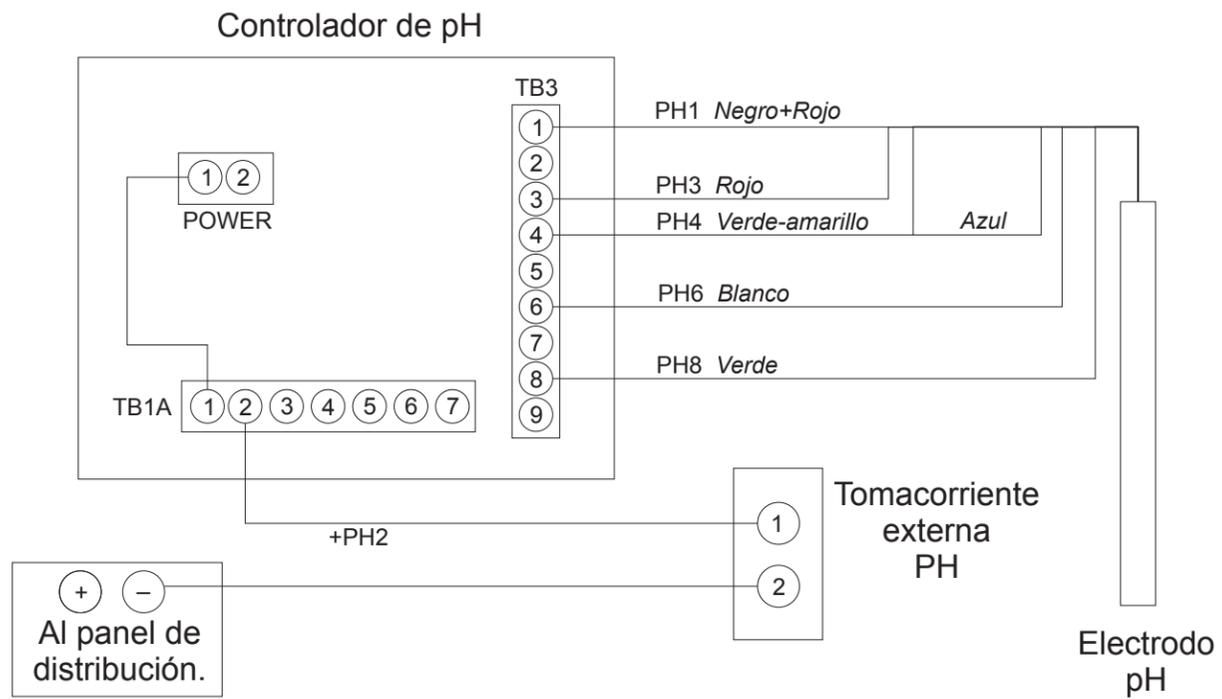


PLANTA GENERAL: LABORATORIO BSL2

ESC: No Registrada

CONTIENE: CABLEADO PARA CIRCUITO DE CONTROL DEL SISTEMA DE AGITACIÓN SISTEMA DE CONTROL BIORREACTOR 3L	OBSERVACIONES: _____ _____ _____
--	--

FIRMA:	ESC: N.R.	FECHA: Enero - 2015	CR-02	02
Laboratorio BSL2. Cuarto de cultivo de celulas animales. Universidad Nacional de Colombia. Edf. 412			DE: 04	



SISTEMA DE CONTROL BIORREACTOR 3L

ESC: No Registrada

CONTIENE: CABLEADO PARA CIRCUITO DE CONTROL DE PH SISTEMA DE CONTROL BIORREACTOR 3L	OBSERVACIONES: _____ _____ _____
--	--

FIRMA:	ESC: N.R.	FECHA: Enero - 2015	CR-03	03
Laboratorio BSL2. Cuarto de cultivo de celulas animales. Universidad Nacional de Colombia. Edf. 412			DE:	04



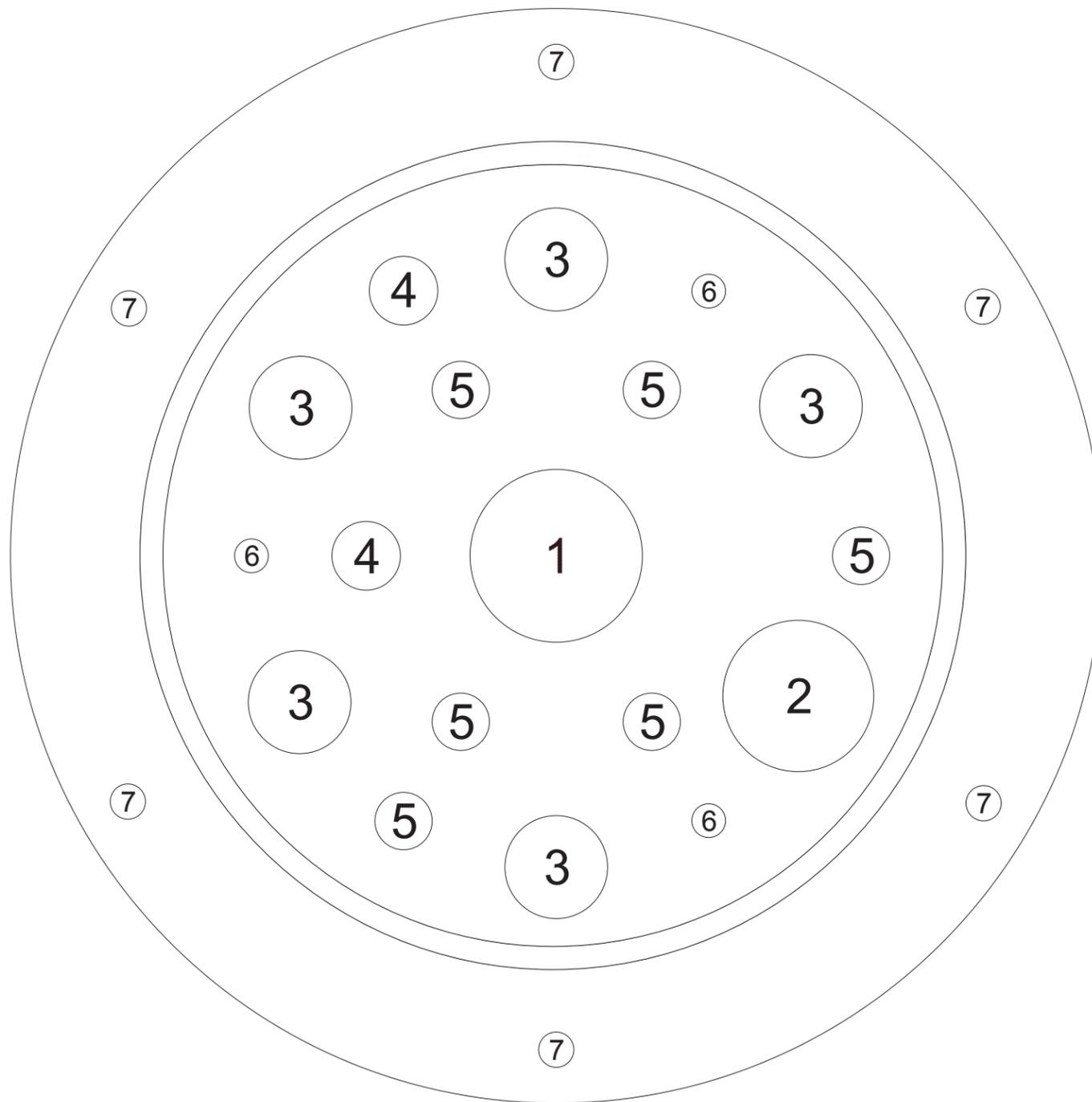
PLANTA GENERAL: LABORATORIO BSL2

ESC: No Registrada

CONTIENE: CABLEADO PARA CIRCUITO DE CONTROL DE OXIGENO DISUELTO SISTEMA DE CONTROL BIORREACTOR 3L	OBSERVACIONES: _____ _____ _____
---	--

FIRMA:	ESC: N.R.	FECHA: Enero - 2015	CR-04	04
Laboratorio BSL2. Cuarto de cultivo de celulas animales. Universidad Nacional de Colombia. Edf. 412			DE:	04

ANEXO 8. Planos de tapas para biorreactores de 3L y de 1,5 - 2L.



No.	Ö (cms)	Ö (pulg)	Term.*	Elemento del reactor
1	29,845	1,175	R	Motor
2	26,137	1,029	R	Salida de gases
3	17,78	0,700	R	Electrodo 1
3			R	Electrodo 2
3			R	Intercambiador de Calor
3			R	Entrada triple
3			R	Tapón
4	11,862	0,467	R	Tapón
4			R	Tapón
5	9,906	0,390	T	Sistema de carga y descarga
5			T	Entrada liq. adicional
5			T	Entrada liq. adicional
5			T	Entrada de gas
5			R	Termocupla
5			R	Tapón
6	5,842	0,230	T	Tomamuestras
6			R	Tapón
6			R	Tapón
7	6,096	0,240	R	Soporte 1
7				Soporte 2
7				Soporte 3
7				Soporte 4
7				Soporte 5
7				Soporte 6

* R= Terminación roscada, T= Terminación con sello

BIORREACTOR 3L

ESC: No Registrada



CONTIENE:
VISTA SUPERIOR TAPA BIOREACTOR DE 3L
BIORREACTOR 3L

OBSERVACIONES:

FIRMA:

ESC:
N.R

FECHA:
Enero - 2015

Laboratorio BSL2. Cuarto de cultivo de celulas animales.
Universidad Nacional de Colombia. Edf. 412

CODIGO:

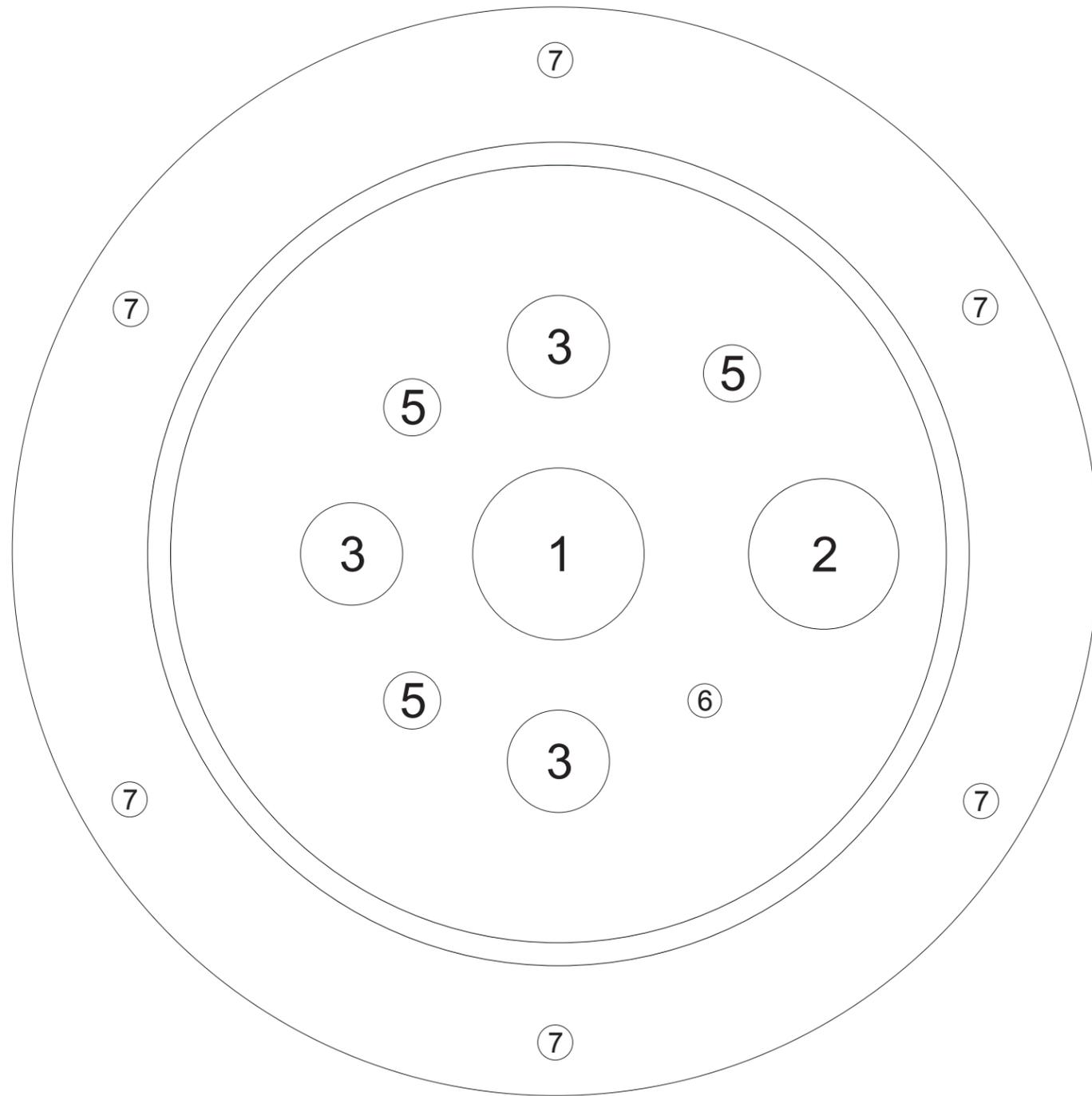
BR-01

PLANO:

01

DE:

02



INFORMACIÓN DE CORTES				
No.	Ö (cms)	Ö (pulg)	Term.*	Elemento del reactor
1	29,845	1,175	R	Motor
2	26,137	1,029	R	Salida de gases
3	17,78	0,700	R	Electrodo 1
3			R	Electrodo 2
3			R	Entrada triple
5	9,906	0,390	T	Sistema de carga y descarga
5			T	Entrada de gas
5			R	Termocupla
6	5,842	0,230	T	Tomamuestras
7	6,096	0,240	R	Soporte 1
7				Soporte 2
7				Soporte 3
7				Soporte 4
7				Soporte 5
7				Soporte 6

* R= Terminación roscada, T= Terminación con sello

BIOREACTOR 1.5 - 2 L
 ESC: No Registrada



CONTIENE:
 VISTA SUPERIOR TAPA BIOREACTOR PEQUEÑO
 BIOREACTOR 1.5 - 2 L

OBSERVACIONES:

FIRMA:

ESC:
 N.R.
 Laboratorio BSL2. Cuarto de cultivo de celulas animales.
 Universidad Nacional de Colombia. Edf. 412

FECHA:
 Enero - 2015

CODIGO: BR-02
PLANO: 02
DE: 02

ANEXO 9. Protocolo de manejo de la línea celular Sp2/0-Ag14 en el Laboratorio de Cultivo de Células Animales del Laboratorio de Ingeniería Química (LCCA-LIQ). Mantenimiento, conteo y viabilidad.

