

Manual de Procedimientos de Bioseguridad



Instituto de Investigaciones Biomédicas



Universidad Nacional Autónoma de México

Comisión de Bioseguridad

Rafael Camacho Carranza

Clara Espitia Pinzón

Raúl Mancilla Jiménez

Erika Segura Salinas

Carlos Castellanos Barba

Recopilación: Carlos Castellanos Barba

ABREVIATURAS:

AGBIO Agente Biológico

INS Instalaciones

PA Procedimientos Administrativos

BSL Nivel de Bioseguridad

BSL-1 Nivel de Bioseguridad 1

BSL-2 Nivel de Bioseguridad 2

BSL-3 Nivel de Bioseguridad 1

BSL-4 Nivel de Bioseguridad 4

BS Bioseguridad

BSN1 Bioseguridad en Nivel 1

BSN2 Bioseguridad en Nivel 2

BSN3 Bioseguridad en Nivel 3

BSN4 Bioseguridad en Nivel 4

GR Grupo de Riesgo

GR1 Grupo de Riesgo 1

GR2 Grupo de Riesgo 2

GR3 Grupo de Riesgo 3

GR4 Grupo de Riesgo 4

GR5 Grupo de Riesgo 5

PEO Prácticas Estándares de Operación

EPP Equipo de Protección Personal

TML Técnicas Microbiológicas de Laboratorio

HEPA High Efficiency Particulate Air

CDC Centro de Prevención y Control de Enfermedades de E. U.

NIH Instituto Nacional de Salud de E. U.

OMS Organización Mundial de la Salud

IIB- UNAM Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM

CSB Cabina de Seguridad Biológica

IATA Asociación de Transporte Aéreo Internacional

OACI Organización de Aviación Civil Internacional

OGM Organismos Genéticamente Modificados

DNA Ácido desoxirribonucleico

CEG Campana de Extracción de Gases

PTFE Politetrafluoroetileno

PRESENTACIÓN

El “**Manual de Procedimientos en Bioseguridad**”, fue elaborado por la Comisión de Bioseguridad atendiendo lineamientos y recomendaciones existentes en la materia para el manejo de agentes biológicos descritos en la normatividad y reglamentación nacional; como ejemplo, en la “ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud”, publicado en el Diario Oficial de la Federación, México D. F., 3 de febrero de 1983 (<http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/compi/rlgsmis.html>); en el “Reglamento de Seguridad y Coordinación en Materia de Investigación para la Salud” en la U. N. A. M., de la Legislación Universitaria. CAPÍTULO 4. “DE LA BIOSEGURIDAD DE LAS INVESTIGACIONES”, México, 9 de febrero de 1989, (<http://www.ordenjuridico.gob.mx/Federal/OA/UNAM/Reglamentos/REGLAMENTO%2013.pdf>); la “ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados” (http://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/Ley_BOGM.pdf) y también se consultaron algunos planes, programas y procedimientos de Bioseguridad de la Secretaría de Salud, México, D. F. (<http://portal.salud.gob.mx/>); y de instituciones internacionales como la Organización Mundial de la Salud (<http://www.who.int/es/>); el Departamento de Servicios de Salud Humana del Centro de Prevención y Control de Enfermedades (CDC) (<http://www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/bmbl4/bmbl4toc.htm>); el Instituto Nacional de Salud de E. U. (NIH) (<http://www.nih.gov/>); y el Programa de garantía de bioseguridad, del Departamento de Estado de los Estados Unidos de Norteamérica (<http://www.bepstate.net>) entre otros.

PRESENTACIÓN

El “**Manual de Procedimientos en Bioseguridad**”, es un documento que establece reglas y estándares de bioseguridad que permiten el manejo adecuado y la reducción del riesgo biológico por exposición no intencional con material infeccioso, a niveles aceptables. En el “**Manual de Procedimientos de Bioseguridad**” se incluyen conceptos básicos para el análisis y determinación del riesgo biológico; la cultura de bioseguridad como un concepto amplio que involucra acciones de biocontención, protección del Personal y salvaguarda de los agentes infecciosos; las prácticas y protocolos de manejo implementados para prevenir la liberación accidental y exposición no intencional a los agentes biológicos, la implementación de tecnología en instalaciones para realizar el trabajo con equipo especializado y principios del diseño de laboratorios para ese fin, así como procedimientos administrativos entre otros aspectos. También se incluyen 5 capítulos que tratan sobre laboratorios de especial atención debido a las características, requerimientos y protocolos de bioseguridad para los agentes biológicos que en ellos se manejan, así los capítulos 14, 15, 16, 17 y 18 describen: Nivel de bioseguridad (BSL), agente biológico (Agbio), grupo de riesgo (GR) del Agbio, el equipo de protección personal (EPP), los protocolos y técnicas microbiológicas del laboratorio (TML), las prácticas estándares de operación (PEO), los procedimientos administrativos (PA) y las instalaciones (INS) del local.

El capítulo 14, se refiere al manejo de las especies del *complejo Mycobacterium tuberculosis*, por ser éste un microorganismo clasificado en el grupo de riesgo 3, con un nivel de contención de bioseguridad [BSL-3](#).

El capítulo 15, se avoca a las prácticas y procedimientos experimentales con el *virus de la Influenza humana AH1N1*, dentro de las instalaciones de contención **BSL-3**.

El capítulo 16, describe procedimientos prácticos con el *virus de la inmunodeficiencia humana* (**HIV por sus siglas en inglés**) para manejarse en el nivel **BSL-2*** en el IIB-UNAM.

El capítulo 17, está dedicado a las prácticas y procedimientos experimentales con el parásito *Trypanosoma Cruzi*, dentro de las instalaciones de contención **BSL-2** y también los requerimientos de bioseguridad para el insectario.

El capítulo 18, está orientado para describir prácticas y procedimientos experimentales con el *virus del Dengue*, dentro de las instalaciones de contención **BSL-2** y también los requerimientos para la bioseguridad en el manejo de mosquitos.

ANTECEDENTES:

Después de la aceptación de la “teoría microbiana de los gérmenes” y “las prácticas quirúrgicas higiénicas o asépticas”; se reconoció la naturaleza microbiana de algunas enfermedades; y con ello surge en forma paralela al avance científico, el interés por establecer diversas recomendaciones prácticas, guías de bioseguridad o seguridad biológica para la protección del personal, la contención, el manejo seguro de microorganismos y la salvaguardia de los agentes biológicos.

Los agentes etiológicos de las enfermedades, agente biológico y sus toxinas, fueron clasificados en 4 grupos de riesgo (Manual de Bioseguridad en el laboratorio, OMS, 3ª edición, 2005; (<http://www.who.int/es/>), de acuerdo con múltiples características relacionadas al potencial patogénico, virulento y toxigénico, modo de transmisión, dosis, tipo y gravedad de la enfermedad, la disponibilidad de tratamiento en caso de infección y la existencia de medidas preventivas como la vacunación, entre otras.

Existe una relación directa entre los **grupos de riesgo (GR)** y los niveles de bioseguridad (**BSL**) ya que ambos se combinan para desarrollar prácticas y **Procedimientos Estándares de Operación (PEO)**, **Técnicas Microbiológicas de laboratorio (TML)**, **equipo de protección personal (EPP)**, infraestructura e ingeniería de instalaciones para la biocontención acorde con las operaciones y el riesgo de los agentes infecciosos.

OBJETIVOS GENERALES:

El “Manual de Procedimientos de Bioseguridad” establece los lineamientos para cumplir con lo siguientes aspectos:

- El entrenamiento del personal y estudiantes para el manejo prudente del material biológico, y el control médico.
- La seguridad de las personas para evitar la exposición con agentes biológicos utilizando el [EPP](#).
- La Bioseguridad, entendiéndose como el conjunto de acciones que garantizan la biocontención mediante tecnologías, prácticas y protocolos de manejo implementados para prevenir la liberación accidental y la exposición no intencional de los agentes biológicos o sus toxinas.
- Las responsabilidades y obligaciones del grupo administrativo institucional y las obligaciones de las personas que trabajan con agentes biológicos.
- Las medidas y controles administrativos, para la restricción de entrada y tránsito de las personas y la biocustodia para establecer los niveles de salvaguardia de los agentes biológicos y reducir el riesgo de pérdida, robo, uso incorrecto, desviaciones o liberación intencional de patógenos o toxinas.
- Las acciones preventivas, los planes de contingencia y descontaminación; y la respuesta a emergencias en caso de incidentes o accidentes.
- Los protocolos y [PEO](#)
- El uso y mantenimiento de instalaciones y equipo, y los requerimientos en infraestructura e ingeniería.

- La recepción, manipulación, almacenamiento traslado y transporte de los agentes biológicos.
- El plan de manejo y la disposición de los RPBI (Residuos Peligrosos Biológico-Infeciosos)

CAPÍTULO 1



1. ANÁLISIS Y EVALUACIÓN DEL RIESGO BIOLÓGICO (DETERMINACIÓN, IDENTIFICACIÓN, CARACTERIZACIÓN Y ESTIMACIÓN)

La gestión profesional del riesgo es una actividad institucional que visualiza, el análisis y la evaluación de riesgo microbiológico y sus consecuencias de manera general y específica para cada tipo de agente, y debe ser efectuada por un grupo profesional en bioseguridad que de manera sostenible determine, identifique, caracterice y estime el riesgo inherente al manipular determinado agente biológico en el laboratorio.

En el contexto de los laboratorios microbiológicos y biomédicos, la evaluación del riesgo se concentra principalmente en la prevención de infecciones de laboratorio. Cuando se trate de actividades de laboratorio que involucren material infeccioso o potencialmente infeccioso, la determinación del riesgo representa un ejercicio crítico y productivo. Ayuda a asignar los niveles de bioseguridad (instalaciones, equipo y prácticas) que reducen al mínimo el riesgo de exposición del trabajador o del ambiente a un agente.

1.1 EVALUACIÓN DEL RIESGO MICROBIOLÓGICO Y DEFINICIONES

Con el fin de comprender mejor los conceptos de **riesgo** y **peligro** es importante definirlos ya que son términos de uso muy frecuente en áreas biomédicas, servicios de salud, seguridad laboral, industrial o la seguridad radiológica. El concepto de **peligro** se

encuentra claramente definido en toda una serie de acuerdos internacionales como todo agente de naturaleza química, física, microbiológica entre otros, que pueden causar daños, y la probabilidad de que esos daños se produzcan se considera genéricamente como *riesgo*. Los estudios y análisis encaminados a determinar la probabilidad de que un peligro determinado produzca daños concretos y la gravedad de éstos se definen como la **determinación del riesgo** y es la parte más científica del proceso; asimismo se subdivide en identificación y caracterización del peligro, determinación de la exposición y caracterización del riesgo.

La **identificación** consiste en indicar los agentes que pueden perjudicar a la salud y que pueden estar presentes, por ejemplo, en un alimento o grupo de alimentos.

La **caracterización** es la evaluación cualitativa y/o cuantitativa de los efectos perjudiciales para la salud que pueden tener los agentes. En el caso de los agentes químicos, es obligatorio determinar la relación entre el grado de exposición a un agente (dosis) y la gravedad y/o la frecuencia de los efectos perjudiciales asociados (respuesta). La traducción de este término, es determinación de la relación dosis-respuesta. Si se trata de agentes biológicos o físicos, ésta debe realizarse sólo si se dispone de los datos necesarios, cosa que no siempre ocurre.

La **determinación de la exposición** consiste en hacer una valoración cualitativa o cuantitativa de la ingestión probable de agentes a través de los alimentos o la exposición.

La **caracterización** es una valoración cualitativa y/o cuantitativa, basada en los tres elementos anteriores y con las incertidumbres inherentes, de la probabilidad de incidencia y la gravedad de los efectos perjudiciales conocidos o potenciales sobre un grupo de población determinado. El resultado final de esta fase es lo que se denomina **estimación**

del riesgo, que idealmente debería consistir en un valor numérico pero que, debido a las incertidumbres inherentes al proceso (insuficiencia de datos sobre una sustancia, sobre la relación dosis-respuesta en seres humanos, entre otros), suele concretarse en un informe más o menos extenso donde se indica cualitativamente la naturaleza y la gravedad de los efectos debidos a un grado determinado de exposición al peligro.

La evaluación del riesgo deben ser efectuadas por el personal que mejor conozca las características peculiares de los organismos que se van a emplear, el equipo y los medios de contención disponibles. El responsable del laboratorio debe realizar las evaluaciones del riesgo y de colaborar estrechamente con el comité de bioseguridad de la institución con el fin de que se tengan disponibles el equipo y los medios apropiados para el trabajo planeado. Las evaluaciones del riesgo deben consultarse y revisarse periódicamente y atender cualquier dato que tenga alguna influencia en el grado de riesgo y nueva información que aparezca en las publicaciones científicas.

La herramienta más útil para la evaluación del riesgo microbiológico es la clasificación de los agentes biológicos en grupos de riesgo (GR). Sin embargo, la consulta de estos GR no basta para obtener la información necesaria que permita la evaluación. Es importante tener en cuenta los siguientes factores: La patogenicidad; la dosis infectiva; el resultado potencial de la exposición; la vía natural de infección y la vía derivada de manipulaciones en el laboratorio por ejemplo parenteral, aérea, e ingestión; la estabilidad del agente en el ambiente; la concentración del agente y el volumen del material concentrado; el huésped apropiado (personas o animales); la información disponible procedente de estudios en animales y de notificaciones clínicas de infecciones adquiridas; la actividad prevista en el laboratorio como el tratamiento de muestras en procedimientos que producen y liberan

aerosoles, como ultrasonido, centrifugación, entre otras; la manipulación genética de microorganismos que pueda ampliar su gama de huéspedes o su sensibilidad, resistencia a drogas terapéuticas eficaces conocidas; disponibilidad de intervenciones profilácticas o terapéuticas eficaces entre otros. Sobre la base de la información obtenida del estudio de riesgo y su evaluación, se podrá **asignar un nivel de bioseguridad** al trabajo planeado de cada laboratorio, seleccionar el equipo de protección apropiado para el personal del laboratorio, y elaborar protocolos y PEO que incorporen los procedimientos para desinfección, descontaminación e intervenciones en caso de contingencia microbiológica.

El riesgo de contraer enfermedades infecciosas no se restringe al personal que presta servicios en centros de salud, se ha demostrado que el riesgo de adquirir una infección en el entorno de un laboratorio en donde se manipulan agentes patógenos, es mayor que en otros lugares alejados del mismo; la adquisición de infecciones asociadas a laboratorios no solo repercute en el personal que trabaja con microorganismos sino también en la comunidad y medio ambiente. Las vías más frecuentes de exposición a los microorganismos son los incidentes y accidentes con objetos punzocortantes (autoinoculaciones), picaduras y mordeduras de animales, la inhalación de aerosoles que se producen y liberan en las manipulaciones, el contacto de membranas mucosas con material infectado y la ingestión accidental. La enfermedad adquirida con mayor frecuencia en los laboratorios y otros grupos de riesgo es la hepatitis B, causada principalmente por la manipulación de productos sanguíneos, por ello es prioritario y esencial cumplir con las buenas prácticas del laboratorio y PEO; mantener la vigilancia de la seguridad y salud ocupacional del personal, informarse, y asumir las conductas responsables y prudentes en todo tipo de manipulaciones

con material biológico (véase Agentes Biológicos en “Seguridad para los Laboratorios Biomédicos. Lineamientos, Prevención y Protección”).

Muestras para las que se dispone de información limitada

El procedimiento de evaluación del riesgo antes descrito funciona bien cuando se dispone de información suficiente en el caso de muestras bien caracterizadas; sin embargo, en algunas situaciones no hay información suficiente, como ocurre con las muestras clínicas o epidemiológicas obtenidas. En esos casos, conviene que la manipulación de esas muestras se realice con prudencia y siempre utilizando EPP como guantes, batas, protección ocular; adoptar precauciones normalizadas en las PEO; utilizar prácticas y procedimientos básicos de contención del nivel de bioseguridad para la manipulación de esas muestras; el transporte de esas muestras debe respetar las normas y reglamentos nacionales o internacionales. Manipular en el nivel de bioseguridad adecuado cuando se disponga de información que ayude a determinar el riesgo de manipular de esas muestras (datos médicos, epidemiológicos, origen geográfico de la muestra, entre otros).

CAPÍTULO 2

2.0 CRITERIO PARA CLASIFICACIÓN DE AGENTES BIOLÓGICOS POR GRUPOS DE RIESGO

Para cumplir con lineamientos de bioseguridad, los microorganismos han sido clasificados por agencias de algunos países dentro de distintos **GR**. La clasificación ha estado basada en factores característicos de cada microorganismo, por lo que la clasificación de un agente etiológico determinado no difiere, en la mayoría de los casos de una agencia a otra. Las clasificaciones más reconocidas son: la comprendida dentro de los Lineamientos de Bioseguridad en Laboratorios de Canadá (<http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/lbg-ldmbl-04/ch2-eng.php#jmp-lan21>); la establecida por el Centro de Control de Enfermedades estadounidense (CDC), la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la dictada por la Comunidad Económica Europea (http://www.biosafety-europe.eu/d20public_300309.pdf) (Directive 93/88EEC, Oct., 1993). **En la TABLA 2 (ANEXOS)** se enlistan los agentes biológicos por **GR** reproducidos del Manual de Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos, 5ª edición 2007, CDC/NIH.

2.1 GRUPOS DE RIESGO DE MICROORGANISMOS (AGENTES BIOLÓGICOS)

GRUPO DE RIESGO 1 (GR1):

Microorganismos que representan escaso riesgo para el individuo y la comunidad, tienen pocas probabilidades de provocar enfermedades en el ser humano o los animales por ejemplo agentes como: *Naegleria gruberi*, *Bacillus subtilis*, entre otros.

GRUPO DE RIESGO 2 (GR2):

Microorganismos que representan riesgo moderado para el individuo y limitado o bajo para la comunidad; pueden provocar enfermedades humanas o animales pero tienen bajas 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 por ejemplo existe disponibilidad de tratamiento y medidas preventivas y el riesgo de diseminación está limitado, por ejemplo agentes como; *Micobacterium* (excepto *M. Boris* y *M. tuberculosis*), *Helicobacter*, *Salmonella*, *E. coli*, *Shigella*, *Streptococcus*, *Staphilococcus*, *HIV*, *virus de la hepatitis A, B, C, D y E*, entre otros.

GRUPO DE RIESGO 3 (GR3):

Microorganismos que representan riesgo elevado para el individuo y escaso para la comunidad; usualmente causan enfermedades serias a humanos y animales que resultan en importantes consecuencias económicas, la diseminación no es ordinaria y depende del contacto casual de un individuo a otro, puede haber disponibilidad de medidas preventivas y terapéuticas eficaces, por ejemplo agentes como; *Micobacterium tuberculosis*, *M. bovis*, *M. leprae*, *Histoplasma capsulatum*, *virus de la Influenza incluyendo HPAI (H7 y H5)*, *virus del Nilo*, entre otros.

GRUPO DE RIESGO 4 (GR4):

Microorganismos que representan riesgo elevado para el individuo y para la comunidad; causa serias infecciones a humanos o animales, en ocasiones sin tratamiento y puede transmitirse fácilmente de un individuo a otro, o de un animal a humano o viceversa directa o indirectamente o por contacto casual; normalmente no existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces, por ejemplo agentes como; Ebola, Hanta, virus de la rabia de murciélagos, Nipah, Junin, entre otros.

GRUPO DE RIESGO 5 (GR5):

Agentes que desarrollan enfermedades que no están reportadas en el país (exóticas); su introducción y presencia están reglamentadas por leyes sanitarias locales, por ejemplo agentes como; Enfermedad de Aujeszky, CAE, virus de la hepatitis en patos, Nairobi, enfermedad Teschen, virus serotipo BT, enfermedad del caballo africano, entre otros.

CAPÍTULO 3



3. NIVELES DE BIOSEGURIDAD (BSL) Y BIOCONTENCIÓN

Los niveles de bioseguridad se basan en la combinación de características de diseño, construcción, medios de contención, equipo, prácticas, y procedimientos de operación necesarios para trabajar con agentes patógenos o potencialmente patógenos de los distintos grupos de riesgo, se clasifican en 4 niveles (BSL por sus siglas en inglés BioSafety Level) **BSL-1** o **laboratorio básico 1**, **BSL-2** o **laboratorio básico 2**, **BSL-3** o **laboratorio de contención 3** y **BSL-4** o **laboratorio de contención máxima 4**. Los GR no se equiparan con los niveles de bioseguridad de los laboratorios destinados al trabajo con los agentes biológicos de cada uno de esos grupos (Manual de Bioseguridad en el laboratorio, OMS, 3ª edición, 2005; (<http://www.who.int/es/>).

LOS GRUPOS DE AGENTES DE RIESGO ≠ NIVELES DE BIOSEGURIDAD

3.1 LABORATORIO BÁSICO BSL-1

Los agentes biológicos que se utilizan en este tipo de laboratorio son microorganismos de muy bajo potencial patogénico, se manipulan con prácticas y técnicas microbiológicas básicas.

3.1.1 Requerimientos del laboratorio BÁSICO BSL-1

El laboratorio básico BSL-1 debe estar acondicionado para trabajar con microorganismos de nivel 1, que son aquellos que están bien caracterizados y se sabe que no causan enfermedad en las personas sanas y por ende, no representan un riesgo para el personal del laboratorio y del medio ambiente. Este laboratorio no necesita un área aislada, no requiere de equipo ni de instalaciones especiales de contención, el trabajo con estos microorganismos se puede realizar en un laboratorio de investigación convencional, siguiendo las prácticas estándares de microbiología.

BIOSEGURIDAD EN NIVEL 1 (BSN1)

3.1.2 Instalaciones e ingeniería en BSN1

El laboratorio debe contar con un lavamanos.

El laboratorio debe estar diseñado de tal manera que pueda limpiarse con facilidad. Los pisos de mosaico no son apropiados ya que impedirían la descontaminación después de cualquier derrame o salpicadura.

Las mesas de trabajo deben ser impermeables al agua y resistentes a solventes orgánicos, ácidos, álcalis y al calor moderado.

Los equipos de laboratorio deben estar espaciados con el fin de facilitar el acceso a las operaciones de limpieza, dicho acceso tampoco deberá estar obstaculizado por materiales o cajas.

Equipo especial para confinamiento en BSN-1

No se requiere cabina de Bioseguridad

3.1.4 Procedimientos administrativos, PEO y Buenas prácticas del laboratorio en BSN1

El acceso al laboratorio debe ser controlado por el responsable del mismo.

Todos los investigadores deben lavarse las manos después de manipular material biológico o animales, así como antes de salir del laboratorio.

No se permite comer, beber, fumar ni maquillarse dentro del área de trabajo. Los alimentos deben de ser almacenados en lugares o refrigeradores asignados únicamente para este propósito.

El pipeteo debe ser realizado con instrumentos mecánicos (propipeta, pipeta automática) y nunca por medio de la boca.

Se debe tratar de reducir al máximo la producción y liberación de aerosoles, evitando: agitaciones y pipeteo bruscos, introducción de asas de cultivo calientes dentro de medios de cultivo, etcétera.

Las áreas de trabajo deben ser descontaminadas una vez al día, así como después de cualquier derrame de material biológico.

Los desechos sólidos o líquidos con material biológico deben ser descontaminados por medio de un procedimiento apropiado antes de ser eliminados (esterilización en autoclave o

inmersión en desinfectantes apropiados). Si el autoclave no se encuentra disponible, los desechos a descontaminar por esta vía, deben ser etiquetados debidamente y colocados en un sitio específico hasta su esterilización.