Resumen

Las células huésped empleadas por el LCCA-LIQ para la producción de rotavirus son las células SP2/0-Ag14. El presente protocolo presenta las técnicas estándar de cultivo, conteo y medición de viabilidad empleadas durante el cultivo de las células Sp2/0-Ag14 en escala de laboratorio, es decir, en volúmenes menores a 30 mL. Las técnicas presentadas son manuales; sin embargo, se trabaja actualmente en el desarrollo de técnicas equivalentes que hacen uso de equipos con automatización avanzada y herramientas computacionales para captura y análisis de la información.

Palabras clave: SP2/0-Ag14, mieloma murino, cultivo celular, conteo celular, viabilidad, hematocitómetro.

Abstract

SP2/0-Ag14 are the host cells used by LCCA-LIQ research group for rotavirus production. This protocol presents the standard methodology used for cell culture, cell counting and cell viability determination at lab scale (less than 30mL) for Sp2/0-Ag14 cells. These techniques are manual; however, equivalent techniques involving advanced automation and computational tools for data acquisition and analysis will be added in future updates.

Keywords: *Sp2/0-Ag14, murine myeloma, cell culture, cell counting, cell viability, hemocytometer.*

Introducción

La línea celular Sp2/0-Ag14, con morfología linfoblástica, se caracteriza porque no secreta inmunoglobulinas, es resistente a 8-azaguanina a concentraciones de 20mg/L y no sobrevive en medios que contienen HAT (hipoxantina-aminopterin-timidina); la línea celular fue formada por fusión de células B del bazo de un ratón albino BALB/c (*Mus musculus*) inmunizado con glóbulos rojos de oveja con células P3X63Ag8 de mieloma de ratón. Su nivel de bioseguridad es 1, crecen en suspensión y son utilizadas comúnmente para fusionarlas con células B en la producción de hibridomas (Guerrero, 2013); en dicho sentido, funcionalmente es una línea celular de mieloma y a menudo se refiere como tal en la literatura.

En el caso del LBMV-UN, la línea celular Sp2/0-Ag14 crece en suspensión y fue adquirida de la colección de la ATCC y allí se cultiva en placas de Petri o en frascos T de 25 y 75 cm² (Corning) en Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM – F12) suplementado con 10% (v/v) de suero fetal bovino (SFB) en incubadora de CO₂ al 5% y 37°C. Se mantiene realizando cambio de medio o pasaje cada 2 o 3 días cuando el medio de cultivo toma un color amarillo debido a la acidificación de mismo (sin ningún otro criterio como concentración o viabilidad). El banco de células principal es aproximadamente el 5to pasaje del vial inicialmente obtenido de la ATCC y se conserva en crioviales de 1mL en N₂ líquido, para este proceso el medio de cultivo con concentración mayor a 2 × 10⁶ cel/mL se mezcla en una relación 1:1 con DMSO.

Insumos

Equipos

- Microscopio Invertido (objetivo de 10X) (JNOEC XD-202)
- Cabina de Flujo Laminar (EBSCO AVC-4D2)
- Incubadora de CO₂ (LABTECH LCO-266 AIP)
- Centrífuga de rotor de tubo basculante (AMPLE SCIENTIFIC CHAMPION S-50D)
- Bomba de vacío o línea de vacío
- Nevera 4°C (LG GC-132S)

- Pipeteador eléctrico (PIPET4U OASIS 8-300-00-9)
- Set de micropipetas 2-20, 20-200, 100 – 1000, 0,5 – 5 L (PIPET4U)

Materiales

- Tubos Falcon de 15 ó 50 mL estériles
- Pipetas de vidrio graduadas de 1, 5 y 10 mL estériles
- Hematocitómetro (Cámara de Neubauer) y placa de cubierta
- Micropipeta de 10-100 μ L
- Tubos Eppendorf® de 1 mL
- Frascos Schott® de 50 mL, 100 mL, 500 mL y 2L
- Membranas de filtración de 0,22 μ m (Millipore, Ref. GSWP04700 MF)
- Sistema de filtración al vacío esterilizable (Nalgene, Ref.300-4000)
- Parafilm®
- Frascos T 25 cm² y 75 cm² de tapa con filtro de 0,22 μ m (SPL LIFE SCIENCE, Ref. 70025, 70075)

Reactivos

- Medio en polvo DMEM/F12 con 2.50 mM L-Glutamina y 15 mM buffer HEPES (Hyclone Thermo Scientific, Ref. SH30004.04)
- Suero Fetal Bovino – SFB (USDA Research Grade Origin Fetal bovine Serum- Applied Biologic Materials ABM. Ref: TM999-100)
- Solución de Azul de tripano
- Solución Phosphate Buffer Saline – PBS
- Solución Hidróxido de sodio grado biológico 1N
- Bicarbonato de sodio grado biológico (SIGMA-ALDRICH. Ref. S5761)
- Agua destilada

Metodología

Preparación de medio de cultivo:

El medio base para el cultivo de la línea celular Sp2/0-Ag14 es medio DMEM suplementado con 10% de SFB (ATCC, 2014). Para el caso del LCCA-LIQ, se preparan lotes de 2 L de medio de cultivo Hyclone DMEM-F12 cada vez, de acuerdo con el siguiente procedimiento:

1. Adicionar 1 L de agua destilada en un frasco Schott de 2 L

2. Pesar 31,2 g de medio Hyclone DMEM-F12
3. Pesar separadamente 2,4 g de bicarbonato de sodio de acuerdo con instrucciones del proveedor.
4. Agregar lentamente el medio en polvo en el frasco Schott agitando externamente de forma manual moviendo la botella en forma circular.
5. Una vez disuelto el medio de cultivo se agrega 1L de agua destilada adicional mientras se agita. El medio disuelto tiene una coloración amarilla.
6. Agregar el bicarbonato de sodio a los 2 L de medio de cultivo y agitar hasta obtener un color naranja oscuro homogéneo.
7. El pH del medio con bicarbonato es alrededor de 6,8 ó 7; adicionar alícuotas de 100 μ L de la solución de hidróxido de sodio hasta lograr un pH entre 7,2 y 7,3.
8. Se autoclava a 121°C por 40 min el siguiente material: 3 membranas de filtración de 0,22 μ m, 1 frasco Schott de 2L, el sistema de filtración al vacío, incluyendo una membrana montada.
9. En la cabina de flujo laminar se conecta la línea de vacío al sistema de esterilización y se filtra el medio en lotes de 250mL; una vez filtrado, es dispuesto en la botella de 2L estéril.
10. Si se desea se puede repetir el procedimiento y filtrar nuevamente.
11. En caso de que el medio no se use de forma inmediata, debe almacenarse en alícuotas de volumen variable (Falcon de 15 o 50mL, Schott de 100mL, 500mL, 1L o 2L) de acuerdo al promedio de uso del laboratorio en el momento, de forma tal que dependiendo de lo que se requiera sólo se retire de la nevera el medio que será empleado en cada ocasión y se minimicen los ciclos de enfriamiento y calentamiento del mismo para evitar la degradación de sus componentes por cambios de temperatura.
12. El medio estéril alícuotado se conserva en la nevera a 4°C, no se considera que los componentes del medio sean sensibles a la luz, por lo cual no hay requisitos en cuanto a este aspecto.

NOTA: Para minimizar las pérdidas de SFB en caso de contaminación, no se suplementa el medio al prepararlo sino directamente en las cajas o reactores donde se realiza el cultivo.

Mantenimiento de línea celular:

Las células Sp2/0-Ag14 se mantienen con la adición de medio fresco o el reemplazo total del medio (ATCC, 2014); en este caso, los procedimientos que se llevan a cabo para el mantenimiento activo de la cepa se denominan cambio de medio y pasaje respectivamente, procesos estándar para el cultivo de células animales. La cepa se conserva activa para la realización de experimentos en cultivos estáticos en frascos T Corning de 25 cm² o 75 cm² al interior de una incubadora a 37°C y con atmósfera enriquecida con 5% de CO₂. Independientemente de la concentración con la que se haya inoculado cada cultivo o el avance del mismo, se debe hacer un chequeo periódico en el microscopio de su estado general, principalmente en busca de microorganismos foráneos contaminantes. En caso de observar cualquier anomalía en el color de medio o la presencia de bacterias y/u hongos se retira el cultivo de la incubadora, se le agrega hipoclorito de sodio al 4% y se procede a evaluar cuál fue la posible fuente de contaminación para eliminarla.

Todos los cultivos, independientemente de su escala, deben estar marcados con la siguiente información: Línea celular, pasaje, proporción de subcultivo² (opcional), fecha de siembra, concentración viable a la fecha e iniciales del último manipulador; del mismo modo se debe llevar un registro escrito (en el cuaderno de laboratorio) de los detalles de cada procedimiento de pasaje o cambio de medio en donde se especifica la información presentada en las Tabla 0-1 y Tabla 0-2 de acuerdo sea el caso.

Pasaje:

Se denomina como pasaje el número de sub-cultivos a los que se ha sometido una línea celular determinada; este número debe ser registrado y debe mantenerse en el valor mínimo posible con el fin de prevenir modificaciones genéticas de la cepa u otras variaciones (Abcam, 2014). Se considera un sub-cultivo o pasaje cuando se toman parte de las células de un cultivo específico y se siembran en otro cultivo con medio fresco, razón por la cual una vez avanzado este cultivo nuevo las células resultantes son en su mayoría de nuevas generaciones. Teniendo en cuenta que estas células crecen en suspensión, el procedimiento que se realiza en el LCCA-LIQ consta de los siguientes pasos:

² Proporción de subcultivo o *split ratio*: presenta cuánto volumen del cultivo anterior se empleó en el cultivo actual como inóculo; si se mantienen los cultivos en fase exponencial de crecimiento, es un indicador de cuánto tiempo de cultivo se requiere para obtener determinada concentración.

1. Retirar de la nevera los tubos Falcon o frascos Schott de medio de cultivo estéril y SFB requeridos y dejar calentar a temperatura ambiente.
2. Calentar agua en un baño a 37°C
3. Introducir en baño de María el medio de cultivo para precalentarlo en agua a 37°C.
4. Sanitizar con alcohol los envases de los reactivos y todo el material requerido y disponerlo en la cabina de flujo laminar.
5. Revisar el cultivo de partida; en caso de que se observe de coloración normal (entre amarillo-naranja y rosado) y sin contaminación bacteriana proceder. En caso de que el cultivo esté muy amarillo se realiza el procedimiento de cambio de medio antes de continuar (Ver acápite: Cambio de medio).
6. Con la ayuda de una pipeta estéril de antes de tomar la muestra se hace una homogenización de todo el medio, pues las células de todas maneras tienden a unirse, aunque sea ligeramente, al fondo del frasco T; para ello, se aspira y se vuelve a introducir el medio en sucesiones rápidas con ayuda del pipeteador; esto permitiría homogenizar el medio y la concentración celular.
7. Tomar una alícuota de 0,2 ó 0,3 mL del cultivo y disponerlo en un Eppendorf de 1mL de forma que se pueda extraer la muestra de la cabina de flujo laminar y se realice el conteo fuera de la cabina no necesariamente de forma estéril.
8. Con esta muestra realizar el conteo de concentración celular y viabilidad mediante el protocolo de Conteo celular y determinación de viabilidad.
9. Fijar la concentración celular deseada como inicio del nuevo cultivo (entre 5×10^4 y 1×10^5 cel/mL) y calcular cuánto del cultivo disponible se requiere como inóculo.
10. Con pipetas estériles y el pipeteador eléctrico extraer la cantidad de medio de cultivo con células que se requiere para el nuevo cultivo y sembrarlo en el nuevo recipiente de cultivo (caja, frasco o reactor).
11. Cerrar el cultivo inicial.
12. Con pipetas de vidrio completar el volumen requerido con medio estéril, teniendo en cuenta que se debe suplementar con 10% del volumen de SFB.
13. Tomar una muestra del nuevo cultivo para determinar su concentración final y registrar esta información.
14. Cerrar el nuevo cultivo y observar en el microscopio la presencia de células en el medio.

15. Sellar con Parafilm todos los frascos que se deben conservar y almacenarlos según corresponda.
16. Registrar la información del procedimiento en el cuaderno de laboratorio de acuerdo con las indicaciones de la Tabla 0-1.

El volumen restante del cultivo inicial puede ser desechado o empleado como origen para nuevos cultivos. El material de laboratorio empleado en este procedimiento debe disponerse en un recipiente de material sucio y debe tratarse de acuerdo con el protocolo de manejo de residuos del Laboratorio. Los efluentes líquidos de este proceso, como lo son el medio metabolizado y medio de cultivo que se decida desechar debe ser dispuesto de forma que cumpla con las especificaciones del protocolo de disposición de residuos.

Tabla 0-1. Formato de registro de protocolo de pasaje en el LCCA-UN.

<u>FORMATO INFORMACIÓN PASAJE</u>	
Manipulador	
Fecha	
Línea celular	
No. Id. Caja Inóculo	
Pasaje	
Volumen Total	mL
Concentración inicial	cel/mL
Viabilidad	%
Concentracion viable	Cel v/mL
No. Id. Nuevo Cultivo	
Volumen de inculo	mL
Volumen de medio adicional	mL
Volumen de SFB adicional	mL
Concentración final	cel/mL
Viabilidad	%
Concentración Viable	cel/mL
Pasaje Final	

En caso de emplear el volumen restante como inóculo o conservarlo diligenciar el siguiente cuadro

No. Id. Nuevo Cultivo	
Volumen de inóculo	mL
Volumen de medio adicional	mL
Volumen de SFB adicional	mL
Concentración final	cel/mL
Viabilidad	%
Concentración Viable	cel/mL
Pasaje Final	

Cambio de medio:

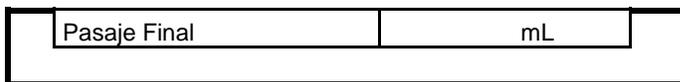
Se considera que el procedimiento de mantenimiento es un cambio de medio siempre y cuando se conserven, en la medida de lo posible, todas las células que se encuentran en un cultivo, se reemplace el medio y se siembren todas nuevamente con medio nuevo. Este proceso garantiza que se conserva en ese cultivo el mismo pasaje. Para células en suspensión el procedimiento implica las siguientes etapas:

1. Retirar de la nevera los tubos Falcon o frascos Schott de medio de cultivo estéril y SFB requeridos y dejar calentar de forma natural a temperatura ambiente.
2. Calentar agua en un baño a 37°C
3. Introducir en baño de María el medio de cultivo para precalentarlo lentamente en el agua a 37°C.
4. Disponer de los reactivos y todo el material requerido de forma limpia en la cabina de flujo laminar
5. Revisar el cultivo de partida, en caso de que se observe normal proceder.
6. Con la ayuda de una pipeta estéril de 1mL tomar una alícuota de 0,2 o 0,3 mL del cultivo y disponerlo en un Eppendorf de 1mL.
7. Con esta muestra realizar el conteo de concentración celular y viabilidad mediante el protocolo presentado adelante
8. Con pipetas de vidrio estériles extraer la totalidad del medio del cultivo, se pipetea suavemente para soltar de las paredes las células que pueden haberse adherido y se dispone el volumen total del cultivo en tubos Falcon (15 o 50 mL).

9. Cerrar los tubos Falcon y centrifugar a 100 x g por 5 minutos.
10. De los tubos centrifugados con pipetas de vidrio retirar lentamente el medio sobrenadante con precaución de no generar la disrupción del pellet de células ubicado en el fondo del tubo.
11. Disponer del medio metabolizado en un falcon o frasco Schott.
12. Resuspender el pellet de células con medio fresco pipeteando lentamente al interior del tubo.
13. Disponer el medio fresco con las células suspendidas en el nuevo cultivo
14. Suplementar con SFB
15. Tomar una muestra del nuevo cultivo para verificar su concentración final.
16. Cerrar el nuevo cultivo y verificar en el microscopio la presencia de células y su distribución
17. Sellar con parafilm todos los frascos que se deben conservar y almacenarlos según corresponda.
18. Registrar la información del procedimiento en el cuaderno de laboratorio de acuerdo con las indicaciones de la Tabla 0-2. Formato de registro de proceso de cambio de medio

Tabla 0-2. Formato de registro de proceso de cambio de medio

FORMATO INFORMACIÓN CAMBIO DE MEDIO	
Manipulador	
Fecha	
Línea celular	
No. Id. Caja Inóculo	
Pasaje	
Volumen Total	mL
Concentración inicial	cel/mL
Viabilidad	%
Concentración viable	Cel v/mL
No. Id. Cultivo manipulado	
Volumen centrifugado	mL
Velocidad de centrifugación	x g
Tiempo de centrifugación	min.
Volumen de resuspensión	mL
Volumen final en cultivo	mL
Concentración final	cel/mL
Viabilidad	%
Concentración viable	



El material de laboratorio empleado en este procedimiento debe disponerse en un recipiente de material sucio y debe tratarse de acuerdo con el protocolo de manejo de residuos del Laboratorio; los efluentes líquidos de este proceso, como lo son el medio metabolizado y medio de cultivo que se decida desechar debe ser dispuesto de forma que cumpla con las especificaciones del protocolo de disposición de residuos presentado en el mismo protocolo.

Conteo celular y determinación de viabilidad

Para realizar el conteo celular y la determinación de viabilidad se requieren alrededor de 100 μ L de muestra; sin embargo, por precaución se toman muestras de 0,2 a 0,3 mL para realizar estas determinaciones. Las muestras para concentración celular se procesan sin ningún tratamiento particular; en caso de tener concentraciones celulares por encima de 1×10^6 células por mL se recomienda diluir antes de contar la muestra con medio de cultivo fresco. En el caso de la determinación de viabilidad celular cada muestra se mezcla en relación 1:1 (v/v) con una solución de azul de tripano 0,4% (p/v) en PBS

El conteo manual de células se realiza en un equipo denominado hematocitómetro cuyo esquema se presenta en la Figura 12, este consiste en una lámina de vidrio relativamente gruesa (del orden de 4 a 5 mm) que tiene dos cámaras de conteo labradas en su superficie. Fue inventada por Louis-Charles Malassez, pero usualmente se conoce como cámara de Neubauer debido a que éste último realizó mejoras importantes a la misma. Cada cámara de conteo tiene una superficie lisa con una cuadrícula de 3 x 3 mm hecha con láser correspondiente a 9 cuadrados de conteo. A los lados de las cámaras hay unas áreas levantadas diseñadas para sostener una placa de vidrio (similar a un cubreobjetos pero mucho más gruesa) exactamente 0,1 mm con respecto a la superficie de la cámara de conteo. Entre las áreas de sostén y las cámaras usualmente hay unas cavidades que sirven para que fluya el exceso de líquido.

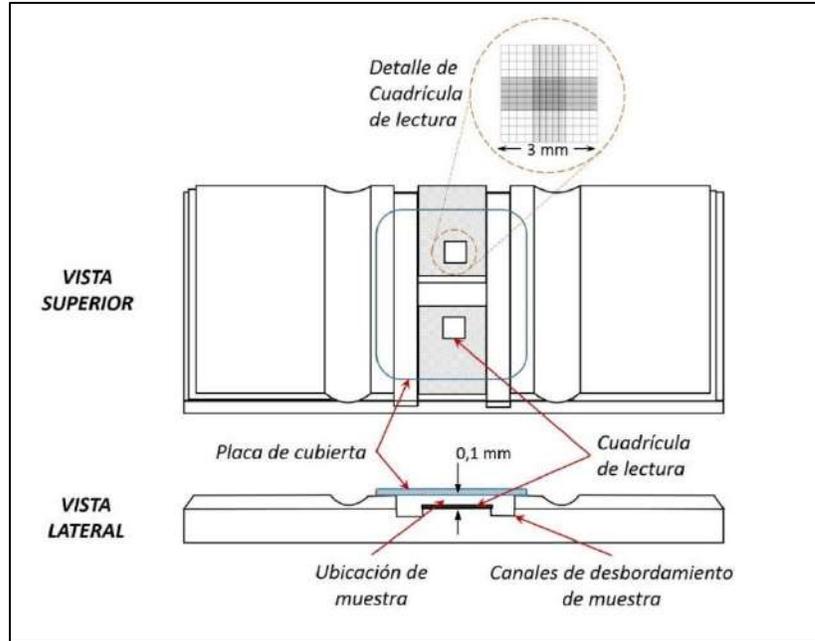


Figura 12. Diagrama de vista frontal y lateral de un hematocitómetro.

No todas las divisiones hechas en los cuadrados del hematocitómetro son iguales, la Figura 13 presenta las dimensiones de la rejilla, y cada una de ellas puede ser empleada para el conteo de determinados microorganismos, en el caso de las células animales, específicamente de la línea celular Sp2-Ag14 se realiza el conteo en las zonas señaladas como A, B, C y D en la Figura 13 y cuyo volumen es de 1×10^4 cel/mL.

El procedimiento para la realización del conteo en ambos casos se ha adaptado del presentado por Invitrogen, 2012 y se describe a continuación:

1. Lavar el hematocitómetro con etanol al 70% y dejar secar
2. Lavar y dejar secar la placa de vidrio de cubierta del hematocitómetro
3. Tomar la muestra de células que se desea contar y llevarla a temperatura ambiente
4. Ubicar la placa de cubierta sobre el hematocitómetro
5. Aplicar 15 μ L de la suspensión de células sobre el hematocitómetro cerca a la placa como se muestra en la Figura 14 para que se llene por capilaridad; esto requiere cierto grado de destreza; por ello, algunas cámaras tienen unas indentaciones que mejoran la carga de la cámara.
6. Permitir que por capilaridad la muestra se distribuya en la cámara de conteo.

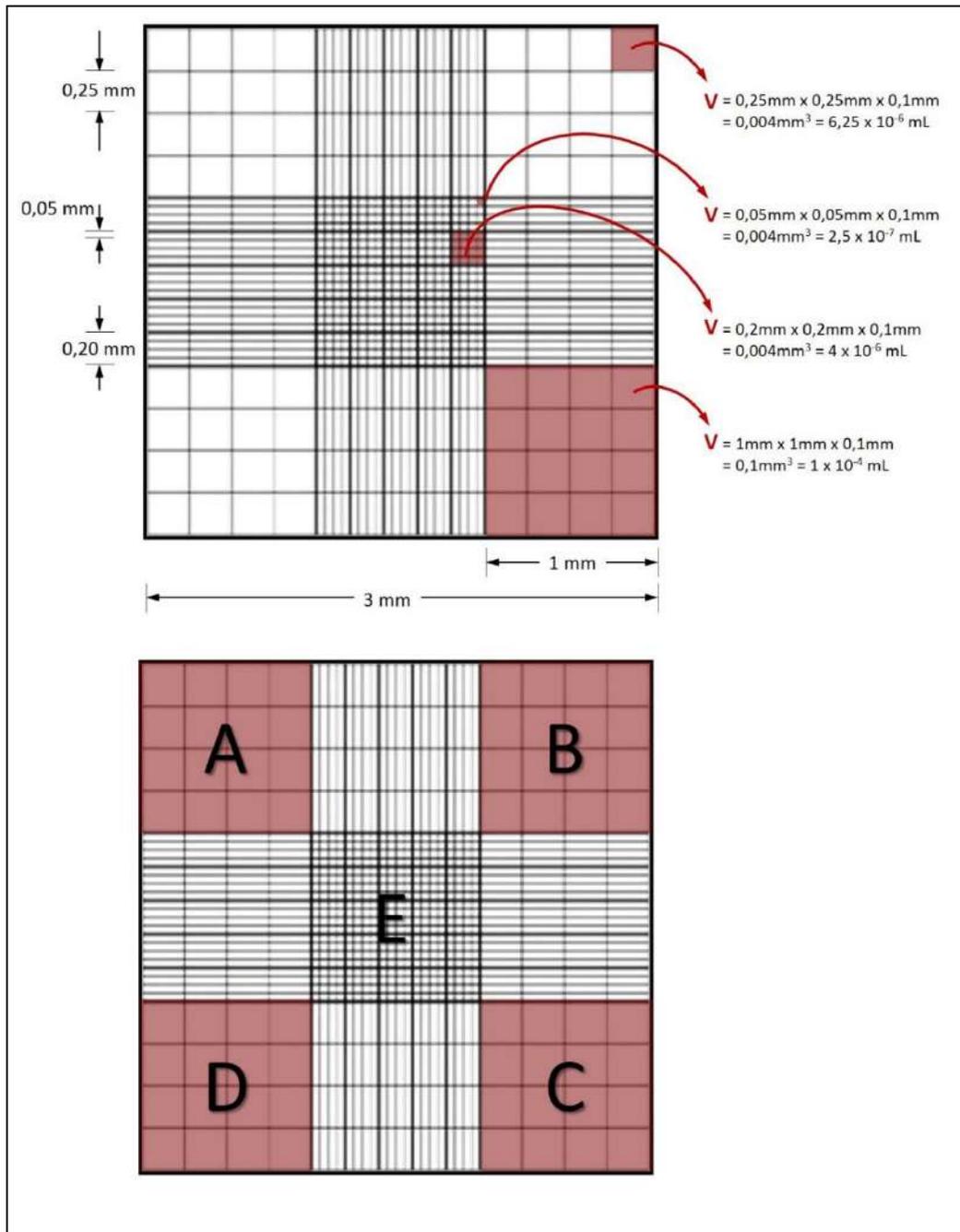


Figura 13. Dimensiones de la cámara y áreas de conteo

- Dejar que las células se ubiquen por gravedad en el fondo de la cámara (1 min aproximadamente)

8. Empleando el objetivo de 10X del microscopio, ubicar la cuadrícula del hematocitómetro sobre el campo de visión. Para lograr esto, se recomienda empezar con el objetivo 4X, enfocar y luego cambiar a 10X.
9. Realizar el conteo de acuerdo con la metodología presentada en el acápite: Metodología de Conteo
10. Registrar la información recolectada en el cuaderno de laboratorio.
11. Realizar de forma inmediata el lavado de la cámara con abundante agua y secar.