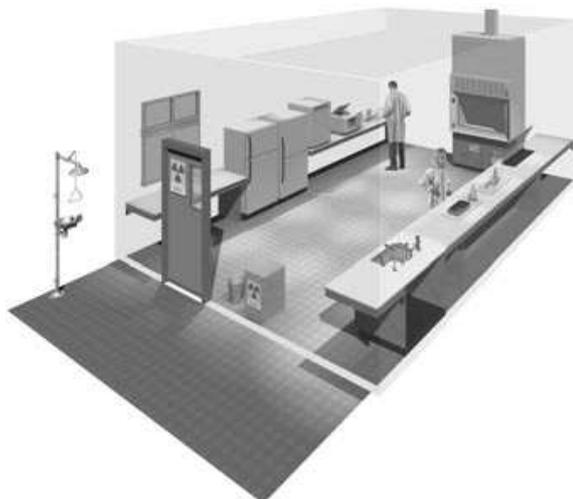
3.1.4 Uso de EPP en BSN1

Es necesario el uso de batas y guantes con el fin de evitar la contaminación de ropa personal de calle. Está prohibido el uso de prendas de laboratorio en lugares como: oficinas administrativas, salas de reuniones o biblioteca.

Debe existir un programa de fumigación periódico.

Procedimientos específicos en BSN1

Todo material contaminado que deba salir del laboratorio para su descontaminación (por autoclave o incineración) debe ser colocado dentro de bolsas especiales debidamente cerradas y etiquetadas. Una cinta testigo deberá ser colocada como indicativo de esterilización.



Laboratorio de Bioseguridad BSL-1

Figura tomadas del Manual de Bioseguridad en el laboratorio, OMS, 3ª edición, 2005;

(<http://www.who.int/es/>)

LABORATORIO BÁSICO BSL-2

3.2 LABORATORIO BÁSICO NIVEL **BSL-2**

Agentes que presentan un *riesgo moderado* para el trabajador (la enfermedad resulta de autoinoculaciones, ingestiones o exposiciones de membranas mucosas, o bien debido a inmunodepresión). Su diseminación en el medio ambiente es poco probable y existe tratamiento o medidas preventivas contra la infección generada.

3.2.1 Requerimientos del laboratorio BSL-2

El personal de laboratorio debe contar con el entrenamiento específico en los procedimientos que se llevan a cabo y deberá ser supervisado por científicos especializados en el área. El acceso al laboratorio se restringirá cuando se esté desarrollando algún trabajo, se debe tomar precauciones extremas con objetos punzocortantes contaminados, así como con los procedimientos en los cuales se pueda crear aerosoles infecciosos o salpicaduras, los cuales deberán ser realizados en una cabina de seguridad biológica (CSB) o en algún otro equipo de contención física. El personal que trabaja en este laboratorio deberá estar

entrenado en el manejo de agentes patógenos y el laboratorio deberá ser dirigido por personal experimentado, con entrenamiento específico en el área.

MEDIDAS DE CONTENCIÓN SEGÚN NIVELES DE SEGURIDAD

	NIVEL DE BIOSEGURIDAD		
MEDIDAS DE CONTENCIÓN	2	3	4
Aislamiento ^a del laboratorio	No	Sí	Sí
Ventilación:			
- Flujo de aire hacia el interior	Conveniente	Sí	Sí
- Sistema de ventilación controlada.	Conveniente	Sí	Sí
- Salida de aire con HEPA	No	Sí /No ^b	Sí
Solamente se permitirá el acceso al personal designado	Aconsejable	Sí	Sí, con esclusa de aire
El lugar de trabajo deberá poder cerrarse herméticamente para permitir su desinfección	No	Si	Sí
Procedimientos de desinfección específicos	Sí	Sí	Sí
El lugar de trabajo se mantendrá con una presión negativa respecto a	No	Si	Sí

la presión atmosférica			
Tratamiento de efluentes	No	Sí/No ^c	Sí
Superficies impermeables al agua y de fácil limpieza	Sí, para banco de pruebas y mesa de trabajo	Sí, para banco de pruebas, mesa de trabajo y suelo	Sí, para banco de pruebas, mesa de trabajo, suelo, paredes y techos
Autoclave:			
- En el local	Conveniente	Sí	Sí
- En la sala de trabajo	No	Conveniente	Sí
- De doble puerta	No	Conveniente	Sí
Almacenamiento de seguridad para agentes biológicos	Sí	Sí	Sí, almacenamiento seguro
Ventanilla de observación	Aconsejable	Aconsejable	Sí
Laboratorio con equipo propio	No	Aconsejable	Sí
El material infectado, animales incluidos, deberá manejarse en una cabina de seguridad biológica o en un aislador u otra contención apropiada.	Cuando proceda	Si, cuando la infección se propague por el aire	Sí
Incineración de animales muertos.	Aconsejable	Sí	Sí, en el mismo lugar

a Aislamiento ambiental y funcional respecto del tráfico general.

b Según la localización de la salida

c Según los agentes biológicos empleados en el laboratorio

BIOSEGURIDAD EN NIVEL 2 (BSN2)



3.2.2 Instalaciones e ingeniería en BSN2

El laboratorio debe contar con un lavamanos, puerta con mirilla, cerraduras y símbolo y signo internacional de PRECAUCIÓN RIEGO BIOLÓGICO (para GR2 o superior).

El laboratorio debe estar diseñado de tal manera que pueda limpiarse con facilidad. Los pisos de mosaico no son apropiados ya que impedirían la descontaminación después de cualquier derrame o salpicadura.

Las mesas de trabajo deben ser impermeables al agua y resistentes a solventes orgánicos, ácidos, álcalis y al calor moderado.

Los equipos de laboratorio deben estar espaciados con el fin de facilitar el acceso a las operaciones de limpieza.

Si el laboratorio tiene ventanas abiertas (no recomendado), éstas deben estar cubiertas con mosquiteros.

Debe contarse con un método para la descontaminación de desechos cerca del laboratorio (como autoclave o incinerador).

3.2.3 Equipo especial para confinamiento en BSN2

Cabina de seguridad biológica (CSB), de preferencia de tipo II; todo procedimiento con potencial para crear aerosoles debe ser ejecutado dentro de CSB. Se producen aerosoles en los procesos de: centrifugación, mezclado, sonicación, agitación vigorosa, apertura de frascos o viales con material infeccioso y cuya presión interna sea diferente a la atmosférica, apertura de frascos con microorganismos liofilizados, inoculación de animales, cosecha de material infeccioso a partir de animales, extracción de huevecillos parasitarios. La centrifugación de grandes volúmenes puede ser realizada fuera de gabinetes de seguridad, siempre que se use rotores con canastillas herméticamente selladas o botellas de centrífuga con tapón de rosca, mismos que serán abiertos únicamente dentro del gabinete de seguridad.

3.2.4 Uso de EPP en BSN2

Protección facial (anteojos, caretas, cubrebocas, y máscaras quirúrgicas,). Utilizada para prevenir el contacto con salpicaduras de material peligroso en la cara, cuando los microorganismos sean manipulados fuera del gabinete de seguridad.

Batas, cofias, o trajes completos para protección a ropa. Deben ser utilizados todo el tiempo dentro del laboratorio, y esterilizados antes de ser enviados a la lavandería.

Guantes. Deben ser empleados al manipular animales infectados y cuando exista la posibilidad de contacto con material infectado, o con superficies o equipo contaminados. El uso de doble guante en cada mano puede ser útil, al permitir manipular sin interrupción cuando un guante debe ser cambiado después de una contaminación eventual. Los guantes no deben nunca ser usados fuera del laboratorio. Si son desechables, no deben ser lavados y reutilizados.

3.2.5 Procedimientos administrativos, PEO y Buenas prácticas del laboratorio en BSN2

El acceso al laboratorio debe ser controlado, según instrucciones del investigador responsable, en particular mientras se esté realizando experimentos.

Todo el personal debe lavarse las manos después de manipular material biológico o animales, así como antes de salir del laboratorio.

No se permite comer, beber, fumar ni maquillarse dentro del área de trabajo. Los alimentos deben de ser almacenados en lugares o refrigeradores sólo asignados para este propósito.

El pipeteo debe ser realizado con instrumentos mecánicos y nunca por medio de la boca.

Se debe tratar de reducir al máximo la producción de aerosoles, evitando: agitaciones, pipeteos bruscos, la introducción de asas de cultivo calientes dentro de medios de cultivo, entre otras prácticas.

Las áreas de trabajo deben ser tratadas con desinfectante una vez al día, así como después de cualquier derrame de material biológico.

Los desechos sólidos o líquidos con material biológico deben ser descontaminados por medio de un procedimiento apropiado antes de ser eliminados (esterilización en autoclave, incineración, inmersión en desinfectantes). Los desechos a descontaminar fuera del laboratorio deben ser debidamente envueltos, etiquetados, y colocados en un sitio confinado hasta su esterilización.

Debe existir un programa de fumigación periódico.

3.2.6 Procedimientos específicos en BSN2

El jefe de laboratorio debe designar al personal autorizado para realizar los diferentes procedimientos dentro de un laboratorio con nivel de seguridad 2, así como responsabilizarse de su correcta capacitación. Las personas con susceptibilidad de adquirir la infección o que esta le resulte peligrosa, no deberán recibir autorización para el manejo de agentes infecciosos ni de animales infectados.

Cuando se requiera precauciones especiales dentro del laboratorio, a causa del tipo de manipulación que se realiza (inmunización, por ejemplo), debe colocarse en la puerta de entrada un aviso indicativo, con el símbolo internacional de riesgo biológico y que indique el tipo de manipulación, el microorganismo, el nombre del responsable del experimento y los requerimientos para entrar al laboratorio.

Es indispensable que el personal use bata en el laboratorio, y está absolutamente prohibido salir con ella a lugares como: oficinas administrativas, biblioteca y salas de reuniones.

No se permite la presencia de animales o de plantas no relacionados con el trabajo dentro del laboratorio.

El uso de guantes es recomendable para evitar contaminación en la piel con material biológico viable.

El uso de agujas hipodérmicas y jeringas está restringido sólo para aquellas operaciones en donde no existan otras alternativas (inyección y aspiración de fluidos de animales de laboratorio); todas las jeringas y las agujas deben ser descartadas de inmediato dentro de recipientes de plástico, esterilizadas, y nunca deberá reutilizarse una misma jeringa con otra aguja.

Se pueden utilizar asas de siembra de plástico desechables, también incineradores eléctricos de asas dentro de la [CSB](#) para reducir la formación de aerosoles; frascos y tubos con tapón

de rosca. Son recomendables las Pipetas Pasteur de plástico desechable, en sustitución de las de vidrio.

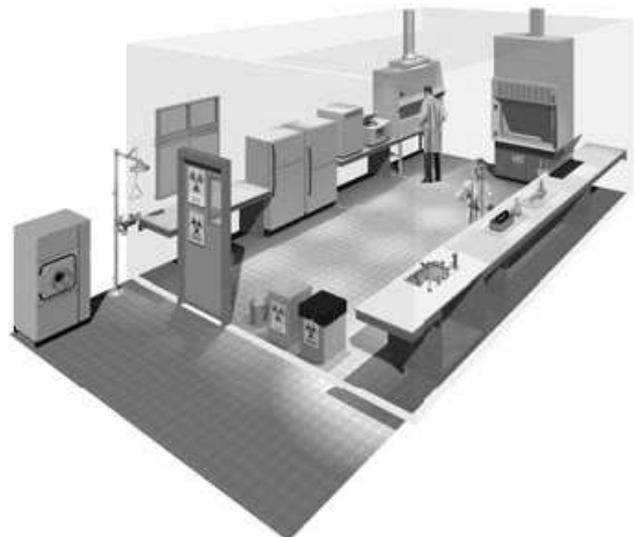
Cuando ocurra la contaminación de algún material o equipo de laboratorio, éste debe ser descontaminado de inmediato.

Cualquier accidente que resulte en la exposición del organismo debe ser reportado al responsable del laboratorio, quien se encargará de supervisar que la evaluación médica y el tratamiento necesario sean proporcionados, y debe llevar un expediente con estos datos.

Si existen, se realizarán periódicamente las inmunizaciones y/o pruebas necesarias para el diagnóstico de la infección provocada por el microorganismo en experimentación.

El manual de procedimientos en bioseguridad debe ser seguido por el personal. Los miembros del laboratorio deberán conocer los riesgos particulares a los que se exponen y seguir las instrucciones sobre las prácticas de laboratorio.

3.2.7 Reglamento y protocolos, PEO en BSN2



Laboratorio de Bioseguridad BSL-2

Figura tomada del Manual de Bioseguridad en el laboratorio, OMS, 3ª edición, 2005;

(<http://www.who.int/es/>)

3.3 LABORATORIO DE CONTENCIÓN BSL-3

Agentes que producen enfermedad seria o potencialmente letal como resultado de su infección. Presentan un riesgo de transmisión elevado para el trabajador, pero bajo para la comunidad. Los agentes son patógenos estrictos y puede haber disponibilidad de tratamiento.

El laboratorio está habilitado para trabajar con microorganismos del grupo de riesgo 3, así como con grandes volúmenes o concentraciones de microorganismos del grupo de riesgo 2, por entrañar un mayor riesgo de difusión de aerosoles.

Prácticas específicas en el laboratorio de contención BSL-3

El símbolo y signo internacional de advertencia de peligro biológico colocado en puertas de acceso al laboratorio, debe especificar el nivel de bioseguridad.

En el laboratorio se debe llevar EPP como guantes, ropa protectora apropiada, (batas sin abertura delantera o envoltentes y con mangas que cubran por completo los antebrazos, trajes de dos piezas de tipo pijama, cubre pelo, cubrezapato. La ropa de laboratorio no debe usarse fuera de éste y debe descontaminarse en autoclave antes de enviarla a la lavandería.

Toda manipulación con el agente biológico debe realizarse dentro de la CSB.

Es necesario utilizar equipo de protección respiratoria para ciertos procedimientos de laboratorio o para el trabajo con animales que estén infectados con ciertos agentes patógenos.

3.3.1 Requerimientos del laboratorio BSL-3



BIOSEGURIDAD EN NIVEL 3 (BSN3)

Instalaciones e ingeniería en BSN3

El laboratorio debe estar aislado de las áreas comunes al personal por medio de un vestíbulo o zona de acceso controlado a través de un mínimo de dos puertas, destinado a mantener la diferencia de presiones entre el laboratorio y el espacio adyacente, dicha zona de acceso funcionará como vestidor. El vestíbulo debe contar con una zona para separar la ropa limpia de la sucia, y también puede ser necesaria una ducha. Las dobles puertas de acceso al laboratorio deben ser de cierre automático y disponer de un mecanismo de interbloqueo, de modo que sólo una de ellas esté abierta al mismo tiempo.

Las superficies de las paredes, suelos y techos deben ser impermeables y fáciles de limpiar. Todas las aberturas existentes en esas superficies (tuberías de servicio) deben estar obturadas para facilitar la descontaminación del local.

Las mesas de trabajo deben ser impermeables al agua y resistentes a ácidos, álcalis, solventes orgánicos, y al calor moderado.

Los sistemas de conducción de aire han de estar contruidos de modo que sea factible la descontaminación con gases.

Cualquier ventana debe estar cerrada herméticamente y llevar cristales resistentes a la rotura.

En las puertas de salida del laboratorio habrá un lavabo de funcionamiento automático que no necesite ser accionado con la mano, así como un lavaojos.

Debe haber un sistema de ventilación que establezca un flujo direccional hacia el laboratorio; Se instalará un dispositivo visual o electrónico con alarma, para que el personal pueda comprobar en todo momento que la corriente de aire circula en el sentido deseado. Esto se logra manteniendo depresiones barométricas dentro del laboratorio y del vestidor, que pueden ser verificadas mediante manómetros.

Los equipos de laboratorio deben estar espaciados, de tal modo que el acceso a las operaciones de limpieza sea posible.

El sistema de ventilación del edificio debe estar contruido de modo que el aire del laboratorio de contención BSL-3 no se dirija a otras zonas del edificio. El aire puede ser filtrado por un sistema [HEPA](#) (por sus siglas en inglés [High Efficiency Particulate Air](#)), acondicionado dentro del laboratorio. El aire no debe ser recirculado a otra área del edificio, sino descargado hacia el exterior, en la parte superior del edificio (azotea) y en un área estrictamente alejada de la circulación de personas o animales, lo anterior, previa filtración [HEPA](#). Puede instalarse un sistema de control de la calefacción, la ventilación y el aire acondicionado para impedir una presión positiva sostenida en el laboratorio.

Todos los filtros [HEPA](#) deberán estar instalados de modo que permitan la descontaminación con gases y la realización de pruebas.

El aire proveniente de filtros de campanas de seguridad biológica debe ser descargado hacia el exterior del edificio o recirculado a condición de que la campana sea certificada periódicamente. La salida de aire de las campanas no debe interferir con la ventilación del laboratorio.

Dentro del laboratorio de contención debe haber una autoclave de doble puerta para ingresar por una puerta el material de desecho infectado y por la otra se retira ya descontaminado. Para disponer los RPBI (Residuos Peligrosos Biológico-Infeciosos) es necesario colocarlos dentro de bolsas etiquetadas con el símbolo de riesgo biológico e introducirlos en recipientes para transportarlos a su destino final de acuerdo con la norma nacional; NORMA Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo.

Las líneas de vacío deben estar protegidas con sifones y filtros de alta eficiencia (tipo HEPA), y con trampas conteniendo líquido desinfectante. Estas últimas deben renovarse periódicamente.



Los efluentes de salida al drenaje deben tratarse con trampas de desinfección.

Un sistema de intercomunicación puede ser instalado con el fin de facilitar la comunicación entre el laboratorio y el exterior; sistema de detección contraincendio con alarmas para evacuar en caso de emergencia.

3.3.2 Equipo especial para confinamiento en BSN3

CBS (clases II ó III, según el organismo) para toda manipulación de material infeccioso.

3.3.3 Uso de EPP en BSN3

Trajes especiales completos para protección de ropa, mascarillas quirúrgicas, respiradores N95, N100, siempre en combinación con equipos de contención adecuados - cajas para contención de animales, rotores de centrífuga sellados, botellas de centrífuga con tapón de rosca, etcétera.

Protección facial (lentes, careta, cubrebocas, mascarillas quirúrgicas). Utilizados cuando los microorganismos sean manipulados fuera del gabinete de seguridad para prevenir el contacto con salpicaduras de material peligroso en la cara.

Protección respiratoria (respiradores con filtros de alta eficiencia N95, N100). Debe usarse siempre que los aerosoles no puedan ser contenidos (es decir, fuera de gabinetes de seguridad), y en recintos con animales infectados.

Trajes, cofias, o uniformes de cuerpo entero. ropa protectora apropiada, (batas sin abertura delantera o envolventes y con mangas que cubran por completo los antebrazos, trajes de dos piezas de tipo pijama, cubre pelo, cubrezapato deben ser utilizados todo el tiempo dentro del laboratorio, y esterilizados antes de ser enviados a la lavandería. Este vestuario nunca debe ser usado fuera del laboratorio.

Guantes. Deben ser empleados al manipular animales infectados y cuando exista la posibilidad de contacto con material infectado, o con superficies o equipo contaminados. Los guantes no deben nunca ser usados fuera del laboratorio. Si son desechables, no deben ser lavados y reutilizados.

3.3.4 Procedimientos administrativos, PEO y Buenas prácticas del laboratorio en BSN3

El acceso al laboratorio debe estar limitado y restringido mientras algún experimento esté en marcha. En general, el número de personas dentro de este tipo de laboratorio no debe ser superior al número de gabinetes de seguridad biológica + 1.

En la puerta de entrada debe colocarse un aviso con el símbolo internacional de riesgo biológico y que indique el tipo de microorganismo, el nombre del responsable, su teléfono y los requerimientos para entrar al laboratorio.

Las mesas de trabajo serán descontaminadas con un desinfectante apropiado al menos una vez al día y después de cada experimento o de cualquier derrame de material viable.

Debe especificarse un protocolo para casos de incidentes y accidentes con el agente biológico.

Todos los líquidos o desechos sólidos contaminados deberán desinfectarse apropiadamente dentro del laboratorio.

Se usará siempre pipetas mecánicas. El pipeteo con la boca está prohibido.

No está permitido comer, beber líquidos, fumar, almacenar comida, o maquillarse dentro del área de trabajo.

El personal lavará sus manos después de manipular el material o los animales, así como al salir del laboratorio.

Todo procedimiento debe ser realizado de tal modo que se controle y disminuya la formación y liberación de aerosoles. Debe evitarse, por ejemplo, manipulaciones como la inmersión de asas o agujas calientes en un cultivo, flamear asas o agujas. Deben evitarse también la salida violenta de fluidos a partir de pipetas o de jeringas.

No se permite la entrada al laboratorio a personas menores de 18 años.

Todo experimento con otros organismos que requieran nivel de seguridad inferiores, pero realizados en el laboratorio BSL- 3, debe efectuarse de acuerdo con el reglamento.

Debe existir un programa de fumigación periódico.

3.3.5 Procedimientos específicos en BSN3

Las puertas del laboratorio deben mantenerse cerradas durante las manipulaciones.

El acceso al laboratorio está restringido a las personas cuya presencia sea requerida y sólo al personal autorizado, el que estará registrado en un directorio junto al acceso del laboratorio.

Las personas con alto riesgo de adquirir la infección o para quienes la infección resulte peligrosa no deberán recibir autorización para el manejo de agentes infecciosos ni de animales infectados.

Sólo el personal que haya adquirido los conocimientos sobre el riesgo, protocolos y las PEO del laboratorio podrá ser autorizado. Los individuos en proceso de aprendizaje no podrán entrar solos a las áreas restringidas.

Todos los experimentos que impliquen el uso de material infectado deben ser efectuados en CSB. No se permite manipular en recipientes abiertos con material infectivo sobre mesas de trabajo.

La superficie de la **CSB** debe ser descontaminada después de cada trabajo y seguir el protocolo en caso de que se presente algún derrame de material biológico.

Es importante asegurar la descontaminación de campanas antes de cualquier reparación o mantenimiento.

La ropa de laboratorio (obligatoria dentro del mismo) no debe salir del laboratorio sin ser descontaminada antes de su lavado normal.

Deben tomarse todas las precauciones necesarias para evitar contaminaciones en la piel; el manejo de animales infectados o experimentos similares requieren el uso de guantes apropiados.

Deben utilizarse respiradores con filtros de alta eficiencia [N95](#), [N100](#) al trabajar en procedimientos específicos y con animales infectados.

No se permite la presencia de animales o de plantas no relacionados con el trabajo dentro del laboratorio.

Los animales de laboratorio que requieran nivel de seguridad 3 deben estar contenidos en sistemas especiales de jaulas ventiladas individualmente con filtración de alta eficiencia (HEPA) unidades.

Todos los materiales o animales deben ser descontaminados antes de su disposición final (desecho). Estos residuos deben ser colocados dentro de bolsas especiales a fin de ser esterilizados en autoclave o incinerados (si se trata de animales). Una cinta testigo debe ser colocada como indicativo de esterilización.

El equipo que requiera reparación deberá ser descontaminado antes de que el servicio sea efectuado.

El uso de jeringas y agujas se permite sólo para la realización de inyecciones parenterales y para la aspiración de fluidos a partir de animales de laboratorio o de recipientes sellados con un diafragma. Solo se usará jeringas y agujas desechables.

La utilización de agujas debe hacerse con máxima precaución con el fin de evitar una autoinoculación o la producción de aerosoles.

Cualquier accidente que resulte en la exposición del Personal debe ser reportado al responsable del laboratorio, quien a su vez notificará a la Comisión de Bioseguridad y llevará una bitácora con las evaluaciones médicas del personal, supervisión, accidentes, etcétera.

En caso de estar disponibles, se realizará periódicamente las pruebas necesarias para el diagnóstico de la infección provocada por el microorganismo en experimentación.