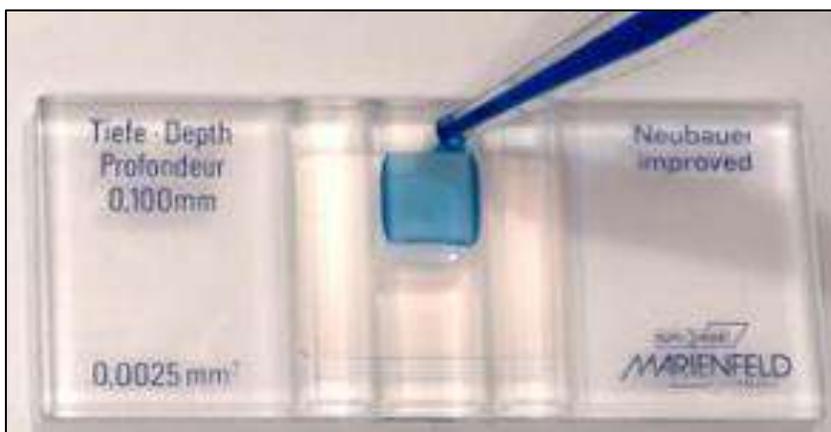


Figura 14. Disposición de muestra en hematocitómetro. Adaptada de: Braukaiser.com, 2014

Metodología de Conteo:

Al observar al microscopio las muestras para conteo, las células se observan claras y se contarán únicamente aquellas que se vean bien enfocadas una vez las cuadrículas de la cámara se ven nítidas. En el caso de determinación de viabilidad las células viables mantienen integridad de su membrana son impermeables al azul de tripano, por tanto las células viables se observan claras y las células “muertas o defectuosas” se observan teñidas de azul como se puede observar en la Figura 15.

Se cuentan el número de células vivas (v) y “muertas” o inviables (i) localizadas en cada una de las áreas de conteo, el número de células totales (T) se cuantifica como el número de células vivas, más el número de células muertas $T = (v + i)$; en el caso de las células ubicadas sobre alguno de los límites de las áreas de conteo se definen 2 segmentos que serán excluidos y 2 incluidos, en general se emplea por convención que se cuentan las células ubicadas sobre los segmentos lateral derecho e inferior y se omiten aquellas ubicadas sobre el segmento superior y el lateral izquierdo. La Figura 16 presenta un

ejemplo de esta metodología para una sola de las áreas incluyendo una demarcación del orden recomendado de conteo.

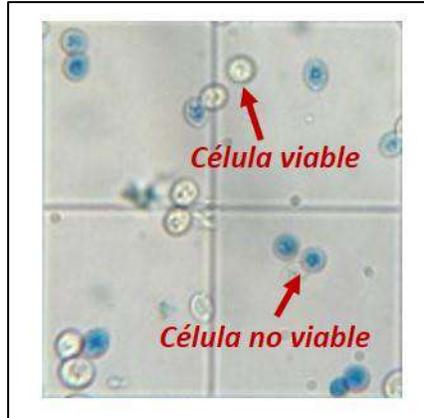


Figura 15. Fotografía al microscopio de ensayo de viabilidad. Adaptada de Braukaiser, 2014.

Una vez realizado el conteo en las 4 áreas, se promedian los valores de las 4 obteniendo entonces un número de células viables promedio (\bar{v}), un número de células inviables promedio (\bar{i}) y un número de células Totales promedio (\bar{T}). Como se conoce de antemano que cada área de conteo tiene un volumen de 1×10^4 mL la concentración celular se determina de acuerdo con la Ecuación (5).

$$\text{Concentración celular } [X_0] = \bar{T} \times 10^4 \frac{\text{cel}}{\text{mL}} \quad (5)$$

La concentración celular determinada se debe corregir de acuerdo con la dilución que genera la adición de medio o del azul tripano según sea el caso.

NOTA: En el LCCA-LIQ se considera que se reduce el error del conteo si se realiza el conteo de la muestra sin azul de tripano y posteriormente el conteo de viabilidad con azul de tripano, determinando el porcentaje de viabilidad de acuerdo con la Ecuación (6) en lugar de realizar un solo conteo y corregir por la dilución con azul de tripano.

$$\text{Viabilidad } (V) = \frac{\bar{v}}{\bar{T}} * 100 \% \quad (6)$$

Una vez determinada la concentración celular y la viabilidad como porcentaje, se determina la concentración celular viable variable de acuerdo con la Ecuación (7).

$$\text{Concentración celular viable } [X] = [X_0] * V \quad (7)$$

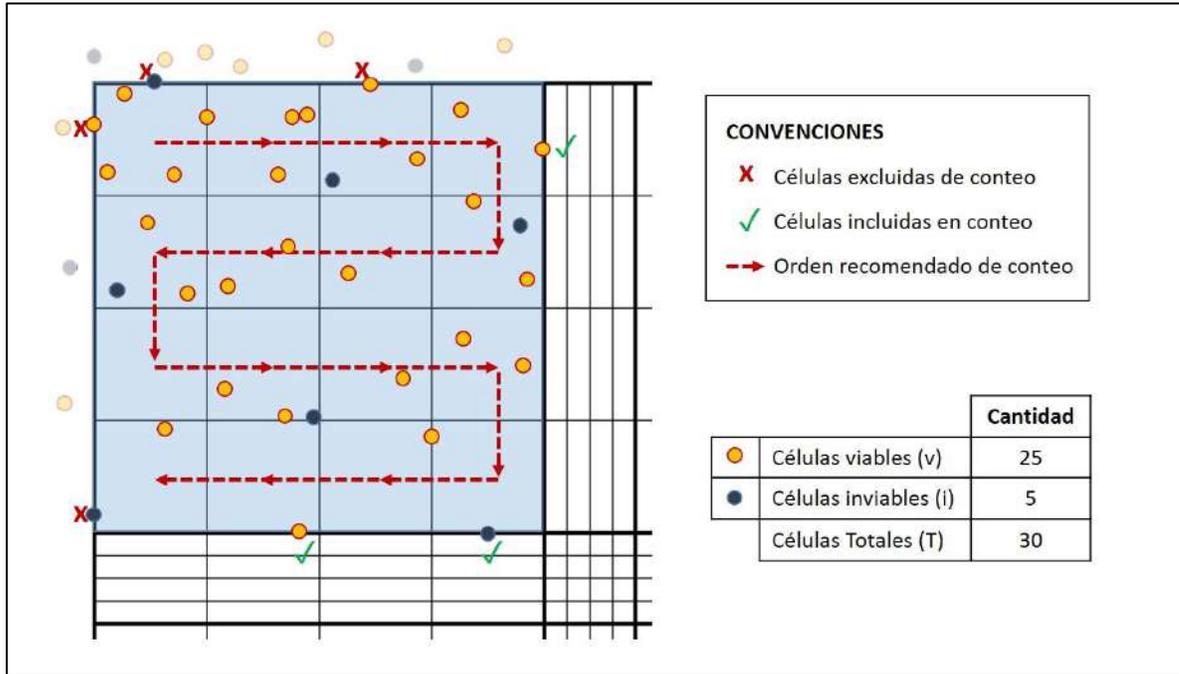


Figura 16. Ejemplo de metodología de conteo

En el caso del ejemplo presentado en la **Figura 16** y sumiendo para este caso que $v = \bar{v}$, $i = \bar{i}$, $T = \bar{T}$ los resultados obtenidos serían:

$$\text{Concentración celular } [X_0] = T \times 10^4 \frac{\text{cel}}{\text{mL}} = 3 \times 10^5 \frac{\text{cel}}{\text{mL}}$$

$$\text{Viabilidad } (V) = \frac{v}{T} * 100 \% = \frac{25}{30} * 100\% = 83,4\%$$

$$\text{Concentración celular viable } [X] = [X_0] * V = 3 \times 10^5 \frac{\text{cel}}{\text{mL}} * 83,4\% = 2,5 \times 10^5 \frac{\text{cel}_{\text{viab}}}{\text{mL}}$$

ANEXO 10. Borrador de artículo redactado como parte de verificación de la infraestructura generada.

Como parte de las pruebas de funcionamiento del laboratorio, se desarrollaron los procesos experimentales presentados en el artículo presentado a continuación; el cual no ha sido publicado a raíz de que los datos subrayados en amarillo son información producto de modelamiento con base en la bibliografía relacionada y no corresponden a datos experimentales. Los experimentos requeridos se encuentran en desarrollo en el momento.

Sp2/0-Ag14 bioreactor cell culture as a platform for rotavirus WT1-5 production

Cultivo en biorreactor de la línea celular Sp2/0-Ag14 como plataforma para la producción de Rotavirus WT1-5

Lozano-Romero Eliana¹, Godoy-Silva Ruben², Guerrero Carlos Arturo³

ABSTRACT

At Laboratory of Molecular Biology of Virus at Universidad Nacional de Colombia (LMBV-UN), rotavirus WT1-5 strain is considered a potential oncolytic agent and will be evaluated in cellular and animal models in the near future. In order to meet the expected demand for rotavirus, the current production process in Sp2/0-Ag14 cell line was scaled-up from 75cm² T-Flask to 100mL Spinner flask and then to 2L Batch bioreactor. This study describes the scale-up results for the cell culture and infection processes leading towards a feasible solution for bulk production of rotavirus. The scale-up was successful and comparable growth curves and nutrient consumption, metabolite production, infection kinetics profiles and final obtained titer are presented.

Keywords: Cell Culture, bioreactor, rotavirus, Sp2/0-Ag14

RESUMEN

El Laboratorio de Biología Molecular de Virus de la Universidad Nacional de Colombia ha determinado que el aislamiento rotaviral WT1-5 de su colección es un potencial agente oncolítico, y será evaluado en modelos celulares y animales próximamente. Con el fin de cumplir con la demanda requerida de rotavirus, el proceso de producción actual en la línea celular Sp2/0-Ag14 fue escalado desde Frascos T de 75cm², a reactores *spinner* de 100mL y bioreactor por lotes de 2L. Este estudio describe los resultados del escalado de la sección de cultivo celular e infección en búsqueda de una solución factible para la producción en masa de rotavirus. Se logró el escalamiento de forma satisfactoria y se presentan las curvas de crecimiento, perfiles de consumo de nutrientes, producción de metabolitos, cinéticas de infección y el título de virus finalmente obtenido.

Palabras clave: Cultivo celular, biorreactor, rotavirus, Sp2/0-Ag14

Received: January 20th 2015

Accepted: February __th 2012

Introduction

Cancer is a leading cause of death worldwide, accounting 8.2 million deaths in 2012 (OMS 2013). Conventional cancer treatments such as radiotherapy, chemotherapy or surgery usually affect patients' health negatively and do not ensure full recovery; therefore, worldwide research efforts are focused on developing new treatments or palliative therapies. Oncolytic virus treatment is among them.

Molecular Biology of Virus Laboratory (LMBV-UN; Universidad Nacional de Colombia- Sede Bogotá, Bogotá, Colombia) has developed extensive rotavirus research and noticed the oncolytic potential of several murine as well as human wild-type rotavirus

strains. Taking advantage of such potential, it was decided to explore early stages of drug development using rotavirus as active principle; to do so, large quantities of purified rotavirus are needed.

Within LMBV-UN's collection of rotaviral strains, WT1-5 isolate has presented the best selectivity for cancer cell lines and high titer after infection. The Sp2/0-Ag14 cell line was selected as host for viral replication, it was formed by fusing BALB/c spleen cells (from mouse immunized with sheep RBCs) with the P3X63Ag8 myeloma (ATCC 2014). Its biosafety level is 1; this line grows in suspension cultures and is commonly used as fusion partner for production of somatic cell hybrids (Guerrero 2013). According to previous works, (Guerrero 2013; Arias et al.; Zárate et al. 2000; Guerrero

¹ Chemical Engineer, Master in Chemical Engineering candidate, Universidad Nacional de Colombia, Colombia. E-mail: elozanor@unal.edu.co.

² Chemical Engineer, Universidad Nacional de Colombia, Colombia. Master in Biotechnology, Universidad Nacional Autónoma de México, México. Ph.D. in Chemical Engineering, Ohio State University, United States. E-mail: rdgodoy@unal.edu.co.