Debe prepararse un reglamento con protocolos y PEO para cada laboratorio de nivel 3. Los miembros del personal deberán estar prevenidos e informados sobre los riesgos particulares a los que se exponen y leer las instrucciones sobre las prácticas de laboratorio. La conducta a seguir en casos de accidente debe estar claramente anunciada dentro del laboratorio.

3.3.6 Reglamento y protocolos de los PEO en BSN3

Se debe elaborar y documentar el reglamento, los procedimientos y protocolos de trabajo del laboratorio de contención BSL-3.

3.3.7 Vigilancia médica y sanitaria

El reconocimiento médico de todo el personal que trabaja en el laboratorio de contención BSL-3 es obligatorio y debe comprender una historia clínica detallada y con especial reconocimiento en la actividad laboral y con estudios especiales enfocados en el diagnóstico y tratamiento del agente biológico que se manipula.

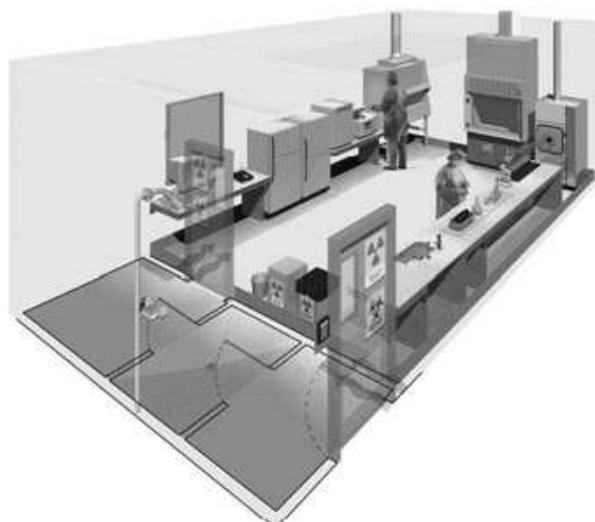


Figura tomada del Manual de Bioseguridad en el laboratorio, OMS, 3ª edición, 2005;

(<http://www.who.int/es/>)

3.4 LABORATORIO DE CONTENCIÓN MÁXIMA BSL-4

Agentes que presentan un *riesgo de infección elevado y frecuentemente mortal, tanto para el trabajador como para la comunidad*. No se dispone de tratamientos contra la infección.

El laboratorio está concebido para trabajar con microorganismos del GR4. Antes de construir y poner en funcionamiento un laboratorio de **contención máxima BSL-4** se requiere consultar con instituciones que tengan experiencia en la utilización de este tipo de instalaciones. El laboratorio de máxima contención máxima BSL-4 debe estar controlado por autoridades sanitarias nacionales. La información que sigue tiene como propósito servir solamente como material de presentación.

Prácticas específicas para laboratorio de **contención máxima BSL-4**

Las prácticas específicas correspondientes al laboratorio de contención máxima BSL-4 incluyen las prácticas propias del laboratorio de contención BSL-3, adicionando las siguientes observaciones:

El trabajo en el laboratorio debe realizarse por dos personas; ninguna persona debe trabajar sola en el interior del laboratorio. Ya que el trabajo se realiza con ropa especial para BSL-4, al entrar y al salir del laboratorio es imprescindible un cambio completo de ropa y calzado.

El personal debe recibir capacitación en procedimientos de evacuación de emergencia en caso de contingencia, incidente o accidente.

Debe establecerse un método de comunicación ordinaria y de emergencia entre el personal que trabaja dentro del laboratorio BSL-4 y el personal de apoyo que se encuentra fuera del laboratorio.

3.4.1 Requerimientos del laboratorio BSL-4



BIOSEGURIDAD EN NIVEL 4 (BSN4)

Instalaciones e ingeniería en BSN4

Los requisitos del laboratorio BSL-3 también se aplican a los laboratorios de contención máxima BSL-4, con las siguientes adiciones:

Se exige el paso a través de un mínimo de dos puertas antes de acceder al laboratorio que contiene la CSB de clase III. En este diseño de laboratorio la CSB de clase III proporciona la contención primaria.

Es necesaria una ducha personal con vestuarios interior y exterior

3.4.2 Equipo especial para confinamiento en BSN4

La contención debe realizarse en CBS (clases III) para toda manipulación de material infeccioso.

3.4.3 Uso de EPP en BSN4

El laboratorio está diseñado para trabajar con trajes especiales y el diseño de las instalaciones de este laboratorio requiere que el trabajo se realice con trajes protectores con respirador autónomo. El laboratorio está dispuestas de tal manera que se dirige al personal a través de las zonas de vestuario y descontaminación antes de entrar en las zonas donde se manipula el material infeccioso; debe existir una ducha de descontaminación de trajes, que será utilizada por el personal antes de abandonar la zona de contención del laboratorio. Habrá otra ducha personal con vestuarios interior y exterior. El traje especial será de una pieza, dotado de presión positiva y con suministro de aire filtrado por [HEPA](#). El aire del traje será suministrado por un sistema que tenga una capacidad redundante del 100% con una fuente de aire independiente, para utilizarla en caso de emergencia. La entrada en la zona del laboratorio destinada al trabajo con trajes especiales se realizará por una cámara dotada de puertas de cierre hermético. Estos laboratorios dispondrán de un sistema apropiado de alarma que el personal pueda utilizar en caso de fallo del sistema mecánico o de aire.

Los utensilios y materiales que no ingresan en la sala de la cámara a través de la zona de vestuario se introducen por una autoclave o una cámara de fumigación de doble puerta. El personal que se encuentra dentro del laboratorio puede abrir la puerta interior para recoger los materiales. Las puertas de la autoclave o la cámara de fumigación están diseñadas de tal modo que la puerta exterior no pueda abrirse a menos que la autoclave haya completado un ciclo de esterilización o la cámara de fumigación haya sido descontaminada.

Acceso controlado. El laboratorio de contención máxima BSL-4 debe estar situado en un edificio independiente o en una zona claramente delimitada en el interior de un edificio

protegido. La entrada y la salida del personal y de los suministros se harán a través de cámaras de cierre hermético o sistemas de caja de paso. Al entrar, el personal se mudará por completo de ropa y al salir se duchará antes de volver a ponerse la ropa de calle.

Sistemas de ventilación controlada: Debe mantenerse la presión negativa dentro de las instalaciones. Tanto el aire de entrada como el de salida debe pasar por filtros HEPA. Existen diferencias considerables entre los sistemas de ventilación de los laboratorios con CSB de clase III y los laboratorios donde hay que trabajar con trajes especiales:

Cuando se trabaja en el laboratorio con CSB clase III, el aire suministrado a las CSB puede proceder del interior de la sala y atravesar un filtro HEPA montado en la cámara o directamente del sistema de entrada de aire. El aire de salida de la CSB de clase III debe atravesar dos filtros HEPA antes de salir al exterior del edificio. La cámara debe funcionar en todo momento a presión negativa respecto del laboratorio. Se requiere un sistema de ventilación exclusivo que no haga recircular el aire para el laboratorio.

Deben vigilarse las diferencias de presión dentro del laboratorio y entre el laboratorio y las zonas adyacentes, así como el flujo del aire en los componentes de suministro y salida del sistema de ventilación, y debe utilizarse un sistema de control apropiado para impedir la presurización del laboratorio.

El aire suministrado a la zona de trabajo con trajes especiales y a la ducha y a las cámaras de descontaminación con cierre hermético debe pasar por filtros HEPA. El aire de salida del laboratorio debe atravesar dos filtros HEPA antes de salir al exterior. Otra posibilidad es que, tras una doble filtración por HEPA, el aire se recircule, pero sólo dentro del laboratorio; en ninguna circunstancia el aire de salida del laboratorio BSL-4 se reciclará a otras zonas.

Debe tenerse en cuenta el tipo de investigación que se realiza, el equipo, las sustancias químicas y otros materiales utilizados, así como las especies de animales que puedan intervenir en la investigación.

Todos los filtros HEPA serán probados y certificados. Los filtros HEPA estarán instalados de tal modo que permitan su descontaminación in el laboratorio antes de retirarlos.

Todos los efluentes de la zona de trabajo, la cámara y la ducha de descontaminación o la CSB de clase III serán descontaminados antes de su eliminación definitiva. El método de elección es el tratamiento térmico. El agua de la ducha personal y los retretes se puede verter directamente al alcantarillado sin tratamiento previo.

La zona del laboratorio debe contar con una autoclave de doble puerta. Debe disponerse de otros métodos de descontaminación para aquellos elementos del equipo que no soporten la esterilización por vapor.

Accesos con entrada de cierre hermético para muestras, materiales y animales.

Deben existir líneas de suministro eléctrico exclusivas y de emergencia.

Se instalarán sumideros de contención.

3.2.7 Reglamento y protocolos, PEO en BSN4

Debido a la complejidad del trabajo que se lleva a cabo en los laboratorios BSL-4, es necesario elaborar un reglamento, manual detallado conteniendo los protocolos de trabajo y PEO en BSN4; además se realizarán ejercicios de **capacitación** y se elaborará un programa de emergencia, que involucre la participación de las autoridades sanitarias nacionales y locales, y la participación de otros servicios de emergencia.

Cuadro comparativo de requerimientos entre BSL-1, BSL-2, BSL-3 y BSL-4

BSL	Agentes	Prácticas	Equipos de Seguridad (Barreras Primarias)	Instalaciones (Barreras Secundarias)
1	No se ha comprobado que producen enfermedad en adultos sanos	Prácticas Microbiológicas Estándar	No se exige ninguna	Se exige mesada abierta con pileta (s) en el laboratorio
2	Asociado con la enfermedad humana, riesgo = daño percutáneo, ingestión, exposición de la membrana mucosa	Práctica BSL-1 más: <ul style="list-style-type: none"> Acceso restringido Señales de advertencia de riesgo biológico Precauciones para "objetos punzantes" Manual de bioseguridad que define la descontaminación necesaria de desechos o las políticas de control médico 	Barreras Primarias = BSC Clase I o II u otros dispositivos de contención física utilizados para todas las manipulaciones de agentes que provocan salpicaduras o aerosoles de materiales infecciosos; PPE: ambos de laboratorio, guantes; protección del rostro cuando es necesario.	BSL-1 más: <ul style="list-style-type: none"> autoclave disponible
3	Agentes indígenas o exóticos con potencial de transmisión por aerosol, enfermedad que puede derivar en consecuencias graves o letales	Práctica BSL-2 más: <ul style="list-style-type: none"> Acceso controlado Descontaminación de todos los desechos Descontaminación de la ropa de laboratorio antes del lavado Suero de línea de base 	Barreras Primarias = BSC Clase I o II u otros dispositivos de contención física utilizados para todas las manipulaciones abiertas de agentes; PPE: ambos de laboratorio, guantes; protección respiratoria necesaria.	BSL-2 más: <ul style="list-style-type: none"> Separación física de los corredores de acceso. Acceso de cierre automático con doble puerta No se recircula el aire de escape Flujo de aire negativo dentro del laboratorio
4	Agentes peligrosos/exóticos que presentan un alto riesgo de enfermedad, que pone en riesgo la vida, infecciones de laboratorio de transmisión por aerosol o agentes relacionados con riesgos de transmisión desconocidos	Práctica BSL-3 más: <ul style="list-style-type: none"> Cambio de ropa antes de ingresar Ducha al salir Descontaminación de todos los materiales a la salida de las instalaciones 	Barreras Primarias = todos los procedimientos realizados en BSC Clase III o Clase I o II junto con personal con un uniforme de cuerpo entero, con aire y presión positiva.	BSL-3 más: <ul style="list-style-type: none"> Edificio separado o zona aislada Sistemas de alimentación y escape dedicados, vacío y descontaminación Otros requisitos detallados en el texto

Cuadro comparativo de requerimientos entre BSL-1, BSL-2, BSL-3 y BSL-4

BSL	Agentes	Prácticas	Equipo de Seguridad (Barreras Primarias)	Instalaciones (Barreras Secundarias)
1	No se ha comprobado que produce enfermedad en adultos sanos	Prácticas de administración y atención de animales estándar	Las necesarias para la atención normal de cada especie	Instalaciones de animales estándar <ul style="list-style-type: none"> • No se recircula el aire de escape • Se recomienda el flujo de aire direccional • Se recomienda el lavado de manos
2	Asociado con la enfermedad humana, riesgo = daño percutáneo, ingestión, exposición a la membrana mucosa	Práctica ABSL-1 más: <ul style="list-style-type: none"> • Acceso restringido • Señales de advertencia de riesgo biológico • Precauciones para "objetos punzantes" • Manual de bioseguridad • Descontaminación de todos los desechos infecciosos y de las jaulas de los animales antes del lavado 	Equipos ABSL-1 más: barreras primarias: equipos de contención adecuados para las especies animales; PPEs: ambos de laboratorio, guantes, protección del rostro y respiratoria necesaria	Instalaciones ABSL-1 más: <ul style="list-style-type: none"> • Autoclave disponible • Lavatorio para manos disponible en la sala de animales • Uso de lavadora de jaulas mecánica
3	Agentes autóctonos o exóticos con potencial de transmisión por aerosol; enfermedad que puede provocar efectos graves en la salud	Práctica ABSL-2 más: <ul style="list-style-type: none"> • Acceso controlado • Descontaminación de la ropa antes del lavado • Descontaminación de las jaulas antes de retirar los lechos • Baño desinfectante de pies si es necesario 	Equipos ABSL-2 más: <ul style="list-style-type: none"> • Equipos de contención para alojar a los animales y descarte de jaulas BSC de Clase I o II disponible para procedimientos manipulativos (inoculación, necropsia) que pueden crear aerosoles infecciosos. PPEs: protección respiratoria	Instalaciones ABSL-2 más: <ul style="list-style-type: none"> • Separación física de los corredores de acceso • Acceso de cierre automático con doble puerta • Penetraciones selladas • Autoclave disponible en las instalaciones
4	Agentes peligrosos / exóticos con alto riesgo de generar una enfermedad que pone en riesgo la vida; transmisión por aerosol, o agentes relacionados con riesgos de transmisión desconocidos	Práctica ABSL-3 más: <ul style="list-style-type: none"> • Ingreso por el vestuario donde se deja la ropa personal y se coloca el uniforme para el laboratorio; ducha a la salida • Descontaminación de todos los desechos antes de su remoción de las instalaciones 	Equipos ABSL-3 más: Equipo de contención máxima (por ejemplo, BSC de Clase III o equipos de contención parcial combinados con trajes de aire de presión positiva de cuerpo completo para el personal) utilizados para todos los procedimientos y actividades	Instalaciones ABSL-3 más: <ul style="list-style-type: none"> • Edificio separado o zona aislada • Sistemas de suministro y de escape dedicados, vacío y descontaminación • Otros requisitos detallados en el texto

CAPÍTULO 4

DE LA BIOSEGURIDAD Y LA CONTENCIÓN

Se fundamenta en varios elementos:

1. Las técnicas de laboratorio.
2. El equipo de protección y seguridad (Barreras primarias)
3. El diseño de las instalaciones internas, ingeniería (Barreras secundarias).
4. El diseño estructural del edificio especializado (Barrera terciaria)
5. Aspectos administrativos
6. Prácticas Estándares de Operación (PEO)

Las barreras primarias son la primera línea de defensa cuando se manipulan agentes biológicos. El ejemplo más claro de contención primaria lo constituyen el EPP y la CBS. En la mayoría de las ocasiones se practica la combinación de ambos tipos de medidas, tal como puede ser el empleo de la CBS junto con guantes y mascarilla. Todo ello sin olvidar que la máxima contención del riesgo biológico sólo se da cuando, además, se emplean las técnicas de trabajo correctas PEO, unidas a un diseño del laboratorio acorde con el nivel de riesgo. En el diseño y construcción de las instalaciones, la magnitud de las barreras secundarias dependerá del tipo de agente infeccioso que se manipule en el laboratorio. Dentro de ellas se incluyen la separación de las zonas donde tiene acceso el público, la disponibilidad de sistemas de descontaminación (autoclaves), el filtrado del aire de salida al exterior, el flujo de aire direccional, entre otros. El diseño y construcción de un laboratorio contribuye a la protección del propio personal del laboratorio, proporciona una barrera de protección para las personas y la comunidad que se localizan fuera del laboratorio frente a posibles escapes accidentales o no intencionales de agentes biológicos.

CONTENCIÓN PRIMARIA



EQUIPO DE PROTECCIÓN PERSONAL (EPP)

A continuación se enlista el equipo de protección personal

-BATAS, PROTECCIÓN DE ROPA Y TRAJES COMPLETOS

-BOTAS, CUBREZAPATOS

-PROTECCIÓN RESPIRATORIA



-CUBREBOCAS Y MÁSCARAS QUIRÚRGICAS (no son respiradores)

-RESPIRADORES N95 Y N100 (FILTRACIÓN DE PARTÍCULAS)

-RESPIRADORES CON PURIFICACIÓN DE AIRE A PRESIÓN (+)

- RESPIRADORES CON PURIFICACIÓN DE AIRE A PRESIÓN (-)

-GUANTES



-GORROS (PROTECCIÓN DE CABELLO)

-PROTECCIÓN FACIAL

-LENTE DE SEGURIDAD



-GOGGLES

-CARETAS

CAPÍTULO 5

CONTENCIÓN PRIMARIA



5.1. CABINAS O GABINETES DE BIOSEGURIDAD (CBS)

El empleo de CSB se justifica en procedimientos con cultivos celulares; para mantener contención de un agente biológico; cuando no se conocen las características del agente microbiológico (o muestras no caracterizadas); cuando se crean salpicaduras o se tiene el potencial para crearlas; cuando se abren copas de centrifugas al trabajar con agentes infecciosos.

Uso de CSB:

La CSB protege al Personal, al material biológico y al ambiente si funciona apropiadamente.

No debe utilizarse una CSB que no funciona correctamente.

La ventana de vidrio transparente no debe abrirse mientras se está utilizando la CSB.

Los aparatos y materiales introducidos en la cámara deben reducirse al mínimo y no deben bloquear la circulación del aire en la cámara de distribución trasera.

No deben utilizarse mecheros de Bunsen en el interior de la cámara, ya que el calor producido perturbará el flujo de aire y puede dañar los filtros. Puede permitirse el uso de mecheros especiales para CSB con piloto y flama baja; también se recomienda el uso de un microincinerador, aunque es preferible utilizar asas estériles desechables.

Todo el trabajo debe hacerse en la zona media o posterior de la superficie de trabajo y ser visible a través de la ventana.

El paso de personas por detrás del trabajador debe reducirse al mínimo.

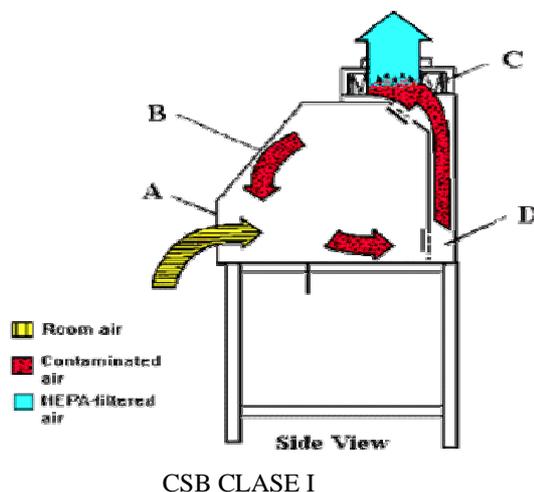
El Trabajador no debe alterar el flujo de aire al sacar y volver a introducir repetidas veces los brazos.

Nunca se introducirán papeles en las CSB. Las rejillas de aire no deben estar bloqueadas con papeles, pipetas u otros materiales, ya que con ello se perturba el flujo de aire y puede provocarse la contaminación del material y la exposición del trabajador al agente biológico.

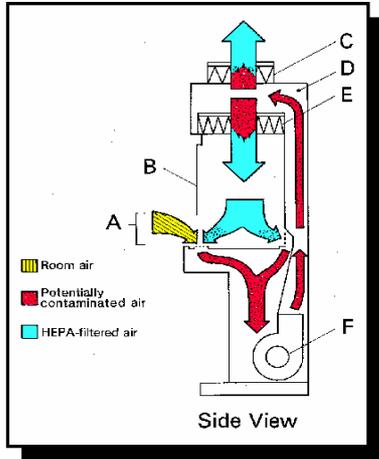
La superficie de la CSB deberá limpiarse con un paño empapado con un desinfectante apropiado una vez terminado el trabajo y al final del día.

El ventilador de la cámara se encenderá al menos 5 minutos antes de empezar el trabajo y debe seguir funcionando al menos durante 5 minutos después de concluido el trabajo.

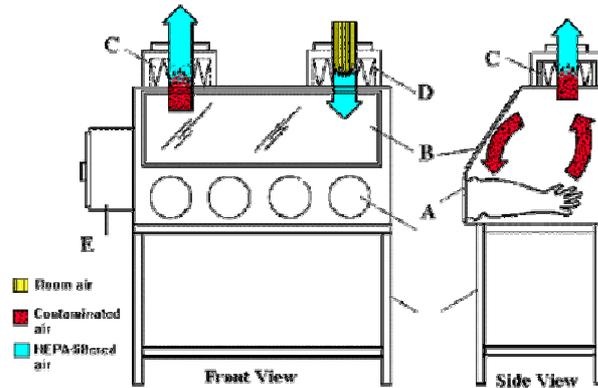
Considere la CSB más apropiada si va a utilizar agentes químicos, radiactivos o exclusivamente material biológico.



CABINAS DE SEGURIDAD BIOLÓGICA



CSB CLASE II



CSB CLASE III

CABINAS DE SEGURIDAD BIOLÓGICA:

Son cámaras de circulación forzada que, según sus especificaciones y diseño, proporcionan diferentes niveles de protección. Son fundamentales en un Laboratorio Biomédico y Microbiológico y se clasifican según el nivel y tipo de protección.

Una CSB es una barrera primaria cuando se trabaja con agentes peligrosos o infecciosos, sin embargo no proveen un completo aislamiento, por ejemplo en el control de aerosoles. Es necesario incrementar las prácticas de seguridad cuando se trabaja con una de éstas cabinas.

En principio es necesario distinguir entre las campanas de extracción de gases (CEV) y las CSB.

La **campana de extracción de gases** es un espacio ventilado que captura los humos y vapores procedentes de la manipulación de los productos químicos en el laboratorio. Si bien constituye un equipo muy útil en la extracción de vapores de agentes químicos.

Las **cabinas de Seguridad Biológica (CSB)** son recintos ventilados diseñados para limitar al máximo el riesgo del personal de laboratorio expuesto a agentes infecciosos. Ello es especialmente importante si se tiene en cuenta que muchas de las operaciones realizadas en un laboratorio implican la formación de aerosoles. Estos equipos tienen como objetivo principal proporcionar una zona de trabajo que minimice la probabilidad que una partícula transportada por el aire tiene de escapar hacia el exterior de la cabina y contaminar así al operario y a la zona que le rodea. Además, algunas de ellas, ofrecen protección al material que se manipula.

La capacidad de las cabinas de seguridad para proteger al personal y el ambiente de una exposición potencialmente peligrosa, especialmente por aerosoles, depende principalmente del apropiado funcionamiento de la cabina. Ninguna cabina debe ser utilizada en el manejo de microorganismos peligrosos, a menos que se demuestre por exámenes apropiados, que la misma cumple con las mínimas especificaciones de seguridad.

Cuando una CSB es utilizada por personal debidamente formado y consciente de la limitaciones de ésta, se convierte en un equipo de contención muy efectivo para reducir el posible escape de contaminación biológica. Sin embargo, es conveniente tener muy en cuenta que una cabina no es nunca un sustituto de una técnica microbiológica adecuada.

LOS FILTROS HEPA :

Las CSB disponen de dos sistemas que impiden la salida de contaminación: las barreras de aire y los filtros. Las barreras de aire se crean permitiendo que éste fluya en una sola dirección y a una velocidad constante dando lugar a una cortina de aire que se conoce como flujo de aire laminar; es un flujo con ausencia de turbulencias. Los filtros HEPA (por sus siglas en inglés High Efficiency Particulate Air), fabricados generalmente de láminas de

fibras de borosilicato, tienen como finalidad atrapar las partículas contenidas en este flujo de aire, los utilizados comúnmente son HEPA que retienen partículas con una eficacia del 99,97% y hasta 0,3 micras de diámetro o más.

CATEGORÍAS DE CABINAS DE SEGURIDAD

Las CSB se dividen en tres categorías: clase I, clase II y clase III.

Cabinas de clase I.

Estos filtros proveen protección al personal y el ambiente, pero no al producto. Es similar en movimiento del aire a una cabina de química, pero con un filtro HEPA en el sistema de escape de aire, para proteger el ambiente.

Son cámaras cerradas con una abertura al frente para permitir el acceso de los brazos del operador. El aire penetra por este frontal, atraviesa la zona de trabajo y todo él sale al exterior a través de un filtro HEPA. La velocidad del flujo de aire es de unos 0,40 m/s (75 PiesLineal/Minuto).

Son apropiadas para manipular agentes biológicos de los grupos 1, 2 ó 3. La mayor desventaja que presentan es que no proporcionan protección al material con el que se trabaja, no evitando por lo tanto que éste se pueda contaminar

Cabinas de clase II.

Se diferencian principalmente de las de clase I en que, además de al operario y su entorno, ofrecen protección al producto frente a la contaminación. La superficie de trabajo está irrigada por un flujo de aire limpio que ha atravesado un filtro HEPA certificado. La salida del aire se produce a través de otro filtro HEPA, por lo que el aire es libre de contaminación y puede recircular dentro del laboratorio o salir a través del tubo de escape al exterior del

edificio(Clase II tipo B). El filtro HEPA es efectivo para atrapar agentes infecciosos y partículas, pero no retiene gases o agentes químicos volátiles.

Son equipos utilizados para el manejo de agentes biológicos de los grupos 1, 2 ó 3. Existen varios tipos de cabinas de clase II, A, B1, B2 y B3, según sus características de construcción, flujo de aire y sistema de extracción.

Una primera diferencia entre tipo A y tipo B es que las de clase II tipo A están diseñadas para que el aire extraído desemboque en el mismo laboratorio o fuera de éste vía una conexión de tipo “Canopo” y las de tipo B deben disponer de un conducto hermético de salida, exclusivo para ellas, con un extractor y un sistema de alarma apropiado. Las IIA y las IIB3 mantienen ambas una velocidad de 0,40-0,50 m/s (75-100 p/m) y en ambas también se recircula un 70% del aire. Cuando la IIB3 se conecta al exterior mediante conducto hermético, entonces se puede emplear para manipulaciones que impliquen productos tóxicos y radioactivos.

Las restantes cabinas del tipo B, es decir II B1 y II B2, se diferencian principalmente en la velocidad del flujo y la proporción de aire que se recircula. En estos dos tipos, la velocidad mínima es de 0,50 m/s (100 p/m), siendo la cantidad recirculada del 30-50% en las de clase II tipo B1 y del 0% en las de tipo B2. Tanto unas como otras son adecuadas para el trabajo con concentraciones pequeñas agentes químicos (tóxicos) y material radiactivo.

Cabinas de clase III.

Es designado para trabajar con microorganismos asignados al nivel 4 de Bioseguridad y máxima protección al trabajador y el ambiente. Constituyen el máximo nivel de seguridad.

Son recintos herméticos en presión negativa y, por ello, su interior está completamente aislado del entorno. Se opera en ellas por medio de unos guantes, con trampa para introducir el producto, el aire entra a través de un filtro HEPA y se expulsa al exterior a través de dos filtros HEPA. Se recomiendan para el manejo de agentes de los grupos 1, 2, 3 ó 4.

El aire de escape pasa a través de 2 filtros HEPA o un filtro HEPA y un incinerador de aire, antes de descartar al exterior. Usualmente utiliza una presión negativa de 0.5 pulgadas de presión hidrostática. Si las CSB no se usan correctamente, sus efectos protectores pueden verse reducidos. Los trabajadores deben tener cuidado de mantener la integridad del flujo de entrada de aire por la abertura frontal al meter y sacar los brazos de la cámara. Los brazos deben moverse con lentitud, perpendicularmente a la abertura frontal. Es conveniente esperar aproximadamente un minuto después de meter las manos y los brazos en la cámara antes de comenzar a manipular el material, con el fin de permitir que la cámara se estabilice y el aire barra las manos y los brazos.

El movimiento de brazos a través de la abertura frontal también debe reducirse al mínimo colocando anticipadamente todo el material necesario en el interior antes de comenzar las manipulaciones.

Colocación del material:

La rejilla frontal de entrada de las CSB de clase II no debe estar bloqueada con papeles, instrumental ni otros objetos. La superficie de los materiales que haya que colocar en el interior de la cámara debe descontaminarse con alcohol al 70%. Se puede utilizar paños absorbentes empapados de desinfectante con el fin de que éstos remuevan e inactiven los agentes biológicos en caso de salpicaduras y derrames. Todos los materiales deben

colocarse lo más dentro posible de la cámara, hacia el borde posterior de la superficie de trabajo, pero sin bloquear la rejilla posterior. El equipo que pueda generar aerosoles, debe colocarse hacia la parte posterior de la cámara. Los artículos voluminosos, como las bolsas específicas para material biológico peligroso, las bandejas de pipetas desechadas y los frascos de succión deben colocarse a un lado del interior de la cámara. El trabajo debe proceder desde las zonas limpias hacia las contaminadas a lo largo de la superficie de trabajo. Las bolsas de recogida de material biológico peligroso para la autoclave y la bandeja de recogida de pipetas no deben colocarse fuera de la cámara. Los frecuentes movimientos de entrada y salida necesarios para utilizar estos recipientes perturban la barrera de aire de la cámara y puede exponer al Personal y al material.

Operación y mantenimiento:

La mayoría de las CSB están diseñadas para funcionar 24 horas al día; el funcionamiento continuo ayuda a controlar los niveles de polvo y de partículas en el laboratorio. Las CSB de clase IIA1 y IIA2 que evacúan el aire a la sala o que están conectadas por acopladores de tipo dedal a conductos de extracción propios y pueden apagarse cuando no están en uso. Otros tipos, como las de la clase IIB1 y IIB2, que tienen instalaciones a base de conductos rígidos, deben mantener una corriente de aire en su interior en todo momento para contribuir a mantener el equilibrio del aire de la sala. Las cámaras deben encenderse al menos 5 minutos antes de comenzar el trabajo y después de terminarlo para permitir el desalojo del aire contaminado en el entorno de la cámara. Todas las reparaciones que se hagan en una CSB debe realizarlas Personal Técnico calificado; cualquier fallo en el funcionamiento de la CSB debe comunicarse para someterla a reparación de utilizarla de nuevo.

Luz ultravioleta:

Algunas CSB vienen equipadas con lámparas de luz ultravioleta; éstas deben limpiarse para remover el polvo una vez a la semana, la suciedad puedan bloquear la radiación y disminuir la eficacia germicida de la luz ultravioleta. La intensidad de la luz ultravioleta debe comprobarse cada vez que se vuelve a certificar la cámara para garantizar que la emisión de luz es apropiada. La lámpara de luz ultravioleta deben apagarse cuando la sala está ocupada por el trabajador, con ello se protegen los ojos y la piel del trabajador a exposiciones accidentales.

Mecheros:

Deben evitarse los mecheros en el entorno prácticamente libre de microorganismos creado dentro de la CSB. La llama abierta de un mechero altera los flujos de corrientes de aire y pueden ser peligrosa cuando se utilizan al mismo tiempo sustancias con características de volatilidad e inflamabilidad.

Derrames:

Se debe entrenar al Personal para conocer y aplicar el procedimiento a seguir en caso de derrame accidental o salpicaduras. Cuando se produzca un derrame de material biológico dentro de una CSB, debe procederse de inmediato a su limpieza y desinfección, mientras la cámara sigue en funcionamiento; debe utilizarse un desinfectante eficaz y aplicarlo de modo que se reduzca al mínimo la formación de aerosoles. Todos los materiales que entren en contacto con el agente derramado deben desinfectarse o tratarse en autoclave.

Certificación:

El funcionamiento y la integridad de la CSB deben ser evaluadas en forma periódica, la verificación del funcionamiento, la validación y certificación son claves para garantizar su

eficaz funcionamiento. Para llevar a cabo estas pruebas se requieren capacitación, conocimientos, y equipos especiales; es sumamente recomendable que las realice Personal calificado.

Limpieza y desinfección:

Todos los artículos que entren en una CSB, incluido el material de laboratorio, deben tener su superficie descontaminada y extraerlos de la cámara una vez terminado el trabajo. Las superficies internas de las CSB deben descontaminarse antes y después de cada uso. Las superficies de trabajo y las paredes internas deben limpiarse con un paño con desinfectante que elimine apropiado a los agentes biológicos.

La descontaminación final de las superficies debe incluir la limpieza de la superficie de trabajo, los laterales, la cara posterior y el interior de la ventana de cristal. Para los organismos sensibles se utilizará una solución de alcohol al 70%. Después habrá que pasar de nuevo un paño con agua estéril cada vez que se utilice un desinfectante corrosivo, como la lejía. Se recomienda dejar la cámara en funcionamiento; antes de apagarla habrá que dejarla funcionando durante 5 minutos.

Descontaminación:

La CSB debe descontaminarse antes de los cambios de filtro y antes de cambiarla de lugar. El método de descontaminación más común es la fumigación con formaldehído gaseoso. La descontaminación de las CSB debe ser realizada por Personal responsable del laboratorio con entrenamiento en desinfección.

EPP:

Siempre que use una CSB, el trabajador deberá llevar prendas de protección personal; las batas de laboratorio son aceptables para trabajar en los BSL-1y BSL-2.

En los niveles de bioseguridad 3 y 4 (salvo en los laboratorios diseñados para trabajar con trajes especiales) deben usarse batas de frente cerrado, cerradas por la parte detrás, ya que protegen mejor. Los guantes deben estirarse bien por encima de las mangas de la ropa protectora, en lugar de meterlos por debajo. Pueden usarse mangas con elástico para proteger las muñecas del trabajador. Para algunos procedimientos se pueden emplear respiradores, mascarillas quirúrgicas y lentes de seguridad.

CABINAS DE SEGURIDAD BIOLÓGICA



Alarma audible:

Las CSB pueden estar equipadas con dispositivos sonoros o alarma. La alarma de abertura, sólo se encuentran en las cámaras que llevan ventanas de cristal deslizable; indican que el trabajador ha colocado el cristal en posición incorrecta, y se detienen cuando el cristal está debidamente colocado. La alarma de flujo de aire señalan perturbaciones de las características normales del flujo de aire en la cámara que representan un riesgo de turbulencia y peligro de exposición inmediato para el trabajador o el producto.

Cuando suena esta alarma, se interrumpirá inmediatamente el trabajo y se reportará al responsable del laboratorio. Los manuales de instrucciones del fabricante deben dar más información. La capacitación para el uso de CSB debe incluir este aspecto.



5.2. EQUIPOS, DISPOSITIVOS Y PÁCTICAS QUE PRODUCEN Y LIBERAN AEROSOLES:

Los aerosoles microbianos son suspensiones de partículas en aire constituidas completa o parcialmente de microorganismos. Estas pueden permanecer suspendidas en aire por un periodo de tiempo largo y mantener o perder durante ese tiempo su infectividad o virulencia. Las partículas de 1 a 5 μm son retenidas fácilmente en los alvéolos pulmonares (American Public Health Association "Manual for Communicable Diseases of Man").

Uso de las centrifugadoras:

El funcionamiento mecánico satisfactorio es un requisito de la seguridad microbiológica del empleo de centrifugadoras en el laboratorio. Las centrifugadoras se utilizarán según las instrucciones del fabricante; deben colocarse a una altura tal que los trabajadores puedan ver la cubeta para colocar correctamente los soportes y los cestos.

Los tubos de la centrifugadora y los recipientes de muestras destinados al uso en la centrifugadora deben estar fabricados de plástico, y deben inspeccionarse para detectar ruptura antes de usarlos.

Los tubos y los recipientes para muestras deben estar herméticamente bien cerrados (con tapón de rosca) para la centrifugación.

EQUIPOS, DISPOSITIVOS Y PÁCTICAS QUE PRODUCEN Y LIBERAN AEROSOLES

Los cestos deben cargarse, equilibrarse en balanza, cerrarse y abrirse en una CSB. Los cestos y los soportes se deben emparejar por el peso y equilibrar correctamente con los tubos en su sitio.

El espacio que debe dejarse entre el nivel del líquido y el borde de cada tubo de centrifugación debe ser especificado en las instrucciones del fabricante.

Para equilibrar los cestos vacíos se empleará agua destilada, no usar otras soluciones que corroen los metales.

Para los microorganismos de los GR3 y GR4 se utilizarán cestos de centrifugadora de cierre hermético (cestos de seguridad).

Cuando se utilicen rotores de cabeza angular, debe verificarse que el tubo no esté desequilibrado (excesivamente cargado), ya que puede haber fugas del líquido.

El interior de la cubeta de la centrifugadora se inspeccionará a diario para verificar su limpieza.

Los rotores y los cestos de la centrifugadora deben observarse diariamente para detectar signos de corrosión y grietas.

Los cestos, rotores y cubetas deben descontaminarse después de cada uso.

El empleo de una buena técnica de centrifugación y de tubos tapados correctamente ofrece protección suficiente contra los aerosoles que contienen material infecciosos y la dispersión de partículas.

Uso de homogeneizadores, agitadores, mezcladores y desintegradores ultrasónicos:

No deben utilizarse homogeneizadores domésticos (de cocina) en los laboratorios; los mezcladores y homogeneizadores de laboratorio de tipo Stomacher son más seguros.

EQUIPOS, DISPOSITIVOS Y PÁCTICAS QUE PRODUCEN Y LIBERAN AEROSOL

Los tapones, recipientes y frascos, deben estar en buenas condiciones, sin deformaciones ni fisuras. Los tapones deben ajustar bien y las juntas deben estar en buen estado.

Durante el funcionamiento de los homogeneizadores, agitadores y desintegradores ultrasónicos se produce un aumento de la presión dentro del recipiente, con lo que pueden desprenderse entre la tapa y el recipiente aerosoles con materiales infecciosos. Se recomiendan los recipientes de plástico, en particular de politetrafluoroetileno (PTFE), porque el vidrio puede romperse y liberar material infeccioso, además de daño físico al trabajador.

Durante su utilización, hay que recubrir los aparatos con una funda fuerte de plástico transparente, que se desinfectará una vez usada. Siempre que sea posible, estos aparatos, con su funda de plástico, se utilizarán dentro de una CSB.

Una vez terminada la operación, el recipiente se abrirá en una CSB y las personas que utilicen desintegradores ultrasónicos deben llevar protección auditiva.

Uso de trituradores de tejidos:

Los trituradores de vidrio deben sostenerse envueltos en una pieza de material absorbente y con la mano enguantada. Son más seguros los trituradores de plástico. Los trituradores de tejidos deben utilizarse y abrirse en una CSB.

Equipo automático (desintegradores ultrasónicos, mezcladores vorticiales):

El equipo debe ser cerrado para evitar la dispersión de gotitas y aerosoles.

Los efluentes se recogerán en recipientes cerrados y se tratarán en la autoclave o se eliminarán apropiadamente.

EQUIPOS, DISPOSITIVOS Y PÁCTICAS QUE PRODUCEN Y LIBERAN AEROSOL

El equipo se desinfectará al final de cada sesión de trabajo, siguiendo las instrucciones del fabricante.

ES IMPORTANTE ADQUIRIR MÁS INFORMACIÓN SOBRE LO SIGUIENTE:

CENTRÍFUGAS CON ROTORES Y COPAS SELLADAS

SALPICADURAS Y LIMPIEZA EN CENTRÍFUGAS

MICROINCINERADORES PARA ASAS DE SIEMBRA MICROBIOLÓGICA

AGITACIÓN DE MATERIAL BIOLÓGICO Y CULTIVOS MICROBIOLÓGICOS

AGITACIÓN MECÁNICA

VORTEX

SONICACIÓN

HOMOGENIZADORES Y DISGREGACIÓN DE TEJIDO

USO DE MICROPIPETAS Y PIPETEADORES AUTOMÁTICOS

TUBOS CON TAPA HERMÉTICA

JERINGAS, AGUJAS Y CONTENEDORES PARA PUNZOCORTANTES

CAPÍTULO 6



6. LA CAPACITACIÓN DEL PERSONAL ES BÁSICA EN LA REDUCCIÓN DEL RIESGO:

La desinformación en la realización de técnicas microbiológicas y procedimientos incorrectos pueden poner en peligro las medidas destinadas a proteger al personal de laboratorio. Por ello, el elemento clave para prevenir las infecciones adquiridas, los incidentes y los accidentes en el laboratorio es la actitud responsable del Personal preocupado por la bioseguridad y bien informado sobre las medidas y prácticas prudentes evitan o reducen al mínimo los accidentes para desempeñar el trabajo en un ambiente laboral seguro. En consecuencia, la formación continua en el servicio acerca de las medidas de seguridad es primordial. El proceso empieza con la capacitación básica en las buenas prácticas de laboratorio, técnicas correctas y el entrenamiento en el uso de EPP, la utilización apropiada del equipo especial de confinamiento, desinfección, descontaminación y pasos a seguir en caso de incidentes o accidentes entre otros aspectos.

La capacitación del personal debe comprender siempre la enseñanza de métodos seguros para utilizar procedimientos peligrosos que habitualmente afectan a todo el personal de laboratorio y que conllevan a los siguientes riesgos:

Riesgo de inhalación (es decir, formación de aerosoles): uso de asas, siembra de placas de agar, pipeteo, preparación de frotis, apertura de recipientes de cultivo, toma de muestras de sangre/suero, centrifugación, entre otros.

Riesgo de ingestión al manipular muestras, frotis y cultivos.

Riesgo de inoculación cutánea al emplear jeringuillas y agujas.

Riesgo de mordeduras y arañazos en la manipulación de animales.

Manipulación de sangre y otros materiales patológicos potencialmente peligrosos.

Descontaminación y eliminación de material infeccioso.

Seguridad para el Personal que presta servicios de apoyo:

El Personal auxiliar, mecánicos y personal de mantenimiento del edificio debe estar enterado y capacitado en relación a las normas y los procedimientos en materia de seguridad de las instalaciones del local; este personal, dedicado al mantenimiento y reparación de la estructura, las instalaciones y el equipo, debe tener conocimiento sobre el tipo de trabajo que se realiza en el laboratorio, Las pruebas a las que hay que someter algunos equipos o instalaciones después de la reparación, las verificaciones del funcionamiento deben ser realizadas bajo la supervisión del Personal Encargado de la bioseguridad del área.

Los mecánicos y Personal de mantenimiento solamente deben acceder en forma planeada a los laboratorios de los niveles de bioseguridad 3 y 4 con la aprobación y la supervisión del Personal Encargado de la bioseguridad y del Responsable del laboratorio.

Personal de limpieza

Los laboratorios de los niveles de bioseguridad 3 y 4 deben ser limpiados y descontaminados de manera planeada por el Personal Encargado del laboratorio.

CAPÍTULO 7

7. TRANSPORTE, ENVASE Y EMBALAJE DE MATERIAL BIOLÓGICO

El transporte de material infeccioso y potencialmente infeccioso está sometido a reglamentaciones nacionales e internacionales estrictas. Esas reglamentaciones describen el uso apropiado de materiales de embalaje/envasado, además de otros requisitos.

El personal de laboratorio debe enviar las sustancias infecciosas de acuerdo con las normas de transporte aplicables, cuyo cumplimiento permitirá: Reducir la probabilidad de que los embalajes/envases se estropeen y derramen su contenido, y con ello reducir el número de exposiciones que den lugar a posibles infecciones, y mejorar la eficiencia de la entrega de los envíos.

Reglamentación internacional en materia de transportes

La reglamentación relacionada con el transporte de material infeccioso por cualquier medio de transporte se basa en las Recomendaciones relativas al transporte de mercancías peligrosas. Esas recomendaciones de las Naciones Unidas han sido elaboradas por el Comité de Expertos de las Naciones Unidas en Transporte de Mercancías Peligrosas; las Instrucciones Técnicas para el transporte sin riesgos de mercancías peligrosas por vía aérea) de la Organización de Aviación Civil Internacional (OACI) en relación con el transporte aéreo, y el Acuerdo Europeo sobre el Transporte Internacional de Mercaderías Peligrosas

por Carretera. La Asociación de Transporte Aéreo Internacional (IATA) publica todos los años una guía sobre el transporte de sustancias infecciosas (Infectious Substances Shipping Guidelines). La guía de la IATA debe seguir como mínimo las Instrucciones Técnicas de la OACI, pero puede imponer restricciones adicionales. Cuando un envío es transportado por un miembro de la Asociación deben seguirse las directrices de la IATA (Manual IATA para el envío de sustancias infecciosas 2007).

La OMS actúa en calidad de asesora ante el Comité de Expertos de las Naciones Unidas en el Transporte de Mercancías Peligrosas. En la 13.ª edición (2003) de la *Reglamentación Modelo* de las Naciones Unidas se introdujeron importantes cambios, especialmente en lo que atañe a las sustancias infecciosas (Guía sobre la reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas 2009-2010 de la OMS WHO/HSE/EPR/2008.10). Es importante señalar que el transporte internacional de las sustancias infecciosas también depende de la normativa nacional en materia de importación y exportación.

El sistema básico de embalaje/envasado triple

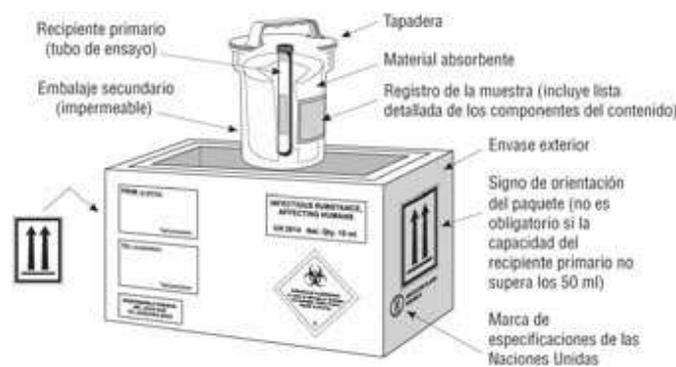
El sistema de embalaje/envasado triple, que es el preferible para el transporte de sustancias infecciosas y potencialmente infecciosas, se muestra a modo de ejemplo en la. Este sistema de embalaje/envasado consta de tres componentes: el recipiente primario, el embalaje/envase secundario y el embalaje/envase externo. El recipiente primario que contiene la muestra debe ser a prueba de fugas y estar debidamente etiquetado en relación con el contenido. Debe ir envuelto en material absorbente suficiente para absorber todo el líquido en caso de rotura o fuga.

El recipiente primario se introduce en un segundo embalaje/envase protector estanco y a prueba de fugas. Pueden colocarse varios recipientes primarios en un solo embalaje/envase

secundario. En algunos textos reglamentarios se incluyen límites en relación con el volumen o el peso de las sustancias infecciosas envasadas. El embalaje/envase externo protege el embalaje/envase secundario de los daños físicos durante el transporte.