³ Medical Doctor, Universidad del Valle, Colombia. Master in Pharmacology, Master in Genetics, Universidad Nacional de Colombia, Ph.D. in Sciences, Universidad Nacional Autónoma de México, México. E-mail: caguerrero@unal.edu.co

How to cite: Lozano-Romero E., Godoy-Silva R.D., Guerrero C.A. (2014). Sp2/0-Ag14 bioreactor cell culture as a platform for rotavirus WT1-5 production. *Ingeniería e Investigación Journal*. Vol. XX Iss. Pg XXX – XXX.

et al. 2010; Pulido Morera et al. n.d.) this cell line is infected by rotavirus strains and allows its replication.

Consequently, this research focuses on the scale-up process of Sp2/0-Ag14 cell culture and WT1-5 rotaviral isolate production from 75 cm² T-flasks to 100 mL spinner flasks and then to 2L stirred tank bioreactor.

Materials & methods

Cell line and virus

Suspension Sp2/0-Ag14 cells (ATCC CRL-1581) were grown in 75cm² T-flasks at 37 °C, 5% CO₂ in DMEM-F12 (Hyclone Thermo Scientific, Ref. SH30004.04) supplemented with 10% Fetal Bovine Serum (FBS, USDA Research Grade Origin Fetal bovine Serum-Applied Biologic Materials ABM. Ref: TM999-100). Rotavirus WT1-5 isolated was obtained from Molecular Biology of Virus Laboratory in Universidad Nacional de Colombia, (LMBV-UN -UN, Bogota, Colombia)

Spinner cell cultures

Sp2/0-Ag-14 cells in late exponential stage were centrifuged 5 minutes at 100 × g. Pellet was re-suspended in DMEM-F12 media supplemented with 10% FBS and inoculated to 100mL spinner Flasks to obtain 5 × 10⁴ cell/mL concentration. Spinners Flask were maintained in 5%CO₂, 37°C and 100 rpm.

Bioreactor cell cultures

Cultures were performed in stirred tank bioreactor (APPLIKON, Glass autoclavable 3L bioreactor) with a 2 L working volume. During the cell proliferation phase, pH was set at 7.2, OD at 50% air-saturation, temperature at 37 °C and agitation rate at 100 rpm. Samples were collected daily in order to determine cell density, cell viability, glucose, ammonia and lactate levels.

Cell counting and metabolite analysis

Cell concentration, glucose and lactate concentrations were measured using a Cytation3 (Biotek Instruments). Cell concentration samples were stained with trypan blue for counting and viability determination (Lozano-Romero, 2015), other metabolites were measured using enzymatic kits (Glucose, Biosystems Ref. 12503, Lactate, Abcam Ref. ab65331).

Virus production

For any scale, when cell culture had its higher concentration and viability above 97%, cell culture was disposed in Falcon tubes and centrifuged for 5 minutes at 100 × g, cells were re-suspended in DMEM-F12 media with the purpose of remove FBS which inhibits rotavirus infection in cell lines (Park 1998).

In addition, rotavirus has tropism for HSPs (Heat Shock Proteins), β3 y PDI whence after FBS removal, temperature of cell culture is increased to 42°C for 39 minutes in order generate heat shock and the over-expression of these proteins.

Two hour after heat shock cell culture is inoculated with trypsinized rotavirus WT1-5 (Ward et al. 1984) in a volume ratio of (1:20) for 30 minutes at 37 °C (Arias et al. 1996; Pulido Morera et al. n.d.). Samples were taken from 0 to 12 and 24 h.p.i. hours post-infection (h.p.i.) cell lysis is followed by viability determination.

Infected cell media was centrifuged for 10 minutes at 800 × g to separate cellular debris, supernatants were maintained at -70 °C until titration.

Virus titration

Infectious virus titer was determined by immunocytochemistry assay (Guerrero 2013) with polyclonal antibody (Ac) against structural rotavirus proteins 1:1000 vol/vol (Generated in LMBV-UN), as secondary antibody goat anti-rabbit IgG-HR (HRP, 0.133 μg/ml, Santa cruz Biotechnology) and revealing with aminoetilcarbazol (AEC); non infected Sp2/0-Ag14 and infected Sp2/0-Ag14 cells with not related antibodies were used as control. Ten random photographs of each sample were taken and processed in Cytation3® software Gen5® determining the number of infected cells per mL and calculate its titer as focus-forming units FFU/mL. Stock and inoculum titer is 4,3 × 10⁷ UFF/mL.

To minimize inter- and intra-assay variability, samples generated from the same experiment were tested on the same day when possible, and duplicates were used for each virus sample.

Results and Discussion

Cell culture scale-up process

Cell culture scale-up process was successful, as shown in Figure 1, Sp2/0-Ag14 cells were able to growth in all scales without decreasing their growth rate and even reaching **2,1 × 10⁶ cell/mL** concentration in reactor assays. These results are slightly higher than the one reported for other myelomas cell lines (Acosta et al. 2007; Drewinko et al. 1984; Oller et al. 1989; Kano-sueokat 1982).

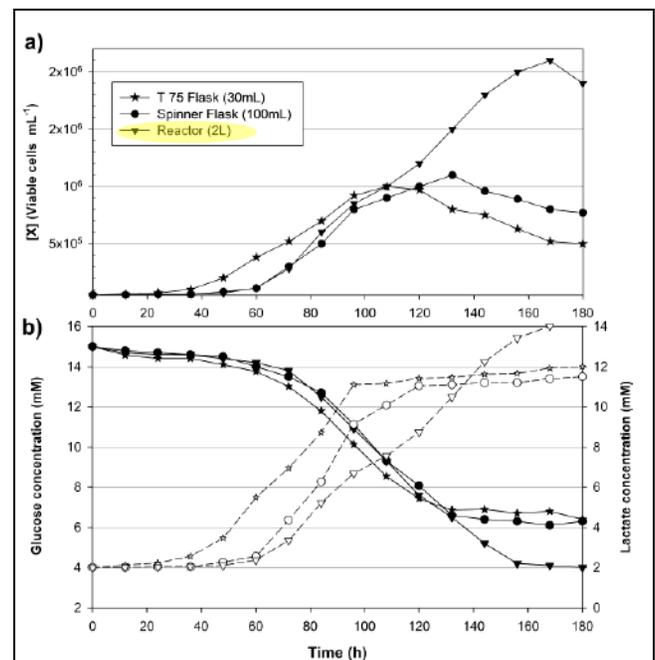


Figure 1. Sp2/0-Ag14 cell culture at different scales. 75cm² T-flasks, 100mL Spinners and 2L Reactor. a) Growth kinetics; b) Glucose (continuous line) and lactate (dashed line) media concentration.

Figure 1a shows that careful monitoring and strict control of key variables such as dissolved oxygen tension and pH (only possible at bioreactor scale) delay the start of stationary stage allowing to achieve higher cell concentrations; the increase in cell concentrations guarantees a higher quantity of potential host cells for

rotavirus replication which is expected to lead to higher virus titers. The achieved cell concentration was close to the one reported for Sp2/0-Ag14 cells growing in other works (Sugaya et al. 1997; Acosta et al. 2007).

Mammalian cells use glucose for energy production and produce lactate as a metabolite by-product, in fact, in cell culture fermentation about 50-100% of the glucose is converted to lactate and high levels of this metabolite (in the order of 22 mM) have shown to be inhibitory for mammalian cell growth (Ozturk et al. 1997). Lactate production also increases due to glutamine metabolism (Zielke et al. 1980). As shown in Figure 1b for all cultures glucose concentration decrease from 15 to 6,4 mM while lactate increased from 2 to 12 mM approximately, which leads to a molar ratio of metabolized glucose to produced lactate of 1:1,6; These results indicate that Sp2/0-Ag14 cells metabolize glucose efficiently since less than 50% of the carbon source is converted to lactate.

Inhibitory effects of lactate accumulation are evidenced particularly in pH decrease which affects Spinner and T-Flask cultures. In reactor cultures pH is stable and additional cellular growth por lo cual glucose consumption continues reaching starvation conditions limiting cell reproduction, future insights should involve a fed-batch strategy for reactor cultures in order to maintain glucose levels.

According to growth kinetics (Figure 1a), growth rates for different cultures are not statistically significant ($\alpha=0,05$), these results point to an apparent stress resistance of Sp2/0-Ag14 cell line to hydrodynamic forces generated in stirred cultures (Spinner and reactor), probably due to previous stirring and centrifugation conditions which previous passage cultures were maintained.

Virus production

Heat shock, BFS removal process and cell maintaining during infection process without growth factors and other important proteins generate lethal and sub-lethal effects on cells, some of them lose viability in permanent form and will not be infected, as control, one batch of each culture was completely processed without virus infection. Viability comparison between infection process and culture without infection are presented in Figure 2.

Each rotavirus strain has an specific replicative cycle, some fast replication strains took 8 to 10 hours to replicate, other strains had delay replication times which took between 14 and 16 hours (Estes & Cohen 1989). According to previous works of MBVL-UN (Pulido Morera et al. n.d.; Guerrero 2013) WT1-5 strain has an approximate replication cycle between 6 and 12 hours length. Obtained data shows an increased in death rate between 4 and 10 h.p.i. and a reduction of viability to 20% consistent with the m.o.i used during infection process presented in Table 1.

Rotavirus production was evaluated with the same cell concentration before infection (1×10^6 cells per mL) and using a volume ratio

of virus stock 1:20, its equivalence in final PFU/mL and m.o.i are presented in Table 1. Productivity results between different volumes of cell culture were not statistically different obtaining titers close to the inoculum titer and productivities about 19.

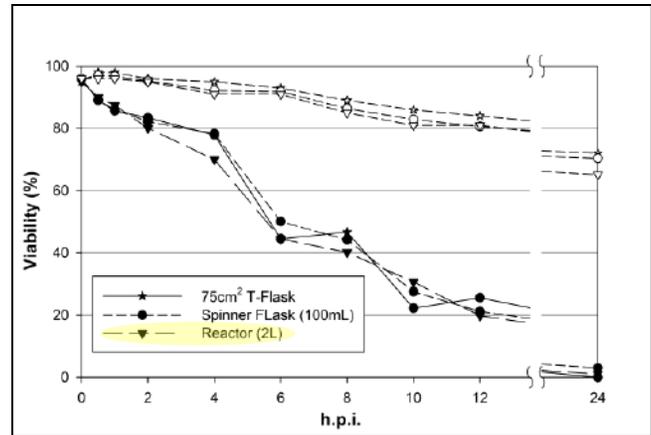


Figure 2. Viability of Sp2/0-Ag14 cell culture post-infection. Initial cellular concentration was in all cases 1×10^6 cell/mL. Controls (dashed lines) cell cultures without infection.

Taking advantage of the extended reactor cell culture, the use of the same inoculum was tested with an initial cellular concentration of 2×10^6 cell/L obtaining a 1,7-fold increase in viral titer compared to the reached before. Higher cell concentrations implies a lower m.o.i and a lower quantity of infected cells in the first replication cycle, after that more cells are available for been infected at the second replication cycle generating the increase of final virus titer to $6,84 \times 10^7$ FPU/mL an a final productivity of 31,80.

Attempts to increase virus titers in batch cultures by increasing the cell concentration at the moment of infection will be evaluated to identify the optimal conditions for this process. Taking to account the loss of viability due to cell culture without FBS and other interferences as the intracellular debris release caused by cellular lysis during the rotavirus replication.

Conclusions

Scale-up process of Sp2/0-Ag14 cell culture was successful obtaining expected cell concentrations and with improving results at reactor scale due to controlled conditions. To establish whether this process affected cells susceptibility to viral infection, and therefore their capability to produce viruses, we infected batch cultures in T-Flask, Spinners and reactor with WT1-5 rotavirus strain.

Rotavirus production was not affected by scale-up process and obtained rotavirus keep its initial infective capacity

Table 1. Production of WT 1-5 rotaviral strain an different scales

	Cell concentration at infection time (cell/mL)	Initial viral titer (FFU/mL)	Initial viral titer (m.o.i)	Infected cell fraction P(0)	Final viral titer 24 h.p.i. (FFU/mL)	Productivity (Final / Initial titer)
75cm ² T-Flask	$1,19 \times 10^6$	$2,02 \times 10^6$	1,81	83,70%	$3,99 \times 10^7$	19,76
Spinner Flask (100mL)	$1,21 \times 10^6$	$1,89 \times 10^6$	1,77	83,03%	$3,54 \times 10^7$	18,71
Reactor (2L)	$1,11 \times 10^6$	$2,10 \times 10^6$	1,93	85,54%	$4,05 \times 10^7$	19,30
	$2,12 \times 10^6$	$2,15 \times 10^6$	1,01	63,73%	$6,84 \times 10^7$	31,80

Production yields of rotavirus cultures were improved reaching a 1,7-fold increase in virus productivity. Accordingly, volumetric yield of rotavirus production reactor batch cultures can be significantly higher when compared to batch cultures at other scales,

This technology offers a solution to the requirements for high yield vaccine production processes by providing a fully scalable suspension Sp2/0-Ag14 cell-based platform. This process will be optimized in further works.