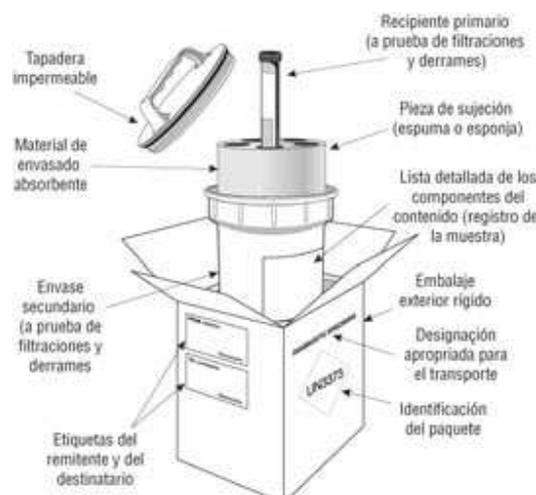
Los formularios de datos relativos a la muestra, las cartas y demás material informativo que permitan identificarla o describirla, así como identificar al remitente y al destinatario, junto con toda la demás documentación exigida, también se incluirán de acuerdo con la reglamentación vigente.

Embalaje/ensado y etiquetado de sustancias infecciosas de la categoría A



Embalaje/ensado y etiquetado de sustancias infecciosas de la categoría B

(Tomado del manual de la OMS)



Figuras tomadas del Manual de Bioseguridad en el laboratorio, OMS, 3ª edición, 2005;

(<http://www.who.int/es/>)

Las recomendaciones del Comité de Expertos de las Naciones Unidas para el Transporte de Artículos Peligrosos clasifican las mercancías peligrosas en **9 clases**, dos de las cuales están relacionadas con sustancias infecciosas: **clase 6.2** (sustancias infecciosas) y **clase 9** (mercancías peligrosas que no se incluyen en ninguna de las otras 8 clases). En la **clase 6.2** están incluidas las sustancias infecciosas respecto de las cuales se sabe o se cree fundamentalmente que contienen agentes patógenos para seres humanos o animales y se dividen en: **Cultivos de amplificación o propagación con categoría “A” y “B”**; o también las **muestras de pacientes** (material humano o animal colectado directamente) **que también se clasifican en “A” o “B”** en función del microorganismo sospechado (WHO 2008.10). **La Categoría “A”** es una sustancia infecciosa transportada en una forma que al exponerse a ella, es capaz de causar invalidez, amenazar la vida o causar enfermedades mortales a seres humanos o animales, con la definición expresa de *“Sustancia infecciosa que afecta a humanos o animales”* UN2814 o 2900, empaque PI620, PI602/IATA. **La categoría “B”** contiene muestras o agentes biológicos que presentan un riesgo mínimo de contener agentes patógenos y no están sujetas a esta reglamentación pero deberán ser transportadas, con la definición expresa de *“Especimen de humano o de animal Exento”* o *“Sustancia biológica categoría B”* (no cumple con los criterios de la categoría “A”) UN3373, empaque PI650.

Sistema básico de embalaje. De una manera general, para el embalaje y transporte de material biológico y teniendo en cuenta las peculiaridades en función de los

microorganismos, un sistema básico de embalaje se compone del recipiente primario, secundario (a prueba de filtraciones, que encierra y protege el recipiente primario). Se debe usar suficiente material absorbente para proteger a todos los recipientes primarios y evitar choques entre ellos.

Recipiente externo de envío. El recipiente secundario se coloca en un paquete de envío que protege al recipiente secundario y su contenido de los elementos externos, tales como daño físico y agua. Los formularios con datos, cartas y otras informaciones de identificación de la muestra deben colocarse pegados con cinta adhesiva en el exterior del recipiente secundario.

La Guía para el transporte de sustancias infecciosas y especímenes diagnósticos, publicada por la OMS en 1997, permite un conocimiento detallado de los requerimientos específicos para las diferentes situaciones que se pueden plantear ante el envío de cualquier tipo de material biológico, algunos de los cuales se exponen a continuación:

1. Cantidad de sustancias infecciosas que pueden enviarse en un paquete.
2. Tipos de etiquetas de riesgo para sustancias infecciosas.
3. Tipos de etiquetas de riesgo para microorganismos no infecciosos (sustancia biológica).
4. Etiquetas para envío con dióxido de carbono (hielo seco).
5. Información que debe figurar en la etiqueta.
6. Normas para envío con refrigerantes (dióxido de carbono).
7. Formatos: Declaración del expedidor, la guía aérea y el permiso de las autoridades.

En los vuelos internacionales está estrictamente prohibido que los pasajeros transporten sustancias infecciosas con ellos o en su equipaje de mano. Igualmente está prohibida la utilización del correo para el transporte de este tipo de material.

Otras posibilidades de transporte de material biológico incluyen el traslado de muestras fuera de la dependencia a otra de la misma ciudad o a otra ciudad. Los principios en los que se basa un transporte seguro son los mismos en todos los casos y su finalidad es que la muestra no tenga ninguna posibilidad de fuga de material biológico del embalaje en las circunstancias normales de transporte.

El transporte de material biológico requiere una buena colaboración entre el remitente, la compañía de transporte y el destinatario, y cada uno debe asumir sus responsabilidades para garantizar que el producto llega a su destino oportunamente y en buenas condiciones.

El **hielo seco** (dióxido de carbono sólido), está clasificada en la **clase 9** de mercancías peligrosas varias cuando se transporta por vía aérea o marítima, los requisitos del embalaje del hielo seco se especifican en el **grupo III** de embalaje (con características de peligrosidad menor) y se utiliza para refrigerar o congelar el exterior del embalaje secundario; el embalaje deberá permitir la salida de dióxido de carbono y evitar la acumulación de presión, también debe indicar el peso neto de hielo seco

Procedimiento de limpieza y descontaminación de derrames

En caso de que se produzca un derrame de material infeccioso o potencialmente infeccioso, se aplicará el siguiente procedimiento de limpieza: Utilizar guantes y ropa protectora, e incluso protección facial y ocular si estuviera indicada.

Cubrir el derrame con paños o papel absorbente para contenerlo. Aplicar un desinfectante apropiado sobre el papel absorbente y la zona inmediatamente circundante (en general, son apropiadas las soluciones de lejía al 5%; sin embargo, para los derrames en aeronaves deben utilizarse desinfectantes a base de amonio cuaternario). Aplicar el desinfectante en círculos concéntricos, comenzando por el exterior de la superficie del derrame y

procediendo hacia el centro. Después del tiempo necesario (por ejemplo, 30 minutos), retirar todos los materiales.

Si hay vidrios rotos u objetos punzantes, juntarlos con una pala o un trozo de cartón rígido y depositarlos en un recipiente rígido para su eliminación.

Limpiar y desinfectar la zona afectada por el derrame (en caso necesario, repetir los pasos anteriores). Colocar el material contaminado en un recipiente para desechos a prueba de fugas y de perforaciones. Después de una desinfección satisfactoria, informar a las autoridades competentes de que el lugar ha quedado descontaminado.

EJEMPLOS INDICATIVOS DE SUSTANCIAS INFECCIOSAS INCLUIDAS EN LA CATEGORÍA A, EN CUALQUIER FORMA, EXCEPTO CUANDO SE INDICA OTRA COSA	
Número UN y Designación Oficial de Transporte	Microorganismo
UN 2814: Sustancias infecciosas que afectan a los seres humanos	<i>Bacillus anthracis</i> (sólo cultivos)
	<i>Brucella abortus</i> (sólo cultivos)
	<i>Brucella melitensis</i> (sólo cultivos)
	<i>Brucella suis</i> (sólo cultivos)
	<i>Burkholderia mallei</i> – <i>Pseudomonas mallei</i> – muermo (sólo cultivos)
	<i>Burkholderia pseudomallei</i> – <i>Pseudomonas pseudomallei</i> (sólo cultivos)
	<i>Chlamydia psittaci</i> – cepas aviares (sólo cultivos)
	<i>Clostridium botulinum</i> (sólo cultivos)
	<i>Coccidioides immitis</i> (sólo cultivos)
	<i>Coxiella burnetii</i> (sólo cultivos)
	Virus de la fiebre hemorrágica de Crimea y el Congo
	Virus del dengue (sólo cultivos)
	Virus de la encefalitis equina oriental (sólo cultivos)
	<i>Escherichia coli</i> verotoxigénico (sólo cultivos) ¹
	Virus de Ebola
	Virus flexal
	<i>Francisella tularensis</i> (sólo cultivos)
	Virus de Guanarito
	Virus de Hantaan
	Hantavirus que causan fiebre hemorrágica con síndrome renal
	Virus de Hendra
	Virus de la hepatitis B (sólo cultivos)
	Virus del herpes B (sólo cultivos)
	Virus de la inmunodeficiencia humana (sólo cultivos)
	Virus de la gripe aviar hiperpatógena (sólo cultivos)
	Virus de la encefalitis japonesa (sólo cultivos)
	Virus de Junin
	Virus de la enfermedad de la selva de Kyasanur
	Virus de Lassa
	Virus de Machupo
Virus de Marburgo	
Virus de la viruela de los monos	

	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> (sólo cultivos) ¹
	Virus de Nipah
	Virus de la fiebre hemorrágica de Omsk
	Virus de la poliomielitis (sólo cultivos)
	Virus de la rabia (sólo cultivos)
	<i>Rickettsia prowazekii</i> (sólo cultivos)
	<i>Rickettsia rickettsii</i> (sólo cultivos)
	Virus de la fiebre del valle del Rift (sólo cultivos)
	Virus de la encefalitis rusa de primavera-verano (sólo cultivos)
	Virus de Sabia
	<i>Shigella dysenteriae</i> de tipo 1 (sólo cultivos) ¹
	Virus de la encefalitis transmitida por garrapatas (sólo cultivos)
	Virus variólico
	Virus de la encefalitis equina venezolana (sólo cultivos)
	Virus del Nilo Occidental (sólo cultivos)
	Virus de la fiebre amarilla (sólo cultivos)
	<i>Yersinia pestis</i> (sólo cultivos)
UN 2900: Sustancias infecciosas que afectan a los animales únicamente	Virus de la peste porcina africana (sólo cultivos)
	Paramixovirus aviar de tipo 1 – virus de la enfermedad de Newcastle velogénica (sólo cultivos)
	Virus de la peste porcina clásica (sólo cultivos)
	Virus de la fiebre aftosa (sólo cultivos)
	Virus de la dermatosis nodular (sólo cultivos)
	<i>Mycoplasma mycoides</i> – pleuroneumonía bovina contagiosa (sólo cultivos)
	Virus de la peste de los pequeños rumiantes (sólo cultivos)
	Virus de la peste bovina (sólo cultivos)
	Virus de la viruela ovina (sólo cultivos)
	Virus de la viruela caprina (sólo cultivos)
	Virus de la enfermedad vesicular porcina (sólo cultivos)
	Virus de la estomatitis vesicular (sólo cultivos)

CAPÍTULO 8

8. MANIPULACIÓN SEGURA DE MATERIAL BIOLÓGICO Y MUESTRAS, RECEPCIÓN, ALMACENAMIENTO Y TRASLADO DEL MATERIAL BIOLÓGICO DENTRO DE LAS INSTALACIONES DE LABORATORIOS BÁSICOS BSL-1 Y BSL-2

8.1. MANIPULACIÓN SEGURA DE MATERIAL Y MUESTRAS

La desinformación en las buenas prácticas de laboratorio y el mal uso del equipo son algunas de las causas que provocan incidentes o accidentes en el laboratorio. Por ello se debe seguir protocolos y PEO destinadas evitar o reducir al mínimo los accidentes más comunes provocados por esos factores.

TML

Manipulación segura de muestras en el laboratorio:

La recepción, manipulación, almacenamiento, traslado de muestras en el laboratorio involucran riesgo de infección para el personal.

Recipientes para contención de muestras biológicas:

Los recipientes para muestras pueden ser de vidrio o, preferiblemente, de plástico; deben ser rígidos, herméticos y no permitir fugas cuando la tapa o el tapón estén colocados. En el

exterior del recipiente no debe haber contaminación con el material biológico. Los recipientes deben estar rotulados para facilitar su identificación.

Traslado de muestras dentro de la instalación:

Para evitar fugas o derrames accidentales, deben utilizarse envases/embalajes secundarios (cajas) equipados con gradillas, de modo que los recipientes que contienen las muestras se mantengan en posición vertical. Los envases/embalajes secundarios pueden ser de metal o de plástico, con el fin de tratarlos en autoclave o ser resistentes a la acción de los desinfectantes químicos periódicamente.

Recepción de las muestras:

Los laboratorios que reciban muestras deben destinar un área apropiada y especial con este propósito.

Apertura de los envases/embalajes:

El personal que recibe y desempaqueta las muestras debe conocer las acciones a seguir en caso de que reciba recipientes rotos o con fugas. Los recipientes primarios de las muestras deben abrirse en una CSB y se dispondrá de desinfectantes apropiado al material biológico.

Uso de pipetas y dispositivos automáticos de pipeteo:

El pipeteo con la boca está prohibido; debe utilizarse siempre un dispositivo de pipeteo automático.

Todas las pipetas tendrán tapones de algodón para reducir la contaminación en los dispositivos de pipeteo automático.

Debe evitarse la expulsión rápida de material biológico aspirado en una pipeta.

Son preferibles las pipetas aforadas con una muesca superior y otra inferior, ya que no presenta la expulsión de la última gota.

Las pipetas contaminadas deben sumergirse completamente en un desinfectante apropiado al agente que se manipula; permaneciendo sumergidas en un recipiente irrompible durante el tiempo necesario para su desinfección.

Debe colocarse un recipiente para las pipetas usadas dentro (no fuera) de la CSB.

No deben utilizarse jeringas provistas de aguja hipodérmica para pipetear. En sustitución de agujas, existen dispositivos para abrir los frascos tapados con un diafragma que permiten usar pipetas y evitar el uso de agujas y jeringas hipodérmicas.

Para evitar la dispersión del material infeccioso que caiga accidentalmente de una pipeta (BSL-2), se recubrirá la superficie de trabajo con material absorbente o toallas con desinfectante, que se introducirán en bolsas especiales (con el símbolo de riesgo biológico) para su posterior desinfección en autoclave.

Técnicas para evitar la dispersión de material infeccioso:



Asas microbiológicas:

Para evitar que el material biológico caiga del asa, esta debe tener un diámetro de 2–3mm y terminar en un anillo completamente cerrado. Los mangos no deben tener más de 6cm de longitud para reducir la vibración al mínimo.

Para evitar el riesgo de que se produzcan salpicaduras de material infeccioso al flamear las asas en el mechero, se recomienda utilizar un microincinerador eléctrico cerrado para esterilizar las asas. Es preferible utilizar asas desechables que no necesitan volver a ser esterilizadas.

Al secar muestras con material biológico debe procederse con cuidado para evitar la creación y liberación de aerosoles.

Las muestras y los cultivos para desecho deben introducirse en bolsas especiales impermeables para autoclave, etiquetadas con el símbolo de riesgo biológico.

Es recomendable no cerrar las bolsas por completo cuando se van a esterilizar, ya que el vapor debe introducirse para esterilizar apropiadamente.

Las zonas de trabajo se descontaminarán con un desinfectante apropiado después de cada periodo de trabajo.

Almacenamiento de material biológico y muestras en refrigeradores y congeladores:

Los equipos de congelación y sus recipientes deben descongelarse y limpiarse y desinfectarse periódicamente; se eliminarán los tubos, ampollas y otros objetos que ya no se van a utilizar en experimentación, tratándolos en autoclave y posteriormente desecharlos apropiadamente; durante la limpieza se debe utilizar EPP guantes de goma gruesos y protección facial; después de la limpieza se desinfectarán las superficies interiores de la cámara.

Todos los recipientes almacenados en refrigeradores y congeladores deben llevar etiquetas bien claras con la identificación del contenido, la fecha de almacenamiento y el nombre de la persona que los almacenó. Los materiales sin etiquetas deben tratarse en la autoclave y desecharse.

Debe mantenerse un inventario del contenido de los refrigeradores y congeladores. No deben guardarse nunca soluciones inflamables en refrigeradores, excepto si estos son apropiados para ello y a prueba de explosión. En las puertas de los refrigeradores se colocarán advertencias al respecto.

Técnicas para la apertura de ampollas que contengan material infeccioso liofilizado:

Conviene abrir con precaución las ampollas de material liofilizado pues, al estar cerradas a presión reducida, la entrada brusca de aire puede dispersar el contenido en el ambiente. Las ampollas deben abrirse siempre dentro de una CSB y para ello se recomienda el siguiente procedimiento:

- Descontaminar la superficie externa de la ampollita.
 - Limar ligeramente el cuello del tubo, cerca de la mitad del tapón de algodón o celulosa. ●
- Sujetar la ampolla en un algodón empapado en alcohol para proteger las manos antes de romperla por la marca que se dejó al limar.
- Retirar con cuidado la parte superior y tratarla como si fuera material contaminado (introducir en bolsa para autoclave).

Si el tapón sigue estando por encima del contenido de la ampolla, retirarlo con una pinza estéril.

- Reconstituir la suspensión añadiendo el líquido lentamente para evitar la formación de espuma.

Almacenamiento de ampollas que contengan material infeccioso:

Las ampollas que contienen material infeccioso no se deben sumergir nunca en nitrógeno líquido, ya que si presentan fisuras o mal cerradas podrían romperse o explotar al sacarlas.

Si se necesitan temperaturas muy bajas, las ampollas deben almacenarse en ultracongeladores. Al retirar las ampollas del almacenamiento en frío, el personal deberá llevar EPP para cubrir los ojos y las manos. Las ampollas conservadas por estos procedimientos se descontaminarán por fuera siempre que se saquen del lugar de almacenamiento.

Precauciones normalizadas en relación con la sangre y otros líquidos corporales, tejidos y excreciones:

Las precauciones normalizadas están concebidas para reducir el riesgo de transmisión de microorganismos de fuentes de infección tanto reconocidas como no reconocidas.

Se seguirán siempre las precauciones normalizadas y se usará EPP como guantes en todos los procedimientos.

La toma de sangre de personas y animales estará a cargo de personal capacitado.

En las flebotomías, los sistemas convencionales de aguja y jeringas se sustituirán por dispositivos de seguridad al vacío de un solo uso que permitan recoger la sangre directamente en tubos de transporte o de cultivo con tapón y que inutilicen la aguja después del uso.

Los tubos se colocarán en recipientes apropiados para el transporte hacia el laboratorio y dentro del laboratorio.

Apertura de tubos de muestras y muestreo del contenido:

Los tubos de muestras deben abrirse en una CSB; deben utilizarse EPP como guantes, también se recomienda proteger los ojos y las mucosas (gafas de seguridad de tipo máscara o viseras) y prendas para protección de ropa.

Para quitar el tapón, éste cubrirá con un trozo de papel o de gasa con desinfectante y se destapará cuidadosamente con el fin de evitar salpicaduras.

Vidrio y objetos punzantes y cortantes:

Siempre que sea posible, se sustituirá el material de vidrio por material de plástico. Sólo se utilizará vidrio duro especial para laboratorio (borosilicato); se desechará apropiadamente todo el material que esté astillado o agrietado.

Extensiones y frotis para el examen microscópico:

La fijación y tinción de muestras de sangre, esputo y heces para el microscopio no inactivan todos los microorganismos o virus de las extensiones; éstas deben manipularse con guantes y con pinzas, almacenarse cuidadosamente y descontaminarlas o tratarlas en autoclave antes de eliminarlas apropiadamente.

Tejidos:

Se utilizarán fijadores a base de formol.

Se evitarán los cortes de material congelado. Cuando sea necesario, usar el criostato el trabajador utilizará visera de seguridad. Para la descontaminación del equipo, la temperatura del instrumento se elevará a 20°C, como mínimo.

Descontaminación:

Para la descontaminación se recomiendan hipocloritos y desinfectantes de alto nivel. Las soluciones de hipoclorito recién preparadas contendrán cloro disponible a razón de 1 g/l para uso general, y de 5 g/l para limpiar derrames de sangre. Para la desinfección de superficies puede utilizarse glutaraldehído.



8.2. USO DE ANIMALES EN LABORATORIOS DE BIOSEGURIDAD

Al igual que los laboratorios, los laboratorios de animales pueden clasificarse en cuatro niveles de bioseguridad, con arreglo a una evaluación del riesgo y al grupo de riesgo al que pertenecen los microorganismos investigados.

Nivel de Bioseguridad 1 para Animales ABSL-1 (del inglés Animal Biosafety Level)

El laboratorio ABSL-1 es el apropiado para mantener a la mayoría de los animales después de la cuarentena y para los animales que son inoculados deliberadamente con agentes del GR1.

El responsable del Bioterio así como la Comisión de Bioterio deberán determinar las políticas, procedimientos y protocolos para todas las operaciones, así como para el acceso mismo. Se debe instituir un programa apropiado de vigilancia médica para el personal y debe contar con manual de seguridad de las operaciones.

El Nivel de Bioseguridad ABSL-2 para Animales

Este nivel es apropiado para el trabajo con animales a los que se inoculan deliberadamente microorganismos del GR2. Se aplicarán las siguientes precauciones de seguridad:

1. Se cumplirá todos los requisitos de los bioterios de nivel ABSL-1
2. Se colocará señales de advertencia del peligro biológico en las puertas y otros lugares apropiados.
3. El local estará diseñado de modo que sea fácil de limpiar y mantener.
4. Las puertas deben abrirse hacia dentro y cerrarse solas.
5. La calefacción, la ventilación y la iluminación deben ser apropiadas.
6. Si se instala ventilación mecánica, el flujo de aire debe dirigirse hacia dentro. El aire utilizado se evacuará al exterior y no se reciclará a ninguna otra parte del edificio.
7. El acceso se limitará a las personas autorizadas.
8. No se admitirá ningún animal distinto de los utilizados con fines experimentales.
9. Existirá un programa de lucha contra artrópodos y roedores.
10. Si hay ventanas, éstas serán seguras, irrompibles y, si se pueden abrir, llevarán rejillas a prueba de artrópodos.
11. Las superficies de trabajo habrán de ser descontaminadas con desinfectantes eficaces después del trabajo.
12. Se dispondrá de CSB (clases I ó II) o jaulas aislantes con suministro especial de aire y salida a través de filtros HEPA para aquellas tareas que puedan involucrar la generación de aerosoles.
13. Se dispondrá de autoclave en las instalaciones del Bioterio.
14. El material de los lechos y serrines de las jaulas de los animales se eliminará de modo que se reduzca al mínimo la producción y liberación de aerosoles y polvo.

15. Todos los materiales de desecho de los lechos y serrines deben descontaminarse antes de su disposición final.

16. Se restringirá en lo posible el uso de instrumentos punzantes o cortantes. Éstos se recogerán siempre en recipiente resistente claramente indicado con el símbolo de residuo peligroso biológico-infeccioso y a prueba de perforación, provistos de tapa, y serán tratados como material infeccioso.

17. El material destinado al tratamiento con autoclave o a la incineración debe transportarse sin riesgo en recipientes apropiadamente cerrados.

18. Las jaulas de los animales se descontaminarán después de su uso.

19. Los cadáveres de los animales serán incinerados.

20. En el local se utilizará ropa y equipo de protección, que se retirará a la salida.

21. Se instalarán lavabos y el personal se lavará las manos antes de salir del animalario.

22. Todas las lesiones, por leves que sean, deberán ser tratadas de forma apropiada, notificadas y registradas.

23. Estará prohibido comer, beber, fumar y aplicar cosméticos dentro de estas instalaciones.

24. Todo el personal deberá recibir capacitación apropiada.

El Nivel de Bioseguridad ABSL-3 para Animales

Este nivel es apropiado para trabajar con animales que son inoculados deliberadamente con agentes incluidos en el grupo de riesgo 3, o cuando así lo indique la evaluación del riesgo.

Todos los sistemas, prácticas y procedimientos habrán de ser revisados y certificados nuevamente una vez al año. Se aplicará las siguientes precauciones de seguridad:

1. Deben cumplirse todos los requisitos correspondientes a Bioterio BBSL 2 y BBSL3.

2. El acceso debe estar estrictamente controlado.
3. El laboratorio destinado a animales estará separado de otros laboratorios por dos puertas que formen un vestíbulo o antesala.
4. En el vestíbulo se instalará lavabos.
5. En el vestíbulo se instalará duchas.
6. Habrá que disponer de ventilación mecánica que asegure un flujo continuo de aire en todos los locales. El aire de salida pasará por filtros HEPA antes de ser evacuado a la atmósfera sin ningún tipo de recirculación. El sistema estará diseñado de tal modo que impida el flujo de retorno accidental y que haya presión positiva en todas partes del laboratorio.
7. Se dispondrá de una autoclave y los residuos infecciosos se tratarán para su desinfección antes de trasladarlos a su destino final de acuerdo a la normatividad aplicable.
8. Se dispondrá de un incinerador de fácil acceso en la instalación o se tomará otras disposiciones al mismo efecto con las autoridades competentes.
9. Los animales infectados con microorganismos del grupo de riesgo 3 estarán alojados en jaulas aisladas o en locales con salidas de ventilación situadas detrás de las jaulas.
10. Los lechos y serrines de las jaulas de los animales, deberán someterse a desinfección por calor húmedo.
11. Toda la ropa protectora deberá ser descontaminada antes de enviarla a la lavandería.
12. Las ventanas estarán herméticamente cerradas y serán resistentes a la rotura.

Riesgo/contención

1. ABSL-1 Acceso restringido, ropa y guantes protectores.

2. ABSL-2 Procedimientos del ABSL-1, más señales de advertencia del riesgo. CSB de clase I ó II para las actividades que producen aerosoles. Descontaminación de desechos y jaulas antes del lavado.

3. ABSL-3 Procedimientos del ABSL-2, más acceso controlado. CSB y ropa protectora especial para todas las actividades.

4. ABSL-4 Procedimientos del ABSL-3, más acceso estrictamente restringido. Muda de ropa antes de entrar. CSB de clase III o trajes de presión positiva. Ducha a la salida. Descontaminación de todos los desechos antes de su salida de las instalaciones.

En lo que respecta a los agentes patógenos que van a utilizarse en el laboratorio de animales, hay que tener en cuenta los siguientes factores:

1. La vía normal de transmisión.
2. Los volúmenes y las concentraciones que va a manejarse.
3. La vía de inoculación.
4. En su caso, la vía de excreción de los agentes.

En cuanto a los animales que van a usarse en el laboratorio, los factores que hay que tener en cuenta son los siguientes:

1. El carácter de los animales, es decir, su grado de agresividad y tendencia a morder o arañar.
2. Sus endoparásitos y ectoparásitos naturales.
3. Las zoonosis a las que son susceptibles.
4. La posible diseminación de alérgenos.

8.3. MANIPULACIÓN DE RESIDUOS PELIGROSOS BIOLÓGICO INFECCIOSOS (RPBI) Y DESCONTAMINACIÓN.

Se considera desecho todo aquello que debe descartarse. El principio básico es que todo el material infeccioso ha de ser descontaminado, esterilizado en autoclave cercana al laboratorio y cumplir con el “Plan de manejo Institucional de material peligroso biológico-infeccioso y sus residuos RPBI, con el objeto de disponer adecuadamente los RPBI para su eliminación y destino final de acuerdo a la normatividad (NOM-087-ECOL-SSA1-2002).

El tratamiento en autoclave de vapor constituye el método de elección para todos los procesos de descontaminación. El material RPBI proveniente de cultivos y cepas de agentes biológico-infecciosos destinado a la descontaminación, debe introducirse en bolsas resistentes al calor húmedo y deben estar marcadas con el símbolo de riesgo biológico y la leyenda Residuos Peligrosos Biológico-Infecciosos (RPBI).

Los objetos punzocortantes que han estado en contacto con humanos o animales o sus muestras biológicas tale como: capilares, navajas, lancetas, agujas de jeringas desechables, agujas hipodérmicas, de sutura, bisturís entre otros, deberán colocarse en recipientes rígidos, de polipropileno color rojo marcado con el símbolo de riesgo biológico y la leyenda Residuos Peligrosos Punzocortante Biológico-Infecciosos y depositarlo en el congelador ubicado en el área de almacenamiento temporal para su disposición final.

Los RPBI anatómicos, patológicos como los tejidos, órganos y partes que se extirpan o remueven durante las necropsias, la cirugía o algún otro tipo de intervención quirúrgica, que no se encuentren en formol y muestras biológicas, microbiológicas, citológicas e histológico. También los cadáveres y partes de animales que fueron inoculados con agentes enteropatógenos en centros de investigación y bioterios, se deberán introducir en bolsas

amarillas marcadas con el símbolo de riesgo biológico y la leyenda Residuos Peligrosos Biológico-Infeciosos, para colocarlas en el congelador ubicado en el área de almacenamiento temporal para su disposición final.

CAPÍTULO 9



9. CONTINGENCIA BIOLÓGICA, INCIDENTES, ACCIDENTES, SALPICADURAS Y DERRAME, ACCIONES CORRECTIVAS, MITIGACIÓN, DESCONTAMINACIÓN Y PLAN DE EMERGENCIA

9.1 EN CBS

9.2 EN INCUBADORAS

9.3 EN CENTRÍFUGAS

9.4 EN PISOS Y MESAS DE TRABAJO DEL LABORATORIO

9.5 FORMATO PARA REPORTAR PROBLEMAS E INCIDENTES

CAPÍTULO 10



10. DESINFECCIÓN

10.1 LIMPIEZA, NIVELES DE DESINFECCIÓN Y ESTERILIZACIÓN

10.2 ANTISÉPTICOS, FUMIGANTES, DESINFECTANTES Y ESTERILIZANTES

10.3 EFICACIA DE LA DESINFECCIÓN

Para la bioseguridad en el laboratorio es fundamental el conocimiento básicos sobre la desinfección y la esterilización. Los objetos antes de someterse a desinfección o esterilización deben limpiarse ya que aquellos muy sucios no pueden desinfectarse o esterilizarse rápidamente, es igualmente importante comprender los conceptos básicos de la limpieza previa.

El tiempo de contacto con los desinfectantes es distinto para cada material, asimismo deben seguirse las recomendaciones del fabricante para el uso de desinfectantes especiales.

Con el fin de entender la diferencia entre los desinfectantes y los procedimientos de esterilización en bioseguridad, es importante definir los siguientes términos:

Los antimicrobianos son agentes que matan a los microorganismos o suprimen su crecimiento y proliferación.

Los antisépticos son sustancias que inhiben el crecimiento y el desarrollo de microorganismos pero no necesariamente los mata. Los antisépticos suelen aplicarse a las superficies corporales.

Los biocidas son agentes que matan organismos.

La descontaminación es cualquier proceso utilizado para eliminar o matar microorganismos; suele utilizarse el término para referirse a eliminación, neutralización y remoción de agentes químicos o radiactivos del sitio contaminado.

La desinfección es el medio físico o químico para matar microorganismos, pero no necesariamente esporas.

Los desinfectantes son sustancia o mezclas de sustancias químicas utilizada para matar microorganismos, pero no necesariamente esporas. Los desinfectantes suelen aplicarse a superficies, objetos y materiales.

Los esporicidas son sustancias o mezclas de sustancias químicas utilizadas para matar microorganismos y esporas.

La esterilización es un proceso que mata o elimina todas las clases de microorganismos y esporas.

Los germicida químicos son sustancias o mezclas de sustancias químicas utilizada para matar microorganismos.

Los microbicidas son sustancias o mezclas de sustancias químicas que matan microorganismos.

Este término se utiliza a menudo en lugar de biocida, germicida químico o antimicrobiano.

Limpieza del material de laboratorio:

La limpieza consiste en la eliminación de suciedad, materia orgánica, manchas o material extraño de un instrumento; incluye el cepillado, la aspiración, el desempolvado en seco, el lavado o el fregado con un paño y agua con jabón o detergente. La suciedad, la tierra y la materia orgánica pueden contener microorganismos e interferir con la acción de los descontaminantes (antisépticos, germicidas químicos y desinfectantes). La limpieza previa es fundamental para conseguir una correcta desinfección o esterilización. Muchos productos germicidas sólo son activos sobre material previamente limpio.

La limpieza previa debe llevarse a cabo con cuidado para evitar la exposición a agentes infecciosos. Deben utilizarse materiales que sean químicamente compatibles con los germicidas que vayan a utilizarse después. Es muy frecuente utilizar el mismo germicida químico para la limpieza previa y la desinfección posterior.

Algunos germicidas químicos:

La actividad germicida de muchas sustancias químicas es más rápida y eficaz a temperaturas más altas, pero las temperaturas elevadas también pueden acelerar su evaporación y degradarlas.

Muchos germicidas pueden ser perjudiciales para el ser humano o el medio ambiente. Se deben seleccionar, almacenar, manipular, utilizar y eliminar con precaución, siguiendo las instrucciones del fabricante. Deben utilizarse con EPP, guantes, delantales y protección ocular cuando se preparen diluciones de germicidas químicos. Normalmente no se necesita recurrir a germicidas químicos para la limpieza ordinaria de suelos, paredes, equipo y mobiliario, pero su uso puede ser apropiado en ciertos casos para controlar brotes.

Cloro (hipoclorito sódico)

El cloro, oxidante de acción rápida, es un germicida químico de uso muy extendido y de amplio espectro, una solución acuosa de hipoclorito sódico (NaOCl) que puede diluirse en agua para conseguir distintas concentraciones de cloro libre. El cloro, especialmente en forma de lejía, es sumamente alcalino y puede ser corrosivo para los metales, sin embargo, cuando se acidifica libera cloro, por lo cual no se debe guardar cercano a recipientes que contengan ácidos. Su actividad se ve considerablemente reducida por la materia orgánica (proteínas). Su mecanismo de acción es a través de la oxidación de aminoácidos y enzimas, pérdida de contenido intracelular, decremento de nutrientes e inhibe la síntesis de proteínas.

Las soluciones de hipoclorito sódico (como la lejía de uso doméstico) contienen 50 g/l de cloro libre y por tanto deben diluirse a razón de 1 : 50 o 1 : 10 para obtener concentraciones finales de 1 g/l y 5 g/l, respectivamente. Las soluciones industriales de lejía tienen una concentración de hipoclorito sódico cercana a los 120 g/l y deben diluirse en consecuencia para obtener los niveles indicados más arriba.

Los gránulos o comprimidos de hipoclorito cálcico ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$) suelen contener alrededor de un 70% de cloro libre. Las soluciones preparadas con gránulos o comprimidos, que

contienen 1,4 g/l y 7,0 g/l, contendrán entonces 1,0 g/l y 5 g/l de cloro libre, respectivamente.

Cloraminas

Las cloraminas existen en forma de polvo que contiene aproximadamente un 25% de cloro libre. Al liberar el cloro a menos velocidad que los hipocloritos, se requieren concentraciones iniciales más altas para obtener una eficacia equivalente a la de aquéllos.

Por otro lado, las soluciones de cloramina no son inactivadas por la materia orgánica con la misma intensidad que los hipocloritos y se recomienda una concentración de 20 g/l para situaciones tanto limpias como sucias. Las soluciones de cloramina son prácticamente inodoras. No obstante, los objetos sumergidos en ellas deben enjuagarse concienzudamente para eliminar todo residuo de los agentes inertes que se añaden a los polvos de cloramina T (tosilcloramida sódica).

Dióxido de cloro

El dióxido de cloro (ClO_2) es un germicida, desinfectante y oxidante potente y de acción rápida que a menudo tiene actividad a concentraciones inferiores a las necesarias en el caso del cloro procedente de la lejía. La forma gaseosa es inestable y se descompone en cloro gaseoso (Cl_2) y oxígeno gaseoso (O_2), produciendo calor.

El dióxido de cloro es el más selectivo de los biocidas oxidantes. El ozono y el cloro son mucho más reactivos que el dióxido de cloro y son consumidos por la mayoría de los compuestos orgánicos.

Formaldehído

El formaldehído (HCHO) es un gas que mata todos los microorganismos y esporas a temperaturas superiores a los 20°C. Sin embargo, no tiene actividad contra los priones. Su

acción es relativamente lenta y requiere una humedad relativa de alrededor del 70%. Se comercializa en forma de polímero sólido (paraformaldehído), en copos o comprimidos, o como formol, solución del gas en agua con aproximadamente 370 g/l (37%) y con metanol (100 ml/l) como estabilizante. Ambas formulaciones se calientan para liberar el gas, que se utiliza en la descontaminación y la desinfección de espacios cerrados como CSB y locales. El formaldehído (un 5% de formol en agua) puede utilizarse como desinfectante líquido. El formaldehído es un agente presuntamente cancerígeno. Se trata de un gas peligroso de olor acre que puede irritar los ojos y las mucosas. Así pues, debe almacenarse y utilizarse con una campana extractora de vapores o en zonas bien ventiladas. Deben observarse las hojas de seguridad para cada uno de estos agentes químicos.

Glutaraldehído

Actúa por alquilación y entrecruzamiento de proteínas, y al igual que el formaldehído, el glutaraldehído ($\text{OHC}-(\text{CH}_2)_3\text{CHO}$) tiene actividad contra formas vegetativas de bacterias, esporas, hongos y virus con y sin envoltura lipídica. No es corrosivo y su acción es más rápida que la del formaldehído. No obstante, tarda varias horas en matar las esporas bacterianas.

El glutaraldehído suele suministrarse en forma de solución con una concentración de unos 20 g/l (2%); algunos productos antes de ser utilizados necesitan ser activados (alcalinizados) mediante la adición de un compuesto de bicarbonato que se suministra con el producto. La solución activada puede volver a utilizarse durante 1 a 4 semanas, según la formulación y el tipo y la frecuencia de uso. Las tiras reactivas indicadoras que se suministran con algunos productos sólo dan una indicación aproximada de los niveles de glutaraldehído activo disponible en las soluciones en uso.

Las soluciones de glutaraldehído deben desecharse apropiadamente si están turbias. El glutaraldehído es tóxico e irritante para la piel y las mucosas; debe evitarse el contacto con él. Debe utilizarse con una campana extractora de vapores o en locales bien ventilados. No se recomienda en forma de pulverización ni de solución para descontaminar superficies. Deben consultarse las especificaciones de peligrosidad química en las hojas de seguridad (<http://hq.msdsonline.com/miamiedu/Search/AccessAccount.aspx>).

Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos actúan por desnaturalización de proteínas y tienen actividad contra las formas vegetativas de las bacterias y contra los virus con envoltura lipídica y, cuando están debidamente formulados, también son activos contra las micobacterias. No tienen actividad contra las esporas y su actividad contra los virus sin envoltura lipídica es variable. Muchos productos fenólicos se utilizan para descontaminar superficies ambientales, y algunos (por ejemplo, el triclosán y el cloroxilenol) se encuentran entre los antisépticos más usados.

El triclosán es común en los productos para el lavado de manos. Tiene actividad principalmente contra las formas vegetativas de las bacterias y es inocuo para la piel y las mucosas. Algunos compuestos fenólicos son sensibles a la dureza del agua y pueden quedar inactivados con aguas duras; por esa razón, deben diluirse con agua destilada o desionizada.

Compuestos de amonio cuaternario

Muchos tipos de compuestos de amonio cuaternario se utilizan como mezclas y a menudo en combinación con otros germicidas, como los alcoholes. Tienen buena actividad contra algunas bacterias en fase vegetativa y virus con envoltura lipídica. Actúan incrementando la

permeabilidad de la pared celular. Algunos tipos (por ejemplo, el cloruro de benzalconio) se utilizan como antisépticos. La actividad germicida de ciertos tipos de compuestos de amonio cuaternario se reduce considerablemente con la materia orgánica, las aguas duras y los detergentes aniónicos. Así pues, es necesario tener cuidado en la selección de los agentes empleados en la limpieza previa cuando se vayan a utilizar compuestos de amonio cuaternario para la desinfección. En las soluciones de estos compuestos pueden proliferar bacterias potencialmente nocivas, gram negativas (CDC 1983). Debido a su baja biodegradabilidad, estos compuestos también pueden acumularse en el medio ambiente.

Alcoholes

El etanol (alcohol etílico, C_2H_5OH) y el 2-propanol (alcohol isopropílico, $(CH_3)_2CHOH$) tienen propiedades desinfectantes similares. Son activos contra las formas vegetativas de las bacterias, los hongos y los virus con envoltura lipídica, pero no contra las esporas. Su acción sobre los virus sin envoltura lipídica es variable. Para conseguir la máxima eficacia deben utilizarse en concentraciones acuosas de aproximadamente un 70% (v/v): las concentraciones más altas o más bajas pueden no tener tanto poder germicida. Una de las grandes ventajas de las soluciones acuosas de alcoholes es que no dejan residuo alguno en los objetos tratados ya que tiene efecto secante por ejemplo en piel. Las mezclas con otros agentes son más eficaces que el alcohol por sí solo; por ejemplo, el alcohol al 70% (v/v) con 100 g/l de formaldehído, o el alcohol con 2 g/l de cloro libre. Las soluciones acuosas de etanol al 70% (v/v) pueden utilizarse en la piel, las superficies de trabajo de las mesas de laboratorio y las CSB, así como para sumergir pequeñas piezas de instrumental quirúrgico. Dado que el etanol puede secar la piel, a menudo se mezcla con emolientes. Las frías de alcohol se recomiendan para descontaminar manos ligeramente sucias en situaciones en las

que no es posible o práctico lavarlas. Sin embargo, hay que recordar que el etanol no tiene actividad contra las esporas y quizá no mate todos los tipos de virus sin envoltura lipídica.

Los alcoholes son volátiles e inflamables y no deben utilizarse en las proximidades de flamas abiertas. Las soluciones de trabajo deben almacenarse en recipientes apropiados para evitar la evaporación. Los alcoholes pueden endurecer el caucho y disolver ciertos tipos de pegamentos. El inventario y el almacenamiento apropiados del etanol en el laboratorio son sumamente importantes con el fin de evitar que se use para aplicaciones distintas de la desinfección. Los frascos que contengan soluciones con alcohol deben rotularse con claridad para evitar que sean tratados en la autoclave.

Yodo y yodóforos

La acción de estos desinfectantes es análoga a la del cloro, aunque pueden ser ligeramente menos susceptibles a la inhibición por la materia orgánica. El yodo puede manchar los tejidos y las superficies del entorno, y en general no es adecuado como desinfectante. Por otro lado, los yodóforos y las tinturas de yodo son buenos antisépticos. La povidona yodada es un agente de lavado quirúrgico fiable e inocuo, y sirve como antiséptico cutáneo preoperatorio. Los antisépticos a base de yodo no suelen ser adecuados para utilizarlos en material médico/dental. El yodo no debe usarse en objetos de aluminio o cobre. El yodo puede ser tóxico, produce irritación cutánea y se absorbe a nivel sistémico, contraindicado en alteraciones de la tiroides, en embarazadas y neonatos.

Los productos orgánicos a base de yodo deben almacenarse a 4–10 °C para evitar la proliferación de bacterias potencialmente peligrosas en ellos.

Peróxido de hidrógeno y perácidos

Como el cloro, el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y los perácidos son oxidantes enérgicos y pueden servir como potentes germicidas de amplio espectro. Son también más inocuos que el cloro para el ser humano y para el medio ambiente. El peróxido de hidrógeno se suministra en forma de solución al 3% lista para usar o como solución acuosa al 30% que debe ser diluida hasta 5–10 veces su volumen en agua esterilizada. Sin embargo, esas soluciones al 3–6% por sí solas son relativamente lentas y limitadas como germicidas. Los productos disponibles hoy en día tienen otros ingredientes para estabilizar el contenido de peróxido de hidrógeno, acelerar su acción germicida y hacerlo menos corrosivo. El peróxido de hidrógeno puede utilizarse para descontaminar las superficies de trabajo del laboratorio y de las CSB, y las soluciones más potentes pueden servir para desinfectar el material médico/dental sensible al calor. El uso de peróxido de hidrógeno vaporizado o ácido peracético (CH_3COOOH) para la descontaminación

de material médico/quirúrgico sensible al calor requiere equipo especializado. El peróxido de hidrógeno y los perácidos pueden ser corrosivos para metales como el aluminio, el cobre, el latón y el zinc, y también pueden descolorar tejidos, cabellos, piel y mucosas. Los objetos tratados con ellos deben enjuagarse concienzudamente antes del contacto con ojos y mucosas, ya que puede ocasionar daño en la córnea. Siempre se almacenarán alejados del calor y protegidos de la luz.

Descontaminación de espacios y superficies

La descontaminación del espacio, el mobiliario y el equipo de laboratorio requiere una combinación de desinfectantes líquidos y gaseosos. Las superficies pueden descontaminarse con una solución de hipoclorito sódico ($NaOCl$); una solución que contenga 1 g/l de cloro libre puede ser apropiada para la limpieza general,

Las salas y el equipo pueden descontaminarse por fumigación con formaldehído gaseoso, que se obtiene calentando paraformaldehído o hirviendo formol. Este procedimiento es sumamente peligroso y debe ser realizado por personal especialmente adiestrado. Todas las aberturas del local (ventanas, puertas, entre otros) deben cerrarse con cinta adhesiva o un material análogo antes de que se desprenda el gas. La fumigación debe efectuarse a una temperatura ambiente de al menos 21 °C y una humedad relativa del 70% .Tras la fumigación, la zona debe ventilarse completamente antes de permitir la entrada de personal. Toda persona que entre en la sala antes de la ventilación habrá de llevar mascarillas respiratorias apropiadas. Para neutralizar el formaldehído puede utilizarse bicarbonato amónico gaseoso. La fumigación de espacios reducidos con vapores de peróxido de hidrógeno también es eficaz, pero requiere equipo especializado para generar el vapor.

Descontaminación de cámaras de seguridad biológica

Para descontaminar las CSB de las clases I y II se dispone de aparatos autónomos que generan, ponen en circulación y neutralizan formaldehído gaseoso de forma independiente. Si no se dispone de ese equipo, debe colocarse la cantidad apropiada de paraformaldehído (concentración final de 0,8% de paraformaldehído en el aire) en un recipiente sobre una placa eléctrica caliente. En una segunda placa caliente, también dentro de la cámara, se coloca otro recipiente con bicarbonato amónico en una cantidad un 10% mayor que el paraformaldehído. Ambas placas debe estar conectadas fuera de la cámara para que se pueda controlar su funcionamiento desde el exterior. Si la humedad relativa es inferior al 70%, también debe colocarse un recipiente con agua caliente en el interior de la cámara antes de sellar los bordes de la ventana frontal con cinta adhesiva fuerte (cinta aislante, por ejemplo). Se enciende la placa con el recipientes de paraformaldehído y se apaga cuando se

haya evaporado totalmente. La cámara se deja en reposo durante al menos 6 horas. Entonces se enciende la segunda placa y se permite que el bicarbonato amónico se evapore. En ese momento se apaga la placa y se enciende el ventilador de la CSB durante dos intervalos de unos dos segundos para permitir que el gas de bicarbonato amónico circule por el interior. La cámara se dejará en reposo durante 30 minutos antes de retirar el plástico de la abertura frontal y del orificio de salida de aire. Antes de volver a utilizar la cámara se da limpieza general con un paño para eliminar los residuos.