Acknowledgments

This work was supported by Colciencias - Departamento Administrativo de Ciencia Tecnología e Innovación through his Jóvenes Investigadores 2012 Scholarship.

References

- Acosta, M.L. et al., 2007. Analysis of kinetic, stoichiometry and regulation of glucose and glutamine metabolism in hybridoma batch cultures using logistic equations. *Cytotechnology*, 54(3), pp.189–200. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2267508&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed January 22, 2015].
- Arias, C.F. et al., Molecular biology of rotavirus cell entry. *Archives of medical research*, 33(4), pp.356–61. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12234525> [Accessed May 4, 2013].
- Arias, C.F. et al., 1996. Trypsin activation pathway of rotavirus infectivity. *Journal of virology*, 70(9), pp.5832–9. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=190599&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed January 23, 2015].
- ATCC, 2014. Sp2/0-Ag14 ATCC® CRL-1581™ Mus musculus (B cell); Mus muscu. Available at: <http://www.atcc.org/Products/All/CRL-1581.aspx> [Accessed January 8, 2015].
- Drewinko, B. et al., 1984. ARH-77, an established human IgG-producing myeloma cell line. II. growth kinetics, clonogenic capacity, chalone production, xenogeneic transplantations, and response to melphalan. *Cancer*, 54(9), pp.1893–1903. Available at: [http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1097-0142\(19841101\)54:9<1893::AID-CNCR2820540920>3.0.CO;2-E/abstract](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1097-0142(19841101)54:9<1893::AID-CNCR2820540920>3.0.CO;2-E/abstract) [Accessed January 22, 2015].
- Estes, M.K. & Cohen, J., 1989. Rotavirus gene structure and function. *Microbiological reviews*, 53(4), pp.410–49. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=372748&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed January 23, 2015].
- Guerrero, C. a, Santana, A.Y. & Acosta, O., 2010. Mouse intestinal villi as a model system for studies of rotavirus infection. *Journal of virological methods*, 168(1-2), pp.22–30. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20403385> [Accessed May 6, 2013].
- Guerrero, R., 2013. *Evaluación del potencial oncolítico del rotavirus en la línea celular de cáncer de mieloma murino Sp2/0-Ag14*. Universidad Nacional de Colombia - Sede Bogotá.
- Kano-sueokat, T., 1982. Growth of hybridoma cells in serum-free medium : Ethanamine is an essential component. , 79(February), pp.1158–1162.
- Oller, A.R. et al., 1989. Growth of mammalian cells at high oxygen concentrations. *Journal of cell science*, 94 (Pt 1), pp.43–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2613768> [Accessed May 4, 2013].
- OMS, 2013. OMS | Cáncer. Available at: <http://www.who.int/topics/cancer/es/> [Accessed May 4, 2013].
- Ozturk, S.S. et al., 1997. Animal Cell Technology. In M. J. T. Carrondo, B. Griffiths, & J. L. P. Moreira, eds. Dordrecht: Springer Netherlands. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/978-94-011-5404-8> [Accessed January 25, 2015].
- Park, J.H., 1998. Improved propagation of human rotavirus from cell cultures of rhesus monkey kidney cells using medium supplemented with DEAE-dextran, dimethyl sulfoxide and cholesterol. *Biotechnology Techniques*, 12(1), pp.7–10. Available at: <http://link.springer.com/article/10.1023/A:1008886905753> [Accessed May 6, 2013].
- Pulido Morera, D.R., Acosta Losada, O. & Guerrero Fonseca, C.A., Increase of heat shock cognate protein, HSC70, in MA104 cells following rotavirus infection. *Revista de la Facultad de Medicina*, 55(4), pp.224–239. Available at: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-00112007000400002&lng=en&nrm=iso&tlng=es [Accessed January 23, 2015].
- Sugaya, S., Ohashi, H. & Shinozawa, T., 1997. Expression and purification of a recombinant human glycoprotein in mouse hybridoma SP2/0-AG14 cells. *Biotechnology letters*, 19(2), pp.185–188.
- Ward, R.R.L., Knowlton, D.D.R. & Pierce, M.M.J., 1984. Efficiency of human rotavirus propagation in cell culture. *Journal of clinical microbiology*, 19(6), p.748. Available at: <http://caslon.stanford.edu:3210/sfxicl3?sid=google;auin it=RL;aulast=Ward;atitle=Efficiency of human rotavirus propagation in cell culture.;id=pmid%3A6088569>.
- Zárate, S. et al., 2000. Integrin alpha2beta1 mediates the cell attachment of the rotavirus neuraminidase-resistant variant nar3. *Virology*, 278(1), pp.50–4. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11112480> [Accessed May 6, 2013].

Zielke, H.R. et al., 1980. Lactate: a major product of glutamine metabolism by human diploid fibroblasts. *Journal of cellular physiology*, 104(3), pp.433-41. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7419614> [Accessed January 25, 2015].



ANEXO 11. Presupuesto e Información detallada de implementación.

ADECUACIONES					
Año	Adecuaciones Locativas	Costo COP del año de adquisición	Incremento en % con respecto a la variación del IPC	Valor en COP - 2017 de acuerdo con variación del IPC	Fuente del Recurso
2010	Instalación de placa de concreto, piso en baldosa cerámica, paredes en fibrocemento e iluminación inicial	\$ 1.000.000	29,5%	\$ 1.294.600,00	Laboratorio de Ingeniería Química
2010	Adquisición e instalación de base para cabina de flujo laminar	\$ 625.000	29,5%	\$ 809.125,00	Financiado por RDG
2010	Modificación e iluminación por lámparas LED	\$ 200.000	29,5%	\$ 258.920,00	Financiado por RDG
2012	Adquisición e instalación de mesón continuo en L	\$ 1.130.000	24,3%	\$ 1.404.477,00	Financiado por RDG
2012	Adquisición e instalación de red hidrosanitaria (lavamanos, poceta y punto para conexión de equipos)	\$ 138.000	24,3%	\$ 171.520,20	Financiado por RDG
2013	Adquisición e Instalación de Mesón recto	\$ 735.900	18,1%	\$ 869.245,08	Financiado por RDG
2013	Adquisición de silla de laboratorio fija (con escalera)	\$ 140.000	18,1%	\$ 165.368,00	Financiado por RDG
2012	Adquisición e Instalación de mobiliario de almacenamiento interior	\$ 2.000.000	24,3%	\$ 2.485.800,00	Financiado por RDG
2013	Adquisición e Instalación de mobiliario de almacenamiento superior	\$ 903.667	18,1%	\$ 1.067.411,07	Financiado por RDG
2013	Adquisición de silla de laboratorio móvil	\$ 600.000	18,1%	\$ 708.720,00	Financiado por RDG
2014	Adquisición e instalación de distribución de tubería de PVC para ingreso de aire del sistema HVAC	\$ 100.000	16,2%	\$ 116.180,00	Financiado por RDG
2014	Instalación de sistema de cortina en PVC para retención e partículas	\$ 232.000	16,2%	\$ 269.537,60	Financiado por RDG
2014	Construcción de espacio para esclusa	\$ 472.700	16,2%	\$ 549.182,86	Financiado por RDG
2014	Adquisición de sistema de almacenamiento en esclusa	\$ 175.000	16,2%	\$ 203.315,00	Financiado por RDG
2014	Adquisición e instalación de sistema de aseguramiento de cilindros de gases	\$ 130.000	16,2%	\$ 151.034,00	Financiado por RDG
2014	Adquisición e instalación de reguladores de presión para balas de gases y de sistema de tubing de pvc para su distribución	\$ 221.500	16,2%	\$ 257.338,70	Financiado por RDG
2014	Adquisición e instalación del Sistema de detección de gases	\$ 1.223.340	16,2%	\$ 1.421.276,41	Plan Maestro de Laboratorios - Facultad de Ingeniería
2014	Adquisición e Instalación de Sistema de Aire Acondicionado	\$ 1.830.000	16,2%	\$ 2.126.094,00	Financiado por RDG
2016	Instalación de iluminación adicional	\$ 180.000	5,8%	\$ 190.350,00	Financiado por RDG
		\$ 12.037.107	Subtotal	\$ 14.519.495	

\$ 2.016.597

Del DANE	Para el año	Acumulado	Acumulado
2,00	2010	2946%	29%
3,17	2011	2746%	27%
3,73	2012	2429%	24%
2,44	2013	2056%	21%
1,94	2014	1812%	18%
3,66	2014	1618%	16%

EQUIPO								
Año	MES	EQUIPO	ODC No.	Costo COP del año de adquisición	TRM promedio del año de compra	Valor en COP - 2017 de acuerdo con variación de TRM	Fuente del Recurso	
2010	Septiembre	Cabina de flujo laminar	322	\$ 12.203.200	\$ 1.898	\$ 18.646.644	PROGRAMA DE POSGRADO DE INGENIERIA QUIMICA VIGENCIA 2010	
2011		Incubadora CO2		\$ 8.000.000	\$ 1.848	\$ 12.552.958		
2011	Julio	Microscopio Invertido	151 UGI	\$ 7.500.000	\$ 1.848	\$ 11.768.398	Proyecto Colciencias: ESTRATEGIAS PARA SELECCION DE INDICADORES TECNOLÓGICOS EN PROCESOS DE DESHIDRATACION DE FRUTAS Y HORTALIZAS UTILIZANDO HERRAMIENTAS DE AUTOMATIZACION Y CONTROL	
2012	Noviembre	Centrifuga	218 UGI	\$ 4.872.000	\$ 1.798	\$ 7.857.058	DIB - GRUPO DE INVESTIGACION EN PROCESOS QUIMICOS Y BIOQUIMICOS	
2013		Nevera 1		\$ 648.000	\$ 1.869	\$ 1.005.511	Propiedad de Rubén Godoy	
2013		Microondas		\$ 250.000	\$ 1.869	\$ 387.929	Propiedad de Rubén Godoy	
2013	Octubre	Sistema de control de agitación de spinners	Fabricación propia	\$ 2.000.000	\$ 1.869	\$ 3.103.430	Rubén Godoy + Eliana Lozano	
2014	Enero	Sistema de Control de biorreactor	Varios	\$ 16.338.388	\$ 2.001	\$ 23.682.611	Componentes propiedad de Rubén Godoy + Adquisiciones proyecto DIB Eli + Recursos Eliana Lozano y LIJ. SERVO: 3.096.388 ODS 504 Dic. 2013 CONTROL PH: 4.930.000 ODS 258 ugi Nov.2013. CAJA Y ACCESORIOS ELECTRÓNICOS: 312.000 CONTROL O2, ROTAMETROS, MANÓMETROS, VÁLVULAS:8.000.000	
2014	Mayo	Cytation	43 UGI	\$ 186.881.244	\$ 2.001	\$ 270.885.703	Proyecto Colciencias: PRODUCCION DE NANOPARTICULAS DE PLGA MODIFICADO PARA EL TRANSPORTE ESPECIFICADO A TEJIDO OSEO Y LIBERACION CONTROLADA DE MEDICAMENTOS PARA EL TRATAMIENTO DE LA OSTEOPOROSIS	
2015	Mayo	Computador	82 UGI	\$ 3.180.000	\$ 2.746	\$ 3.357.765	DIB	
2015	Junio	pHmetro	107 UGI	\$ 3.855.492	\$ 2.746	\$ 4.071.017	Proyecto Colciencias: PRODUCCION DE NANOPARTICULAS DE PLGA MODIFICADO PARA EL TRANSPORTE ESPECIFICADO A TEJIDO OSEO Y LIBERACION CONTROLADA DE MEDICAMENTOS PARA EL TRATAMIENTO DE LA OSTEOPOROSIS	
2015	Junio	Balanza	107 UGI	\$ 4.883.600	\$ 2.746	\$ 5.156.597	Proyecto Colciencias: PRODUCCION DE NANOPARTICULAS DE PLGA MODIFICADO PARA EL TRANSPORTE ESPECIFICADO A TEJIDO OSEO Y LIBERACION CONTROLADA DE MEDICAMENTOS PARA EL TRATAMIENTO DE LA OSTEOPOROSIS	
2015		Tanque de nitrógeno		\$ 2.167.999	\$ 2.746	\$ 2.289.192	ESTUDIO DE LA PRODUCCIÓN COLOMBIANA DE ANTICUERPOS RECOMBINANTES Y DE LAS CONDICIONES PARA QUE SEA UN NEGOCIO NACIONAL E INTERNACIONALMENTE RENTABLE. EN SU TRAYECTO DESDE EL LABORATORIO HASTA LA PLANTA INDUSTRIAL	
2016		Osmómetro		\$ 19.998.400	\$ 3.053	\$ 18.993.574	ESTUDIO DE LA PRODUCCIÓN COLOMBIANA DE ANTICUERPOS RECOMBINANTES Y DE LAS CONDICIONES PARA QUE SEA UN NEGOCIO NACIONAL E INTERNACIONALMENTE RENTABLE. EN SU TRAYECTO DESDE EL LABORATORIO HASTA LA PLANTA INDUSTRIAL	
2016		Nevera 2		\$ 750.000	\$ 3.053	\$ 712.316	Propiedad de Rubén Godoy	
				\$ 273.528.323	Subtotal	\$ 384.470.704		

TOTAL \$ **398.990.199**

Año	Del Banco de la República TRM
2010	\$ 1.897.89
2011	\$ 1.848.17
2012	\$ 1.798.23
2013	\$ 1.868.90
2014	\$ 2.000.68
2015	\$ 2.746.47
2016	\$ 3.053.42

6,77	2015	1252%	13%
5,75	2016	575%	6%

por tema/precios y costos/indice de precios al-

enero - marzo 2017	\$	2.900,00
--------------------	----	----------

<http://www.banrep.gov.co/es/trm>

ANEXO 12. Lista de revisión de bioseguridad de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud.