Lavado y descontaminación de las manos



Siempre que sea posible, se llevarán guantes apropiados

cuando se manipulen materiales biológicos peligrosos. El uso de guantes no sustituye ni excluye la práctica de lavarse las manos de forma regular y apropiada. Las manos se lavarán después de manipular materiales biológicos peligrosos y animales, y antes de abandonar el laboratorio.

En la mayoría de las situaciones, un lavado concienzudo de las manos con jabón normal y agua basta para descontaminarlas, pero en las situaciones de alto riesgo se recomienda utilizar jabones germicidas. Se formará espuma abundante con el jabón y se frotarán bien las manos, durante un mínimo de 10 segundos; a continuación se enjuagan en agua limpia y se secarán con una toalla de papel o un paño limpio o dispositivo de aire automático.

Se recomiendan los grifos accionados con el pie o el codo. Cuando no existan, debe utilizarse una toalla de papel o paño para cerrar los manuales de los grifos con el fin de evitar volver a contaminarse las manos ya lavadas. También se pueden descontaminar utilizando alcohol cuando no se pueda lavarlas con agua y jabón.

CARACTERÍSTICAS DE ALGUNOS GERMICIDAS

TIPO	CONC. UTILIZADAS	ACCIÓN	MECANISMO	VENTAJAS	INCONVENIENTES	EFFECTOS SOBRE HUMANOS
ALCOHOLES (etanol, isopropanol)	60-90%	B, F, V	DESNATURALIZACIÓN PROTEÍNAS	NO MANCHA NI IRRITA	INACTIVADO POR MATERIA ORGÁNICA; INFLAMABLE —
COMPUESTOS DE AMONIO CUATERNARIO	0,4-1,6%	B*, F, V*	INCREMENTOS PERMEABILIDAD CELULAR	BARATO	NO BACTERIAS GRAM (-); PUEDE ACTUAR COMO FUENTE DE N; INACTIVACIÓN MATERIA ORGÁNICA	IRRITANTE; TÓXICO
COMPUESTOS FENÓLICOS	0,4-0,5%	B, F, V, (T)	DESNATURALIZACIÓN PROTEÍNAS	BARATO	TÓXICO; CORROSIVO; PERMISO RESIDUOS	IRRITANTE TÓXICO; CORROSIVO
IODÓFOROS	75 ppm	B, F, V, T	IODACIÓN Y OXIDACIÓN DE PROTEÍNAS	ESTABLE; ACCIÓN RESIDUAL	CARO; INACTIVADOS POR MATERIA ORGÁNICA	IRRITANTE DE PIEL Y MUCOSAS
GLUTARAL-DEHIDO	2,0%	B, F, V, T, E	ENTRECRUZAMIENTO DE PROTEÍNAS	NO CORROSIVO; INAFECTADO POR OTROS COMPUESTOS	VAPORES IRRITANTES; TÓXICO	TÓXICO; IRRITANTE
HIPOCLORITO	500 ppm (Cloro libre)	B, F, V, T	INACTIVACIÓN ENZIMÁTICA	BARATO	TÓXICO; CORROSIVO; INACTIVADO POR MATERIA ORGÁNICA	TÓXICO; CORROSIVO
PERÓXIDO DE HIDRÓGENO	3,0%	B, F, V, T, E	RADICALES LIBRES	ESTABLE	CORROSIVO; CARO	...

NOTAS: F: Fungicida; B: Bactericida; V: Virucida; T: Tuberculocida; E: Esporicida; *: Efectividad limitada; (): No todas las formulaciones

CAPÍTULO 11

BARRERAS SECUNDARIAS



11.1. AUTOCLAVES

Desinfección y esterilización por calor

El calor es el agente físico más utilizado para la descontaminación de agentes biológicos.

El calor seco, que no es en absoluto corrosivo, se utiliza para tratar muchos objetos de laboratorio que pueden soportar temperaturas de 160 °C o más durante dos a cuatro horas.

La combustión o incineración es también una forma de calor seco. El calor húmedo es especialmente eficaz cuando se utiliza en autoclave. La cocción no necesariamente mata todos los microorganismos o patógenos, pero puede utilizarse como tratamiento mínimo de desinfección cuando no puedan aplicarse o no estén disponibles otros métodos, como la desinfección o descontaminación química, o el tratamiento en autoclave.

Los artículos esterilizados deben manipularse y guardarse de forma que se mantengan descontaminados hasta que se vuelvan a utilizar.

Tratamiento en autoclave:

La aplicación de vapor de agua saturado a presión (tratamiento en autoclave) es el medio más eficaz y fiable de esterilizar material del laboratorio. Para la mayoría de los propósitos, los ciclos siguientes garantizarán la esterilización del contenido de la autoclave siempre que se haya cargado correctamente:

1. 3 minutos a 134 °C
2. 10 minutos a 126 °C
3. 15 minutos a 121 °C
4. 25 minutos a 115 °C.

Carga de las autoclaves:

El material y los objetos que se vayan a esterilizar deben agruparse sin apretarlos en la cámara, de modo que el vapor pueda circular sin dificultad y el aire pueda salir fácilmente. Las bolsas deben permitir que el vapor penetre en su contenido.

Precauciones en el uso de las autoclaves:

Las reglas siguientes pueden reducir al mínimo los riesgos derivados del manejo de cualquier recipiente sometido a calor y presión.

El manejo y el mantenimiento ordinario deben ser responsabilidad de personas adiestradas. Se realizará a intervalos regulares un programa de mantenimiento preventivo que comprenderá la inspección de la cámara, el sellado de las puertas y todos los calibradores y controles por parte de personal calificado. El vapor de agua estará saturado y exento de

sustancias químicas (inhibidores de la corrosión y dureza del agua) que podrían contaminar los objetos que se están esterilizando. Todo el material debe colocarse en recipientes que permitan la salida del vapor y aire y una buena penetración del calor; la cámara no estará sobrecargada, de modo que el vapor alcance por igual a toda la carga. En las autoclaves que no dispongan de un dispositivo de seguridad que impida que la puerta se abra cuando la cámara está sometida a presión, es indispensable que la válvula central del vapor esté cerrada y que se deje descender la temperatura por debajo de 80 °C antes de abrir la puerta. Cuando se introduzcan líquidos en la autoclave, la salida o escape de vapor debe ser lenta, pues al sacarlos pueden hervir debido al sobrecalentamiento.

El personal debe usar EPP como bata, guantes especiales y viseras de protección en cara para abrir la autoclave, incluso cuando la temperatura haya bajado por debajo de los 80 °C. En la vigilancia regular del funcionamiento de la autoclave, se colocarán indicadores biológicos o termopares en el centro de cada carga. La vigilancia regular es conveniente para determinar los ciclos de funcionamiento más adecuados.

El filtro de la rejilla de drenaje de la cámara (si existe) debe retirarse y limpiarse con frecuencia.

Debe procurarse que las válvulas de descarga de las autoclaves de olla a presión no queden bloqueadas con papel u otro material presente en la carga.

TIPOS DE AUTOCLAVES

PREPARACIÓN DE MATERIAL PARA ESTERILIZAR

PRECAUCIONES EN EL USO DE AUTOCLAVES (OPS)

VALIDACIÓN DE LA EFECTIVIDAD Y EFICACIA DE LA ESTERILIZACIÓN EN LA AUTOCLAVE

CINTAS TESTIGO

VALIDACIÓN MICROBIOLÓGICA

CAPÍTULO 12



12.PROCEDIMIENTOS Y PLAN DE MANEJO DE LOS RESÍDUOS BIOLÓGICOS.

12.1 CLASIFICACIÓN

12.2 NORMATIVIDAD

12.3 CÓDIGO CRETIB

12.4 NOM-087 RESIDUOS PELIGROSOS BIOLÓGICO INFECCIOSOS (RPBI)

12.5 PLAN DE MANEJO DE LOS RPBI

Eliminación de desechos:

La eliminación de los desechos biológicos (RPBI) está sometida a varias a los planes de manejo que tiene cada Institución y en base a la reglamentación nacional.

Los desechos de la autoclave pueden tratarse como residuos sólidos, de manejo especial y eliminados hacia vertederos autorizados por la autoridad local o federal según sea el caso.

Manipulación de Residuos Peligrosos Biológico Infecciosos (RPBI) y descontaminación .

Se considera desecho todo aquello que debe descartarse. El principio básico es que todo el material infeccioso ha de ser descontaminado, esterilizado en autoclave cercana al laboratorio y cumplir con el “Plan de manejo Institucional de material peligroso biológico-infeccioso y sus residuos RPBI”, con el objeto de disponer adecuadamente los RPBI para su eliminación y destino final de acuerdo a la normatividad (NOM-087-ECOL-SSA1-2002).

El tratamiento en autoclave de vapor constituye el método de elección para todos los procesos de descontaminación. El material RPBI proveniente de cultivos y cepas de agentes biológico-infecciosos destinado a la descontaminación, debe introducirse en bolsas resistentes al calor húmedo, marcadas con el símbolo de riesgo biológico y la leyenda Residuos Peligrosos Biológico-Infecciosos.

Los objetos punzocortantes que han estado en contacto con humanos o animales o sus muestras biológicas tale como: capilares, navajas, lancetas, agujas de jeringas desechables, agujas hipodérmicas, de sutura, bisturís entre otros, deberán colocarse en recipientes rígidos, de polipropileno color rojo marcado con el símbolo de riesgo biológico y la leyenda Residuos Peligrosos Punzocortante Biológico-Infecciosos y depositarlo en el congelador ubicado en el área de almacenamiento temporal para su disposición final.

Los RPBI anatómicos, patológicos como los tejidos, órganos y partes que se extirpan o remueven durante las necropsias, la cirugía o algún otro tipo de intervención quirúrgica, que no se encuentren en formol y muestras biológicas, microbiológicas, citológicas e

histológico. También los cadáveres y partes de animales que fueron inoculados con agentes enteropatógenos en centros de investigación y bioterios, se deberán introducir en bolsas amarillas marcadas con el símbolo de riesgo biológico y la leyenda Residuos Peligrosos Biológico-Infecciosos, para colocarlas en el congelador ubicado en el área de almacenamiento temporal para su disposición final.

Incineración

La incineración es un método útil para eliminar del laboratorio los cadáveres de animales y los desechos anatómicos y de otro tipo, con o sin descontaminación previa. La incineración de material infeccioso sólo sustituye al tratamiento en autoclave si el incinerador está sometido a control del laboratorio.

CAPÍTULO 13

13. BIOSEGURIDAD Y DNA RECOMBINANTE

El DNA recombinante involucra la combinación de información genética procedente de distintas fuentes para crear **organismos genéticamente modificados (OGM)** que pueden no haber existido antes en la naturaleza. En un principio, los especialistas en biología molecular expresaron cierta preocupación por la posibilidad de que esos organismos tuvieran propiedades impredecibles y perjudiciales y pudieran representar un riesgo biológico en caso de que salieran de los laboratorios. Esa preocupación generó directrices en materia de tecnología del DNA recombinante.

La ingeniería genética, se utilizó por primera vez para clonar fragmentos de DNA en huéspedes bacterianos a fin de expresar productos génicos concretos destinados al estudio. Las moléculas de DNA recombinante también se han utilizado para crear organismos genéticamente modificados, como animales transgénicos o con genes inactivados (*knock-out*), así como plantas transgénicas.

Los experimentos que supongan la creación o el uso de OGM deben realizarse después de efectuar una evaluación del riesgo biológico. Las propiedades patógenas y cualquier peligro potencial asociado a esos organismos pueden ser nuevos y no estar bien caracterizados. Hay que evaluar las propiedades del organismo donante, la naturaleza de las secuencias de DNA que van a transferirse, las propiedades del organismo receptor y las propiedades del entorno. Esos factores ayudarán a determinar el BSL que se necesita para manipular sin riesgo el OGM resultante y a identificar los sistemas de contención biológica y física que habrá que emplear.

Consideraciones de bioseguridad en relación con los sistemas de expresión biológica:

Los sistemas de expresión biológica constan de vectores y células huésped. Para que sean eficaces y puedan utilizarse sin riesgo, es preciso satisfacer varios criterios. Un ejemplo de sistema de expresión biológica es el plásmido pUC18, que se utiliza a menudo como vector de clonación en células de *Escherichia coli* K12. De su plásmido precursor pBR322 se han eliminado todos los genes necesarios para la expresión en otras bacterias. *E. coli* K12 es una cepa no patógena que no puede colonizar permanentemente el intestino del ser humano ni de los animales sanos. Pueden llevarse a cabo sin riesgo experimentos ordinarios de ingeniería genética en *E. coli* K12/pUC18 en el BSL-1, siempre que los productos de la expresión de DNA extraño insertado no exijan mayores niveles de bioseguridad.

Puede ser necesario trabajar en niveles de bioseguridad más altos en los siguientes casos:

Cuando la expresión de secuencias de DNA derivadas de organismos patógenos pueda aumentar la virulencia del OGM.

Cuando las secuencias de DNA insertadas no estén bien caracterizadas, por ejemplo durante la preparación de genotecas de DNA genómico de microorganismos patogénicos.

Cuando los productos génicos puedan tener actividad farmacológica.

Cuando los productos de expresión génicos sean toxinas.

Los vectores víricos, por ejemplo los de adenovirus, se utilizan para transferir genes a otras células. Esos vectores carecen de ciertos genes necesarios para la replicación vírica y son propagados en líneas celulares que complementan el defecto. Las poblaciones de esos vectores pueden contaminarse con virus que tienen intacta la capacidad de replicación, generados por sucesos poco frecuentes de recombinación espontánea en las líneas celulares de propagación, o procedentes de una purificación insuficiente. Esos vectores deben manipularse al mismo nivel de bioseguridad que el adenovirus del que proceden.

Animales transgénicos y con genes inactivados (*knock-out*):

Los animales que llevan información genética extraña (animales transgénicos) deben manipularse en niveles de contención apropiados para las características de los productos de los genes extraños. Los animales en los que se han suprimido de forma selectiva ciertos genes (*knock-out*) no suelen entrañar riesgos biológicos particulares. Cabe citar como ejemplos de animales transgénicos aquellos que expresan receptores de virus normalmente incapaces de infectar a esa especie. Si esos animales salieran del laboratorio y transmitieran el transgén a la población animal salvaje, en teoría podría generarse un reservorio animal de esos virus en particular. Esta posibilidad se ha examinado en el caso de los poliovirus y es particularmente pertinente en el contexto de la erradicación de la poliomielitis. Los ratones transgénicos, generados en distintos laboratorios, que expresaban el receptor de poliovirus humanos eran susceptibles a la infección por poliovirus por varias vías de inoculación, y la

enfermedad resultante era análoga a la poliomielitis humana desde los puntos de vista histopatológico y clínico. Sin embargo, el modelo murino difiere del ser humano en que la replicación de los poliovirus administrados por vía oral en el tubo digestivo es poco eficiente o no se produce. Por consiguiente, es muy poco probable que, de escaparse esos ratones transgénicos de un laboratorio, se generase un nuevo reservorio animal de poliovirus. A pesar de todo, esto indica, que en cada nueva línea de animales transgénicos es preciso efectuar estudios detallados para determinar las vías por las que pueden infectarse los animales, el tamaño del inóculo necesario para que se produzca una infección y el grado de excreción de virus por parte de los animales infectados. Además, deben adoptarse todas las medidas posibles para garantizar una contención estricta de los ratones transgénicos receptores.

Plantas transgénicas:

Las plantas transgénicas que expresan genes que confieren tolerancia a los herbicidas o resistencia a los insectos son actualmente objeto de una controversia considerable. El debate gira en torno a la seguridad de esas plantas cuando se utilizan como alimentos, así como a las consecuencias ecológicas a largo plazo de su cultivo. Las plantas transgénicas que expresan genes de origen animal o humano se utilizan para elaborar productos medicinales y nutricionales. Una evaluación del riesgo determinará el BSL más apropiado para la producción de esas plantas.

Evaluación de riesgos en relación con los OGM:

Las evaluaciones de riesgos para trabajar con OGM deben tener en cuenta las características de los organismos donantes y los organismos receptores/huéspedes. Es preciso realizar una evaluación en aquellas situaciones en las que el producto del gen insertado tenga una

actividad biológica o farmacológica que pueda resultar dañina, como: toxinas, citoquinas, hormonas, reguladores de la expresión génica, factores de virulencia o potenciadores de la virulencia, secuencias oncogénicas; resistencia a antibióticos y alérgenos. El examen de esos casos debe incluir una estimación del nivel de expresión necesario para conseguir actividad biológica o farmacológica.

Riesgos asociados al receptor/huésped:

Susceptibilidad del huésped; la patogenicidad de la cepa huésped, incluida la virulencia, la infectividad y la producción de toxinas; modificación de la gama de huéspedes; estado inmunitario del receptor y consecuencias de la exposición.

Muchas modificaciones no utilizan genes cuyos productos sean intrínsecamente nocivos, pero pueden producirse efectos adversos de resultados de la alteración de características patogénicas o no patogénicas existentes. La modificación de genes normales puede alterar la patogenicidad.

El uso de animales o plantas enteras con fines experimentales también merece una consideración cuidadosa. Los investigadores deben cumplir las normas, restricciones y requisitos para trabajar con OGM.

Existen regulaciones nacionales para trabajar con OGM que pueden ayudar a clasificar su labor en el BSL apropiado. En algunos casos la clasificación puede variar de un país a otro; quizá un país decida asignar el trabajo a un nivel más alto o más bajo cuando aparece nueva información sobre un nuevo sistema de vector/huésped. La evaluación del riesgo es un proceso dinámico que tiene en cuenta los nuevos acontecimientos y los avances científicos.

CAPÍTULO 14

14. PROCEDIMIENTOS DE BIOSEGURIDAD PARA EL LABORATORIO DE *Mycobacterium tuberculosis* NIVEL DE CONTENCIÓN BSL-3

Elaborado por:

Clara Inés Espitia Pinzón

Luz Maria Lopez Marín

Carlos Castellanos Barba

Revisado por:

José Sifuentes Osornio

Alfredo Ponce de León

Recopilación:

Clara Inés Espitia Pinzón

PRESENTACIÓN

Los procedimientos en Bioseguridad fueron elaborados de acuerdo a los lineamientos de la legislación Universitaria. **“Normatividad Académica de la UNAM Reglamento de Seguridad y Coordinación en Materia de Investigación para la Salud en la UNAM. Capítulo IV; De la Bioseguridad de las Investigaciones”**.

El documento pretende ser una guía para el personal que lleva a cabo trabajos de investigación con agentes patógenos. Las normas y procedimientos generales se aplican al manejo de cualquier microorganismo Nivel BSL-3, sin embargo, en este apartado, se ha puesto especial énfasis en el manejo de las especies del complejo *Mycobacterium tuberculosis*, por ser este un microorganismo del GR3; para su elaboración se consultaron los siguientes documentos:

Normatividad Académica de la UNAM Reglamento de Seguridad y Coordinación en Materia de Investigación para la Salud en la UNAM

<http://www.ordenjuridico.gob.mx/Federal/OA/UNAM/Reglamentos/REGLAMENTO%2013.pdf>

Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 4th Edition:

<http://www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/bmb4/bmb4toc.htm>

Laboratory Biosafety Manual. Third edition WHO.

http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/WHO_CDS_CSR_LYO_2004_11/en/

The Laboratory Biosafety Manual Canada

http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/lbg-ldmbl-04/pdf/lbg_2004_e.pdf

Proposed Guidelines for Goals for Working Safely with *Mycobacterium tuberculosis* in Clinical, Public Health, and Research Laboratories. <http://www.cdc.gov/od/ohs/tb/tbdoc2.htm>

CDC/National Institutes of Health. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 3rd ed. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, CDC and NIH, 1993; DHHS publication No. (CDC)93-8395. MMWR 1994;43(No. RR-13)

CDC. Guidelines for preventing the transmission of *Mycobacterium tuberculosis* in health-care facilities, 1994.

INTRODUCCIÓN

Durante los años 70, los agentes etiológicos de las enfermedades se clasificaron en diferentes grupos basados en su modo de transmisión, el tipo y gravedad de la enfermedad que producían, la disponibilidad de tratamiento y de medidas preventivas (vacunación). Este agrupamiento, fue la base del desarrollo de instalaciones apropiadas para su manejo, así como el de equipo de contención y de la elaboración de normas y reglamentos de trabajo. Los lineamientos derivados, son referidos como Niveles de Bioseguridad y van del 1-4 (BSL1, BSL-2, BSL-3 y BSL-4 por sus siglas en inglés BioSafety Level) y se usan tanto para clasificar a los microorganismos de acuerdo a su potencial patogénico así como a los laboratorios que los contienen.

Laboratorios de Bioseguridad Nivel 3 (BSL-3)

Es un laboratorio diseñado para trabajar con agentes patógenos del GR3, que son aquellos que pueden causar enfermedades graves y letales como resultado de una exposición por la ruta de inhalación. Debido al riesgo de transmisión de los patógenos por la vía aérea, las consecuencias de la infección son severas y pueden ser mortales. *Mycobacterium tuberculosis* es el microorganismo representativo de este nivel por su alta transmisibilidad. El riesgo primario para el personal que trabaja con estos agentes está relacionado principalmente a la exposición a los aerosoles infecciosos y también por el riesgo de una auto-inoculación o ingestión. El personal de laboratorio debe recibir un entrenamiento específico en el manejo de los agentes patógenos y deberán ser supervisados por científicos competentes con amplia experiencia en el trabajo con estos agentes. El laboratorio deberá cumplir con normas de ingeniería y diseño consistente con la implementación de barreras primarias y secundarias para proteger al personal y a la comunidad de una exposición a aerosoles infecciosos así como prevenir la contaminación del medio ambiente. Los pisos y techos completamente sellados, están diseñados para permitir una completa descontaminación en caso de alguna salpicadura o derrame de material infeccioso. El laboratorio deberá estar separado del área de circulación general del edificio y el acceso al mismo será a través de una antesala con dos juegos de puertas o por acceso a través de una área BL-2. Debido al riesgo potencial de transmisión por aerosol, el movimiento del aire deberá ser unidireccional (únicamente hacia el laboratorio) y el aire del laboratorio deberá ser expelido hacia el exterior previa filtración a través de filtros HEPA (*High Efficiency Particulate Air*). Este sistema de ventilación no permite la recirculación del aire. Todos los procedimientos que involucren el manejo del agente infeccioso deberán ser llevados a cabo en la CSB y el personal deberá usar ropa y equipo apropiado para trabajar en el laboratorio. Todos los desechos del laboratorio deberán ser tratados con calor húmedo para su desinfección en autoclave antes de descargarse a los botes generales de basura de la institución.

UNIDAD DE BIOSEGURIDAD DEL IIBM UNAM



Descripción de la Unidad de Bioseguridad

La Unidad de Bioseguridad del IIBM- UNAM esta localizada en el tercer piso del edificio B, el acceso está restringido y controlado y en el interior de las instalaciones del BSL-3, cada uno de los laboratorios está separado de áreas no restringidas al personal por medio de una zona de acceso controlado, la cual funciona como antesala-vestidor. Cuenta además con un área para preparación de medios de cultivo y limpieza del material y con un espacio para la conservación y el almacenaje de microorganismos y líneas celulares.

Ventilación

Cada laboratorio tiene un flujo de aire negativo unidireccional en relación al pasillo de tal manera que en caso de un accidente, no puedan dispersarse y escapar aerosoles hacia el exterior del laboratorio. Este sistema mantiene presiones negativas en el vestidor (-4 mm) y en el laboratorio (-8 mm). El aire no es recirculado a otra área del edificio, sino descargado al exterior previa filtración a través de membranas tipo HEPA.