Cuadro 5. Laboratorio básico – nivel de bioseguridad 1: encuesta sobre la seguridad en el laboratorio

LUGAR	Cuarto de cultivo de células animales - LIQ		FECHA	10-03-2017	
ENCARGADO DEL LABORATORIO	Ing. Rubén D. Godoy				
COMPROBADO (FECHA)	10-03-2017	SÍ	NO	N/A	OBSERVACIONES
Laboratorio					
Señalización apropiada: radiación ultravioleta, láser, material radiactivo, etc.	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Nivel de bioseguridad: Adjuntar el formulario de encuesta del nivel de bioseguridad que corresponda	
Directrices de bioseguridad apropiadas disponibles y cumplidas	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Equipo de laboratorio debidamente rotulado (peligro biológico, radiactivo, tóxico, etc.)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Diseño del laboratorio					
Facilidad de limpieza	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Alumbrado ultravioleta en la sala con interruptor de interbloqueo	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Todas las estanterías están fijadas con firmeza	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Mostradores impermeables y resistentes a ácidos, álcalis, disolventes orgánicos y calor	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Iluminación suficiente	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Suficiente espacio de almacenamiento, que se aprovecha debidamente	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Bombonas de gas					
Todas las bombonas bien aseguradas	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Bombonas de reserva con sus tapas correspondientes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>		
Gases asfixiantes y peligrosos sólo en salas ventiladas	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Cantidad excesiva de bombonas o bombonas vacías	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Sustancias químicas					
Sustancias inflamables almacenadas en armario especial	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Sustancias formadoras de peróxidos con doble fecha (recepción y apertura)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>		
Sustancias químicas debidamente separadas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>		
Sustancias químicas peligrosas almacenadas por encima del nivel de los ojos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>		
Sustancias químicas almacenadas en el suelo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>		
Recipientes abiertos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>		
Todas las soluciones debidamente rotuladas	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Termómetros de mercurio en uso	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>		
Frigoríficos/congeladores/cámaras de frío					
Presencia de alimentos para consumo humano	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>		
Sustancias inflamables en unidades a prueba de explosión	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>		
Rótulos exteriores si contienen sustancias cancerígenas, radiactivas o con peligro biológico	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Cámaras de frío con apertura de emergencia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>		

COMPROBADO (FECHA) 10-03-2017	SÍ	NO	N/A	OBSERVACIONES
Equipo eléctrico				
Cables alargadores	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Enchufes con toma de tierra y la debida polaridad	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Conexiones cerca de fregaderos, duchas, etc.	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Equipo sin cables desgastados o en mal estado	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Enchufes o tomas eléctricas sobrecargados	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Tomas de corriente montadas fuera del suelo	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Fusibles apropiados	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Las tomas eléctricas cercanas a puntos de agua cumplen las normas locales	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Toma de tierra en cables eléctricos	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Calefactores portátiles	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Equipo de protección personal				
Material para lavado de ojos en el laboratorio	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Ducha de seguridad disponible	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Equipo de protección personal disponible (guantes, batas, gafas de protección, etc.)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Ocupantes debidamente vestidos	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Las batas, camisas, guantes y otras prendas de vestir no se usan fuera del laboratorio	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Equipo de protección personal para el almacenamiento criogénico	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Gestión de residuos				
Signos de gestión indebida de residuos	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Desechos debidamente separados en los recipientes apropiados	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Recipientes para residuos químicos rotulados, fechados y cerrados	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Recipientes para residuos químicos debidamente manipulados y almacenados	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Recipientes para objetos cortantes y punzantes debidamente utilizados y eliminados	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Ausencia de basura en el suelo	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Procedimientos de eliminación de residuos expuestos en el laboratorio	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Programas de salud y seguridad en el trabajo				
Comunicación de riesgos	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Protección respiratoria	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Conservación de la audición	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Vigilancia del formaldehído	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Vigilancia del óxido de etileno	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Vigilancia de gases anestésicos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Controles técnicos generales				
La presión en el laboratorio es negativa respecto de las zonas de ocupación general, los pasillos y las oficinas	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

8. DIRECTRICES PARA LA CERTIFICACIÓN DE LABORATORIOS E INSTALACIONES

COMPROBADO (FECHA) 10-03-2017	SÍ	NO	N/A	OBSERVACIONES
Los sumideros de las pilas actúan como respiraderos	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Se dispone de lavabo para las manos	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Piezas de maquinaria al aire (poleas, ruedas dentadas)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
La línea de vacío tiene filtros y sifones en las mesas de trabajo	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Riesgo de reflujo al suministro de agua	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sistemas de agua destilada en buen estado	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Programa activo y eficaz de control de artrópodos y roedores	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Prácticas y procedimientos generales				
Los alimentos para consumo humano se guardan fuera del laboratorio	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Los hornos de microondas están claramente rotulados: «Prohibida la preparación de alimentos. Uso exclusivo del laboratorio»	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
En el laboratorio se come, se bebe, se fuma o se aplican cosméticos	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Recipientes de vidrio presurizados sellados con cinta adhesiva o protegidos (purgadores de vacío)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Prohibición de pipetear con la boca	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dispositivos mecánicos de pipeteo disponibles y en uso	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Ropa protectora de laboratorio almacenada en lugar distinto de la ropa de calle	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Organización general del laboratorio				
Recipientes de vidrio en el suelo	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Riesgos evidentes de tropezarse	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Paños absorbentes limpios en las superficies de trabajo	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Objetos de vidrio roto manipulados por medios mecánicos (escoba y recogedor, pinzas, etc.)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Protección contra incendios				
Aspersores libres y despejados	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Inserciones abiertas en paredes, techos, suelos, etc.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Cables o conducciones a través del hueco de la puerta	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Paso de anchura mínima de 1 m en el laboratorio	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Objetos almacenados sobre las tuberías o los accesorios eléctricos	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Exceso de combustibles almacenados en el laboratorio	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Baños calientes a temperatura constante				
Baño equipado con nivel de agua bajo y termostato para posible sobrecalentamiento	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Baño construido con materiales no combustibles	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	

Firma del encargado de la encuesta de seguridad *Ing. Eliana Lozano* Fecha de la encuesta 10-03-2017

N/A = no aplicable.

Cuadro 6. Laboratorio básico – nivel de bioseguridad 2: encuesta sobre la seguridad en el laboratorio. Este formulario debe emplearse junto con el anterior (nivel de bioseguridad 1)

LUGAR	Cuarto de cultivo de células animales - LIQ			FECHA	10-03-2017
ENCARGADO DEL LABORATORIO	Ing. Rubén D. Godoy				
COMPROBADO (FECHA)	SÍ	NO	N/A	OBSERVACIONES	
Cámara de seguridad biológica					
Certificada en los doce meses anteriores	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Fecha:	
Su superficie se limpia con un desinfectante apropiado al principio y al final de cada procedimiento	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Localización:	
Rejilla frontal y filtro de salida sin obstrucciones	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Marca:	
Uso de llamas desnudas dentro de la cámara	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Tipo:	
La línea de vacío dispone de filtros y sifones con desinfectante	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	N° de serie:	
Posición incorrecta en relación con las corrientes de aire en la sala	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Se utiliza cuando hay posibilidad de que se generen aerosoles ..	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>		
Laboratorio					
Acceso limitado y restringido al personal autorizado	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Entrada limitada al personal informado de todos los riesgos	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Signo de peligro biológico en la puerta, si procede	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
• Información del signo exacta y actualizada	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
• Signo legible y no borrado	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Todas las puertas cerradas	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Descontaminación					
Descontaminante específico para el organismo que se esté usando	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Informe al supervisor del laboratorio de todo derrame y accidente con material infeccioso	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Utilización del descontaminante apropiado para limpiar los derrames	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Descontaminación de las superficies de trabajo antes y después de cada operación, todos los días y tras cualquier derrame	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Manipulación de desechos contaminados					
Los recipientes de desechos infecciosos se utilizan debidamente	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Los recipientes están excesivamente llenos	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Los recipientes están debidamente rotulados y cerrados	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Los cultivos y otros desechos reglamentados se descontaminan correctamente antes de eliminarlos	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Los materiales descontaminados fuera del laboratorio se transportan en recipientes cerrados, duraderos y estancos, conformes con las normas y reglamentaciones locales	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Los desechos mixtos se descontaminan biológicamente antes de ser eliminados como residuos químicos o radiológicos ...	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		

8. DIRECTRICES PARA LA CERTIFICACIÓN DE LABORATORIOS E INSTALACIONES

COMPROBADO (FECHA) *10-03-2017* SÍ NO N/A OBSERVACIONES

Protección personal

- Se recuerdan al personal del laboratorio las inmunizaciones/
pruebas apropiadas para los agentes que se manejan
- Se recurre a los servicios médicos apropiados para las
evaluaciones médicas, la vigilancia y el tratamiento de la
exposición ocupacional
- Se utilizan guantes cuando se maneja material infeccioso o
equipo contaminado
- Se usa protección facial cuando se trabaja con material
infeccioso fuera de la CSB
- Se lavan las manos después de retirar los guantes o de trabajar
con agentes infecciosos y antes de salir del laboratorio
- Agente antimicrobiano disponible para primeros auxilios
inmediatos

Prácticas

- Se utiliza la CSB cuando hay la posibilidad de que se generen
aerosoles infecciosos o salpicaduras
- Se ha preparado y adoptado un manual de bioseguridad
- El personal lee, revisa y sigue las instrucciones sobre prácticas
y procedimientos (obligatorio una vez al año para todo
el personal)
- Se aplican procedimientos para reducir al mínimo los aerosoles
y salpicaduras
- Se utilizan jeringuillas con vaina fija protectora de la aguja o
jeringuillas con aguja fija de un solo uso
- Los cestillos y rotores de centrifugadora se abren solamente
dentro de la CSB
- Las muestras infecciosas se transportan fuera de la CSB en
recipientes aprobados, siguiendo las normas de transporte
aprobadas

Instalaciones

- Lavabo para las manos disponible cerca de la salida del
laboratorio

Firma del encargado de la encuesta de seguridad *Ing. Eliana Lozano* Fecha de la encuesta *10-03-2017*

N/A = no aplicable. CSB = cámara de seguridad biológica.

ANEXO 13. Listado de Personal vinculado con el GPQB-UN o la Universidad Nacional de Colombia participante de las adecuaciones de las instalaciones del CCCA.

ESTUDIANTES o MIEMBROS DEL GPQB-UN

- Andrés Camilo Forero Quimbaya
- Juan David Tibocho Bonilla
- Miguel Ángel Flórez Prieto
- María Alejandra García Laguna
- Luis Miguel Serrano Bermúdez
- Óscar Serrano Bermúdez
- Ana Isabel Ramos Murillo
- Natalia Sofía Vargas Marín
- Daniel Mauricio Ramírez Landínez
- Luis Carlos González
- Gloria Astrid Nausa Galeano

PERSONAL DEL TALLER DE MANTENIMIENTO DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA Y EL LABORATORIO DE INGENIERÍA QUÍMICA

- Serafín Pardo Piñeros
- Luis Carlos González Susatama
- Guillermo Hernández Devia
- José W. Urrego Acosta
- Luis Ángel Almonacil León
- Orlando Ladino Pardo
- Cesar Augusto Tellez
- Jaime Reyes Aponte Duarte
- Luis León Hernández

7. Bibliografía

- a3bs.com. (2017). Modelos Anatómicos y Láminas, Simuladores médicos, Fisioterapia, Física, Biología - 3B Scientific. Retrieved June 5, 2017, from <https://www.a3bs.com/>
- Abcam. (2014). Mammalian cell tissue culture techniques.
- advantagemedia.com. (2017). Laboratory Design | Advantage Business Media. Retrieved May 3, 2017, from <https://www.advantagemedia.com/brands/laboratory-design>
- AENOR. UNE-EN ISO 7730 (2006). Asociación Española de Normalización y Certificación.
- Ansys. (2016). *ANSYS Engineering Analysis System User's Manual* (17th ed.). Houston.
- ATCC. (2014). Sp2/0-Ag14 ATCC ® CRL-1581™ Mus musculus (B cell); Mus muscu.
- Banco de la República. (2017). Tasa de cambio del peso colombiano (TRM). Retrieved May 3, 2017, from <http://www.banrep.gov.co/es/trm>
- Bayon, A., Valero, D., García-Bartual, R., Vallés-Morán, F. José, & López-Jiménez, P. A. (2016). Performance assessment of OpenFOAM and FLOW-3D in the numerical modeling of a low Reynolds number hydraulic jump. *Environmental Modelling & Software*, 80, 322–335. <http://doi.org/10.1016/j.envsoft.2016.02.018>
- Birch, J. (2004). Mammalian Cell Culture : Current Status , Future Prospects Cell Culture : an Industrial Process. *Prospects*, (September).
- Braukaiser.com. (2014). Microscope-hemocytometer.jpg (444x250).
- Breukeiser. (2014). *fermentation experiment image*.
- BSI. BS 5295-1:1989 Environmental cleanliness in enclosed spaces. Specification for clean rooms and clean air devices (1989). Bsi. Retrieved from

<http://shop.bsigroup.com/ProductDetail/?pid=000000000000201346>

Cai, H. H. (2016). Therapeutic Monoclonal Antibodies Approved by FDA in 2015. *MOJ Immunology*, 3(2), 2015–2016. <http://doi.org/10.15406/moji.2016.03.00087>

Colciencias. (2017). Grupo de Investigación en Procesos Químicos y Bioquímicos. Retrieved April 16, 2017, from <http://scienti.colciencias.gov.co:8080/gruplac/jsp/visualiza/visualizagr.jsp?nro=00000000000440>

Coleparmer.com. (2017). Cole-Parmer - Fluid Handling and Analysis Supplies from Cole-Parmer Germany. Retrieved June 5, 2017, from <https://www.coleparmer.com/>

colombialicita.com. (2017). Bioterio experimentacion biologica | Instituto nacional de salud (INS). Retrieved May 3, 2017, from <http://colombialicita.com/licitacion/53953>

Comisión Regimen de Construcciones Sismo Resistentes. (2010). Reglamento colombiano de construcción sismo resistente, 444. Retrieved from <http://camacol.co/informacion-tecnica/nsr-10>

Connell, N. (2011). Biological Agents Inthe Laboratory - Brief History of Biosafety. *Www.fas.org*, 2(4), 10–25.

CYPE IngenieroS S.A. (2017). Generador de precios de la construcción. Colombia. Retrieved June 4, 2017, from <http://www.colombia.generadordeprecios.info/>

Departamento de Ingeniería Química y Ambiental. (2017a). Información del departamento. Retrieved February 27, 2017, from <https://www.ingenieria.bogota.unal.edu.co/dependencias/departamentos/departamento-de-ingenieria-quimica-y-ambiental#grupos-de-investigación>

Departamento de Ingeniería Química y Ambiental. (2017b). Laboratorios. Retrieved April 30, 2017, from <https://www.ingenieria.bogota.unal.edu.co/extension/laboratorios/departamentos/ingenieria-quimica-y-ambiental#equipos-2>

- Dirección de Laboratorios - UN. (2017). *Presupuesto año 2017 intervenciones locativas PROCESO CON BOG-005-2017*.
- Eibl, R., Eibl, D., & Pörtner, R. (2009). Mammalian Cell Culture Technology: An Emerging Field. *Cell and Tissue Reaction Engineering*, 1–367. <http://doi.org/10.1007/978-3-540-68182-3>
- eltiempo.com. (2017, January 23). Moderno bioterio abre una nueva era para la investigación en salud. Retrieved from <http://www.eltiempo.com/vida/salud/nuevo-centro-bioterio-en-bogota-45558>
- Engineering toolbox. (2017). NC - Noise Criterion. Retrieved April 21, 2017, from http://www.engineeringtoolbox.com/nc-noise-criterion-d_725.html
- Environmental xpert. (2017). Biowaste Treatment Technology Equipment. Retrieved April 22, 2017, from <https://www.environmental-expert.com/products/keyword-biowaste-treatment-technology-65155>
- Escandón Barbosa, D. M., Hurtado Ayala, A., & Arias Sandoval, A. (2016). The Colombian pharmaceutical industry: Factors affecting export. *European Journal of Management and Business Economics*, 25(2), 39–46. <http://doi.org/10.1016/j.redde.2015.10.004>
- filtnews.com. (2017). ISO 29463: A Global Standard for HEPA and ULPA Filters - Filtration News. Retrieved April 20, 2017, from <http://www.filtnews.com/featured-articles/iso-29463-a-global-standard-for-hepa-and-ulpa-filters/>
- Fischer Scientific. (2017). Mott Manufacturing Steel Casework Wall Cabinet, Hinged Door Unit:Furniture,. Retrieved June 4, 2017, from <https://www.fishersci.com/shop/products/mott-manufacturing-steel-casework-wall-cabinet-hinged-door-unit/p-5163857>
- Girón Vargas, S. L. (2017). *Ministerio de Salud y Protección Social, 2017*. Bogotá.
- Google. (2017). bioseguridad - Búsqueda con Google. Retrieved May 10, 2017, from <https://www.google.com.co/search?q=bioseguridad&oq=bioseguridad&aqs=chrome..>

69i57j0i5.1805j0j7&sourceid=chrome&ie=UTF-8

Guerrero, R. (2013). *Evaluación del potencial oncolítico del rotavirus en la línea celular de cáncer de mieloma murino Sp2/0-Ag14*. Universidad Nacional de Colombia - Sede Bogotá.

Guevara, M. (2015). *Diseño de un equipo de recuperación de líquidos de gas natural empleando CFD*. Universidad Nacional de Colombia.

Guevara, M., & Belalcázar, L. C. (2017). NGL supersonic separator: modeling, improvement, and validation and adjustment of k-epsilon RNG modified for swirl flow turbulence model. *Revista Facultad de Ingeniería, Universidad de Antioquia*, (80), 4–8.

Guevara L., M. A., Reyes F., J. D., & Guevara L., F. A. (2015). Diseño y evaluación de un ciclón para separación de sólidos y gas de una corriente con un flujo multifásico empleando CFD (Design and Evaluation of a Cyclone for Solids and Gas Separation from a Multi - Phase, (166), 1–30.

idcardgroup.com. (2017). ID Card Group - ID Card Printers, Lanyards, Badge Reels and Holders. Retrieved June 5, 2017, from <http://www.idcardgroup.com/>

Instituto Nacional de Salud. Pliego de condiciones Licitación Pública No. 14 - 2012 (2012). Colombia.

Instituto Nacional de Salud. Resolución No. 1531 de 2016 (2016). Colombia. Retrieved from <http://www.saludcapital.gov.co/CTDLab/Antecedentes Normativos/Resolucion INS 1531 2016 Estandares de Calidad y Autorizacion Terceros.pdf>

Invima. Resolución No. 1619 de 2015 (2015). Colombia. Retrieved from https://www.invima.gov.co/images/pdf/red-nal-laboratorios/resoluciones/Resolucion_1619_del_2015.PDF

Invitrogen. (2012). Cell culture basics Handbook. Invitrogen - Gibco.

ISO. ISO 29463-1:2011 High-efficiency filters and filter media for removing particles in

- air — Part 1: Classification, performance testing and marking (2011). Retrieved from <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:29463:-1:ed-1:v1:en>
- ISO. ISO 14644-1:2015. Cleanrooms and associated controlled environments — Part 1: Classification of air cleanliness by particle concentration (2015). Retrieved from <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:14644:-1:ed-2:v1:en>
- Keene, J. (2003). Ask the Experts-Biosafety Requirements for Human Cell Lines. *Applied Biosafety*, 8, 132–134. Retrieved from <http://www.absa.org/abj/abj/030803AsktheExperts.pdf>
- labdesign.com. (2017). 2014 Lab Construction Outlook. Retrieved May 3, 2017, from <https://www.labdesignnews.com/article/2014/08/2014-lab-construction-outlook>
- Laboratory-equipment.com. (2017). Dauphin Eddy Laboratory Chair. Retrieved June 4, 2017, from <https://www.laboratory-equipment.com/laboratory-chairs/lab-chair-eddy-dauphin.php>
- labx.com. (2017). New and Used Laboratory Equipment for Sale, Auctions, Wanted | LabX. Retrieved June 5, 2017, from <http://www.labx.com/>
- Linde Gases Division. (2017). HiQ Oxygen.
- Marquis, C. P. (2015). MAMMALIAN CELL CULTURE C.P. *Biotechnology*, 1.
- Medical University of South Carolina. (n.d.). Types of Biosafety Cabinets. Retrieved April 13, 2017, from <http://academicdepartments.musc.edu/vpfa/operations/riskmanagement/biosafety/bsc/bsctypes>
- Merriam-Webster. (2017). Definition of Biosafety. Retrieved April 10, 2017, from https://www.merriam-webster.com/dictionary/biosafety?utm_campaign=sd&utm_medium=serp&utm_source=jsonld
- Merriam Webster. (2012). Definition of Biotechnology by Merriam-Webster. Retrieved April 30, 2017, from <https://www.merriam-webster.com/dictionary/biotechnology>

Ministerio de Minas y Energía. Reglamento Técnico de Instalaciones Eléctricas (RETIE), RESOLUCIÓN NO. 18 1294 AGOSTO 06 DE 2008 (2008). Colombia.

Ministerio de Minas y Energía. Reglamento Técnico de Iluminación y Alumbrado Público (RETILAP) (2010). Colombia.

Ministerio de Trabajo y Seguridad Social. (1979). Resolución 2400 de 1979. Retrieved May 19, 2017, from <http://www.alcaldiabogota.gov.co/sisjur/normas/Norma1.jsp?i=53565>

National Fire Protection Association. NFPA 101 de Seguridad Humana Edición 2000 (2000).

National Fire Protection Association. NFPA 45 de 2004.pdf (2004).

National Fire Protection Association. NFPA 251 Standard Methods of Tests of Fire Resistance of Building Construction and Materials, Pub. L. No. 251 (2006). Estados Unidos.

NIH. (2008). *Design Requirements Manual: The formulae for building state of the art biomedical research facilities*. Maryland, Estados Unidos.: National Institutes of Health.

OMS. (2005). Manual de bioseguridad en el laboratorio. *Organización Mundial de La Salud*, 167–181. <http://doi.org/10.1590/S0124-00642005000300007>

PC Magazine Encyclopedia. (2017). UPS Definition. Retrieved April 22, 2017, from <http://www.pcmag.com/encyclopedia/term/53509/ups>

Praxair. (2000). Pure Gases - Nitrogen.

Praxair. (2015). Pure gases - Carbon Dioxide.

Puretec. (n.d.). Water Quality Standards. Retrieved from <http://puretecwater.com/downloads/water-quality-standards.pdf>

- Real Academia Española. (2017). Laboratorio, Definición. Retrieved July 5, 2016, from <http://dle.rae.es/?id=MjESnb2>
- Sistema de Información de la Investigación - HERMES. (2017). Grupo de investigación en procesos químicos y bioquímicos. Retrieved April 30, 2017, from <http://www.hermes.unal.edu.co/pages/Consultas/Grupo.xhtml;jsessionid=EEAE718FA87E6DB04C315BE20A33BC79.tomcat8?idGrupo=32&opcion=1>
- sizes.com. (2017). kip. Retrieved May 19, 2017, from <https://sizes.com/units/kip.htm>
- Stanke, D. a, Hedrick, R. L., Alevantis, L. E., Apte, M. G., Bellenger, L. G., Bixby, D. C., ... Newman, H. M. (2007). ASHRAE STANDARD Ventilation for Acceptable Indoor Air Quality. *Health Care, 2007*, 1–4. <http://doi.org/ANSI/ASHRAE Standard 62.1-2004>
- Staples.com. (2017). OfficeSource Budget Storage Cabinets Series, Counter Height Cabinet | Staples®. Retrieved June 4, 2017, from http://www.staples.com/OfficeSource-Budget-Storage-Cabinets-Series-Counter-Height-Cabinet/product_1929036
- The European Parliament. DIRECTIVE 2000/54/EC OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL (2000).
- The Secretariat of the Convention on Biological Diversity, & United Nations Environment Programme. (2003). *Biosafety and the environment. An introduction to the Cartagena Protocol on Biosafety*.
- U.S. General Services. FEDERAL STANDARD 209E AIRBORNE PARTICULATE CLEANLINESS CLASSES IN CLEANROOMS AND CLEANZONES This, Fed-Std-209E (1992).
- United States Pharmacopeia. (2014). USP 37 - Water for Pharmaceutical Purposes. *United States Pharmacopeia National Formulary*, (c), 1181–1205.
- US Department of Health and Human Services. (1999). *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Public Health Service* (5th Editio). MARYland, Estados

Unidos: Centers for Disease Control and Prevention. <http://doi.org/citeulike-article-id:3658941>

Versteeg, H. K., & Malalasekera, W. (1995). *An Introduction to Computational Fluid Dynamics The Finite Volume Method*. Longman Scitific & Technical.

VWR. (2017). Epoxy Resin Work Surfaces, Durcon Laboratory Tops. Retrieved June 4, 2017, from <https://us.vwr.com/store/product/4679416/epoxy-resin-work-surfaces-durcon-laboratory-tops>

Weidmann, M., Silman, N., Butaye, P., & Elschner, M. (2014). *Working in Biosafety Level 3 and 4 Laboratories* (First Edit). Weinheim.

WHO. (2004). Laboratory biosafety manual Third edition World Health Organization. *World Health Organization*, 1–178. Retrieved from http://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=qVHfjFINjzwC&oi=fnd&pg=PP9&dq=Laboratory+biosafety>manual&ots=Qw_FLuZChi&sig=xgd8x9nOBNLIDE5wsH-WAZP6Kw0

www.brand.de. (2017). BRAND Online-Catalog:Lab equipment,lab supply. Retrieved June 5, 2017, from http://catalog.brand.de/index.php?encrypt=0&ID_O_TREE_GROUP=458&xtree=1&Language=Spanish&begin=0&start_infoblock=1