Se recomiendan de 10 a 12 cambios por hora. Bajo estas condiciones se removerán aproximadamente el 99% de las partículas del aire en 23 minutos. En los laboratorios que tienen solamente 6 cambios por hora se requerirán 46 asumiendo que existe una mezcla uniforme del aire en el cuarto Sin embargo la remoción puede ser retardada por turbulencias de aires resultantes de los muebles existentes. El flujo de aire deberá ser medido para determinar las características de la eliminación de aerosoles. Las condiciones ideales en la mezcla del aire raramente existen y la eliminación de partículas puede tomar entre 3 a 10 veces mas del tiempo calculado, un factor que deberá ser considerado en determinar cuando es seguro entrar a un laboratorio después de un derramamiento. El personal de mantenimiento deberá documentar al menos anualmente el número específico de cambios de aire que ocurren por hora.

Superficies y mobiliario

Las superficies del laboratorio (paredes, pisos y techos) son de pintura o material resistente al agua, para ser limpiadas con facilidad en caso de salpicaduras y derramamientos de material infeccioso. Así mismo las superficies están perfectamente selladas para permitir la

descontaminación con gases de paraformaldehído en caso de accidentes graves con liberación de aerosoles e impedir el escape de sustancias del laboratorio.

Las mesas de trabajo son impermeables al agua y resistentes a ácidos, álcalis, solventes orgánicos, y al calor moderado. Los equipos de laboratorio están espaciados, de tal modo que el acceso a la limpieza es posible. El laboratorio tiene un lavabo de funcionamiento automático antes de la puerta de salida.

Equipos del laboratorio

Actualmente la Unidad cuenta con los siguientes equipos:

Campana de Seguridad Biológica

La CSB es la pieza clave de equipo en los laboratorios de bioseguridad. Todas las manipulaciones que involucren al agente infeccioso deberán llevarse a cabo en la misma. Las infecciones adquiridas en el laboratorio pueden ser debidas a un pobre control y/o un mal manejo de los agentes de riesgo en la CSB. Todo el personal deberá estar entrenado para seguir las PEO.

Centrifuga

La centrifugación de material biológico representa un procedimiento de riesgo por la formación de aerosoles y la posibilidad de liberarlos y exponerse a dicho material, por esta razón se usan rotores y tubos con tapas selladas que impidan el paso de los mismos. La unidad cuenta con una centrifuga de este tipo.

Incubadoras

La Unidad cuenta con 4 incubadoras, una de ellas con agitación y otra para cultivo celular, cuyo tanque de CO₂ está localizado fuera del área y está conectado mediante una tubería de cobre a través de orificios perfectamente sellados.

Autoclaves

La Unidad cuenta actualmente con 3 autoclaves, localizadas en cada uno de los laboratorios. Las autoclaves tienen doble puerta de tal forma que el material contaminado entra en el interior de la autoclave que comunica directamente al laboratorio y una vez descontaminado puede ser retirado por la puerta que comunica con el cuarto de lavado de material.

Tanque de Nitrógeno Líquido

La Unidad cuenta con un tanque de nitrógeno líquido para el almacenamiento de cepas de micobacterias y/o líneas celulares usadas para infección.

EPP

Ropa de trabajo en el BSL-3

Las personas que laboran en el laboratorio BSL-3 deberán usar ropa protectora apropiada que deberá ser utilizada para cualquier experimento. Este vestuario, consiste de batas especiales que se aseguran en la espalda mediante cordones, de cuello alto mangas largas con puños, cubre bocas y guantes. Se recomienda también el uso de cubrebotines y gorro. La ropa de trabajo se encuentra en el armario del vestidor

Ropa y EPP en caso de emergencia, accidente y contingencia biológica

La indumentaria apropiada para situaciones de emergencia (derrames o salpicaduras fuera de la campana de seguridad) se encuentra en las gavetas del vestidor. Ésta consiste en overoles impermeables a partículas finas (Tyvec), respiradores de cara completa con filtros HEPA N95 y botas impermeables desechables. El procedimiento para estas circunstancias se encuentra claramente indicado sobre la pared del laboratorio.

REGLAMENTO LA UNIDAD DE BIOSEGURIDAD IIB

Normas Generales

- El acceso a la Unidad está restringido a las personas cuya presencia sea requerida y al personal autorizado que comprende: personal entrenado, en entrenamiento*¹ o candidatos*².

La lista del personal autorizado deberá aparecer en el directorio a la entrada de la Unidad.

*¹Persona en entrenamiento, es aquella que inicia su trabajo en el BSL-3 pero que ya ha tenido entrenamiento en el BSL-2 y conoce las reglas, normas y funcionamiento del BSL-

*²Candidato, es la persona que ya ha tenido un amplio entrenamiento práctico en el BSL-3.. Su entrada como personal autorizado será dictaminada por un comité (pendiente definir método de evaluación que avale la entrada del candidato al BSL-3 como personal autorizado).

- No se permite la entrada a los laboratorios a personas menores de 18 años.

- El número máximo de personas dentro del laboratorio no debe exceder del número de gabinetes de seguridad biológica + 1, que en este caso equivale a dos personas.

- Por ningún motivo se deberá entrar a los laboratorio cuando haya personal trabajando

- No está permitido comer, tomar, fumar, almacenar comida, o maquillarse dentro de los laboratorios.

- El pipeteo con la boca está prohibido. Se usarán pro-pipetas.

- Todos los protocolos de trabajo, deberán ser aprobado por la Comisión de Bioseguridad del IIBM. Cualquier modificación al protocolo deberá ser informada y autorizada.

-Todos los procedimientos deberán ser realizados de tal modo que se minimice la formación de aerosoles. Deben evitarse, por ejemplo, manipulaciones como la inmersión de asas o agujas calientes en un cultivo, flamear asas o agujas. Deben evitarse también la salida violenta de fluidos a partir de pipetas o de jeringas.

-Todos los experimentos que impliquen el uso de material infectado deberán ser efectuados en la CBS. No se permite la manipulación de recipientes abiertos con material infectivo sobre la mesa de trabajo.

- La ropa de laboratorio (obligatoria dentro del mismo) no deberá salir del laboratorio sin ser sometida a calor húmedo en la autoclave (descontaminación) antes de su lavado normal. La bata de uso general no debe ser introducida al laboratorio, sino colgada temporalmente en el vestidor.

- Todos los materiales deberán ser sometidos a calor húmedo en autoclave para su desinfección, antes de su disposición final o lavado, dentro de bolsas especiales para

esterilización en autoclave. La ropa de trabajo deberá quitarse antes de salir del laboratorio y deberá ser sometida a calor húmedo en autoclave. Una cinta testigo debe ser colocada como indicativo de esterilización.

- El personal lavará sus manos después de haber manipulado el material, así como al salir del laboratorio.

Manejo y mantenimiento de instalaciones y equipos

El mantenimiento y buen funcionamiento de las instalaciones esta a cargo de la Secretaria Técnica.

La Secretaria Técnica deberá informar al responsable del laboratorio (quien a su vez informara a los usuarios) con la debida anticipación y por escrito cualquier operación de mantenimiento correctivo o preventivo que implique la salida de servicio de la Unidad.

Uso de la Campana de Seguridad Biológica

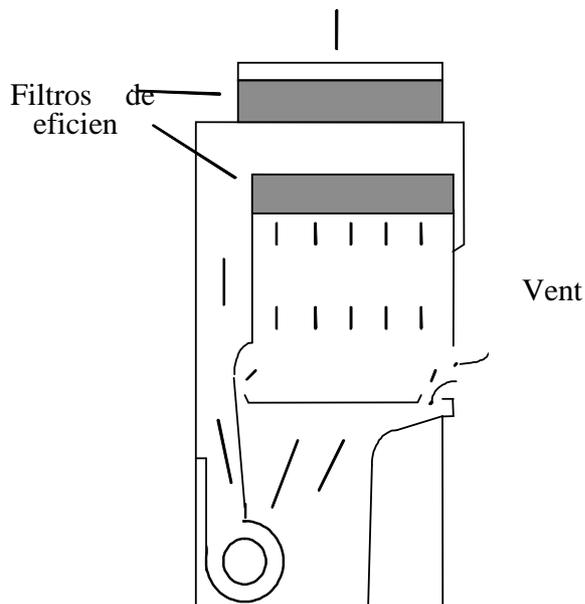


Fig. 1. Esquema simplificado de una campana de seguridad biológica clase IIA.

- La mesa y la lámpara ultravioleta (U.V.) de la CSB deberán limpiarse cotidianamente con una solución de etanol al 70%.
- La superficie de trabajo dentro de la campana de seguridad debe ser descontaminada después de cada trabajo y especialmente después de algún derrame o salpicadura de material biológico.
- La lámpara U.V. de la mesa de trabajo de la CSB deberá encenderse 15 minutos antes de cada manipulación con el ventilador de flujo de aire apagado.
- Con la lámpara U.V. apagada, encender el ventilador de flujo de aire de la CSB
- Encender la iluminación de la mesa de trabajo de la CSB.
- Cubrir el área de trabajo en la CSB con papel adsorbente plastificado con película de polietileno por un lado.
- Al manipular el agente patógeno, no se debe sacar por ningún motivo el material de trabajo fuera de la CSB (incluyendo guantes). Cualquier manipulación en la que se manejen líquidos, se producen aerosoles (apertura de una matraz, agitación de tubos, etc.). Se ha demostrado que las partículas de aerosol formadas contienen micobacterias viables a una distancia hasta de 60 cm del punto de la manipulación. Cuando la agitación mecánica del cultivo líquido resulta indispensable, reducir la producción de aerosoles evitando manipulaciones bruscas y la producción de espuma, y recordar que el uso de pro-pipetas evita la aspiración con la boca y el riesgo de incorporar aerosoles.
- Al finalizar el trabajo, el material se introduce en bolsas apropiadas para someterlo a calor húmedo para su desinfección (las bolsas no se deben cerrar herméticamente pues se evitaría la entrada de vapor esterilizante).
- Apagar la iluminación de la mesa de trabajo y el ventilador de flujo de aire de la CSB

- Encender durante 15 minutos la lámpara U.V. de la mesa de trabajo de la CSB. La radiación U.V. tiene propiedades germicidas e inactiva los bacilos de aerosoles formados y depositados sobre la mesa de trabajo.

Procedimiento para la descontaminación de filtros de la campana

Nota: Este procedimiento se llevara acabo cada vez que se requiera cambiar los filtros de la campana o en caso de salpicadura importante.

a) Preparar una solución con 575 ml de formaldehído y 350 ml de metanol. NOTA: el metanol es tóxico. Evitar los vapores y el contacto con la piel. El formaldehído es explosivo en el aire (flamas, chispas) a concentraciones de 7 a 73%.

b) Llenar un vaporizador, o en su lugar, un recipiente colocado sobre una parrilla eléctrica, con la solución de formaldehído.

c) Colocar el vaporizador en el interior de la campana.

d) Utilizar un contacto eléctrico ubicado fuera de la campana.

d) Cerrar la ventana frontal y sellarla con cinta adhesiva.

e) Encender el ventilador de flujo de aire de la CSB y dejar el vaporizador funcionando durante 1 hora.

f) Apagar el vaporizador y dejar funcionando el ventilador de flujo de aire de la CSB durante un tiempo mínimo de 2 horas.

g) Limpiar todas las superficies con etanol al 70%, para eliminar los depósitos de formaldehído.

Uso de la centrifuga

- Los empaques selladores de los rotores y las tapas de los tubos de centrifuga (O-rings) deberán ser examinados inmediatamente antes de usarse para asegurarse que el sellado es intacto y que se mantiene la integridad de la unidad. Los tubos de la centrifuga, deberán ser abiertos únicamente dentro de la CSB.

- Lea cuidadosamente las instrucciones de manejo de la centrifuga antes de usarla, el procedimiento esta disponible en el cajón de accesorios de la centrifuga. Siempre equilibre los tubos.

- Nunca abandone la centrifuga hasta que haya alcanzado la velocidad deseada. Recuerde que cualquier desbalance se indica inmediatamente, dando tiempo a apagar el aparato. Un mal uso de la centrifuga puede llevar a derrames muy graves.

Protección al personal y vigilancia médica

El personal autorizado así como los miembros de los laboratorios que trabajen con agentes patógenos o potencialmente patógenos deberán llevar un seguimiento médico y se les aplicaran exámenes de laboratorio definidos periódicamente. El principio fundamental de protección al personal consiste con el uso del equipo de protección adecuado mientras se manipula al agente infeccioso. El entrenamiento del personal así como un seguimiento médico son parte integral de protección al personal. El personal deberá recibir un entrenamiento teórico-práctico en los procedimientos, normas diseño y manejo del laboratorio de Bioseguridad. El responsable del laboratorio y la Comisión de Bioseguridad deberán asegurarse de que todos los procedimientos de seguridad se cumplan.

El siguiente reglamento con relación a la protección del personal, fue elaborado y aprobado por la Comisión de Bioseguridad del IIB (Acta de la reunión la Comisión 21 de octubre del 2005).

Personal Ocupacionalmente Expuesto a agentes infecciosos

Se define como Personal Ocupacionalmente Expuesto (POE), a todas aquellas personas profesionales con relación laboral o estudiantes, miembros de los laboratorios que trabajan con agentes infecciosos y están directamente relacionados con esos agentes y pueden estar en riesgo de exposición o incorporación; independientemente de que tengan o no acceso al área del BSL-3.

Ingreso y seguimiento del personal

Toda persona, trabajador, estudiante, académico o visitante que ingrese a los laboratorios que trabajan con organismos patógenos, (micobacterias, toxoplasma, dengue, VIH, tripanosoma etc) independientemente de que tengan o no acceso al área del BSL-3, deberán someterse a un examen médico riguroso que se llevará a cabo en la Dirección General de Servicios

Médicos de la Universidad Nacional Autónoma de México (Previo convenio con las instancias correspondientes), a fin de descartar la presencia de enfermedades como diabetes descontrolada, SIDA, enfermedades autoinmunes, neoplásicas o enfermedades que requieran terapias inmunosupresoras, ya que por las características oportunistas de algunos de los patógenos que se manejan en el IIBM, las personas afectadas por cualquiera de las enfermedades mencionadas, se consideran un grupo de muy alto riesgo. En estos casos, la recomendación y juicio del médico serán los parámetros que indiquen si se recomienda o no la entrada de una persona a los laboratorios mencionados.

Recepción, transporte y almacenamiento de microorganismos y materiales biológicos.

El manejo de muestras biológicas, deberá seguir los lineamientos enunciados en el Anexo 3). Cualquier muestra material biológico, tejidos, y fluidos biológicos experimental o potencialmente infeccioso así como cultivos puros de cepas de referencia o aislados clínicos, deberán ser empacados, marcados y transportados en contenedores especiales de Bioseguridad El contenedor primario deberá estar rodeado de material absorbente para evitar el movimiento de las muestras. El contenedor secundario deberá sellarse herméticamente ser resistente y estar debidamente marcado como material potencialmente peligroso.

La recepción de agentes biológicos al laboratorio, deberá ser informado al responsable quien autorizara previa consentimiento de la Comisión de Bioseguridad la entrada del material o agente biológico.

Limpieza, Descontaminación y Disposición de Desechos

- La limpieza del laboratorio de bioseguridad estará a cargo de los usuarios. La limpieza se llevara acabo con los desinfectantes indicados.
- Todos los cultivos, material de vidrio o plástico así como la ropa de trabajo deberán ser sometidos a calor húmedo en autoclave. Ningún equipo ni material podrá ser retirado del laboratorio si no ha sido debidamente descontaminado. Todos los materiales deben ser descontaminados dentro de bolsas especiales para esterilización en autoclave, antes de su disposición final, desecho o lavado. Una cinta testigo debe ser colocada como indicativo de esterilización.

Servicio a usuarios Externos.

El personal de otras Instituciones que requiera hacer uso de las instalaciones de la Unidad de Bioseguridad, deberá solicitarlo por escrito a la comisión de Bioseguridad del IIBM, incluyendo el o los protocolos de trabajo que se realizaran, el tipo de agente patógeno, los riesgos potenciales y en su caso las medidas necesarias aplicar en caso de una emergencia (ver formato C). En el caso de que se autorice la entrada de personal externo, el trabajo será llevado a cabo únicamente por el personal autorizado del laboratorio y el solicitante entrara en calidad de “Persona en entrenamiento” o “candidato” (ver reglamento general), lo cual implica que esta persona ha tenido entrenamiento previo en el trabajo con microorganismos. Si se trata de una investigación crónica, la comisión previa evaluación autorizará la entrada de personal externo para que trabaje de manera independiente siguiendo estrictamente los reglamentos del laboratorio.

Prevención de riesgos

Prevención de aerosoles

En muchos casos un “accidente de laboratorio” puede llevar a la exposición del personal y resultar en una conversión positiva a la prueba de la tuberculina. Esta exposición puede ocurrir como resultado de la ruptura de un frasco con bacterias hasta por pequeñas exposiciones a aerosoles liberados de cultivos amplificados. Es necesario que todo el equipo del laboratorio y los procedimientos sean evaluados periódicamente para minimizar el riesgo de formación de aerosoles.

El personal del laboratorio deberá evitar transportar tubos o matraces en las manos o en recipientes inapropiados. Todo el material debe ser transportado de manera segura en contenedores apropiados.

Plan de emergencia ante una salpicadura

Dentro de la Campana de Seguridad Biológica

- 1.-Mantener el ventilador de flujo de aire encendido.
- 2.-Alertar al personal que este en el laboratorio para que salgan inmediatamente.

3.-Aplicar solución desinfectante en las paredes interiores la superficie de trabajo y el equipo o material contenido en la campana.

4.- Dejar actuar durante 30 min. autoclave.

6.- Dejar la CSB con el ventilador de flujo de aire encendido durante 10 min antes de volver a utilizarla o de apagarla.

Nota: en el caso que ocurriese una salpicadura importante será necesario aplicar el procedimiento de descontaminación de la campana con vapores de metanol y formaldehído descrito arriba.

En el Laboratorio

Cuando ocurra una liberación de material infecciosos (salpicadura, o derrame por ruptura de un tubo), el o las personas que se encuentren en el laboratorio deberán contener la respiración y salir inmediatamente del laboratorio.

-Se deberá dar aviso inmediatamente al responsable del laboratorio, al responsable de seguridad a los miembros de la Comisión de Bioseguridad local al personal administrativo a cargo del funcionamiento del equipo

-Las áreas de acceso no restringido del laboratorio deberán ser aisladas inmediatamente colocando avisos o sellos visibles.

-Dos horas mas tarde dependiendo del número de recambios de aire en el laboratorio, podrá entrar una persona usando debidamente protegida usando mascara con filtro HEPA y la ropa de protección. La persona que entre al cuarto deberá cubrir el derrame con toallas empapadas de hipoclorito de sodio al 5%. Después de horas el derrame podrá ser limpiado por una persona con respirador y ropa de protección Cuando haya ocurrido una aerolización intensa por derrame de cultivos amplificados el cuarto deberá ser sellado y descontaminado con vapores paraformaldehído.

Mantenimiento y mejoramiento de la Unidad de Bioseguridad

- Actualmente esta siendo utilizado el laboratorio de micobacterias únicamente, pero por el diseño de las instalaciones, el sistema de ventilación se encuentra funcionando en todo el laboratorio, lo que conlleva un gasto de recursos y energía considerable.

-Instalar un sistema de monitoreo con circuito cerrado de televisión y grabación permanente del laboratorio.

- Las puertas de acceso a los laboratorios deberán ser de cerrado automático.
- El laboratorio BSL-3 no cuenta con certificación .
- Se requiere un laboratorio BSL-2 para el manejo de las micobacterias no patógenas.
- Se requiere asignar personal de aseo para las zonas no restringidas de la instalación.
- Los animales infectados pueden manejarse en laboratorios BSL-2 siempre y cuando estén confinados dentro de un sistema de jaulas ventiladas y filtradas (HEPA) individualmente.

Los experimentos que involucran el uso de *M. tuberculosis* o *Mycobacterium bovis* en animales tiene cierto nivel de riesgo en algunos pasos del proceso. Los animales pueden ser infectados con *M. tuberculosis* por infección intravenosa o por inhalación de un aerosol. Durante estos procesos el personal esta en riesgo de autoinocularse o exponerse a los aerosoles. No obstante que es poco probable que los roedores produzcan aerosoles por tos, se deberá tener a los animales en jaula de contención que impidan el riesgo de aerolización del material contaminado de las jaulas como el aserrín. Todos los desechos se deberán manejar como infeccioso El personal al cuidado de los animales y el laboratorio deberán seguir además de las prácticas y procedimientos establecidos para el BSL-3, las normas y procedimientos establecidas para el trabajo con animales. Los protocolos de trabajo con los animales deberán ser aprobados por las Comisiones de Bioética y Bioseguridad del IIBM.

EL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS

En la entrada del laboratorio se tendrá una lista en la que se especifica:

Responsable

Usuarios

Personal Autorizado

Aspectos generales de las micobacterias.

La tuberculosis continúa siendo una de las principales causas de muerte en el mundo constituyéndose uno de los retos más importantes en el campo de la salud pública. Mas de 10

millones de casos nuevos y cerca de 3 millones de muerte se presentan cada año (WHO, 2002). Al repunte de esta enfermedad han contribuido entre otros factores, la baja eficiencia protectora de la vacuna BCG, el surgimiento de cepas resistentes a prácticamente todos los medicamentos disponibles contra la enfermedad y la asociación de la tuberculosis con el virus de la inmunodeficiencia humana /síndrome de inmunodeficiencia adquirida (VIH/SIDA). Todos estos aspectos se ha hecho imperativo, la búsqueda de nuevos medicamentos y medidas inmunoproliféricas a fin de controlar y erradicar la enfermedad.

El agente causal de la tuberculosis, *M. tuberculosis* pertenece al género *Mycobacterium*, el cual comprende diversas especies que pueden ser saprófitas, patógenos oportunistas como las que causan infecciones en determinadas circunstancias (por ejemplo en personas inmunodeprimidas), o patógenos obligadas, como *M. tuberculosis* y *Mycobacterium leprae*. El complejo *M. tuberculosis* incluye 4 especies: *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *Mycobacterium africanun* y *Mycobacterium microti*. Dentro del género *Mycobacterium* se consideran de riesgo biológico Nivel 3 *M. leprae* y todos los miembros del complejo *M. tuberculosis*, a excepción de las variantes de baja virulencia que han sido utilizadas para vacunación, *M. bovis* BCG y *M. microti*, que son clasificadas con riesgo biológico Nivel 2. Las especies del complejo *M. tuberculosis* se transmiten usualmente por la vía aérea, la inyección accidental cutánea puede llevar a una infección localizada antes de su diseminación. La dosis de infección de *M. tuberculosis* para los humanos es baja de 1 a 10 bacilos, (que pueden estar contenidos 1 a 3 aerosoles).

La incidencia de tuberculosis y el riesgo de infectarse entre el personal que trabajan con *M. tuberculosis* es 3 y es 100 veces mayor respectivamente que entre la población en general (Reid *et al* 1957). Es por lo tanto obligatorio que estos microorganismos sean manipulados en laboratorios especializados, con instalaciones de biocontención siguiendo rigurosamente los procedimientos y reglamentos de trabajo para asegurar la protección del personal y reducir sustancialmente el riesgo de infección no solamente del experimentador, sino también de la comunidad (Balasubramanian *et al* 1994; Riley 1961). La exposición a aerosoles generados en el laboratorio durante los procedimientos de rutina es uno de los mayores peligros para el personal (Kent *et al* 1985) y dependerá de la concentración de los microorganismos en las

muestras que se manipulen así como de la frecuencia de exposición e importantemente del cumplimiento y observación de las reglas de seguridad establecidas para el laboratorio.

Algunos de los procedimientos que producen aerosoles respirables incluyen: a) Los cultivos líquidos b) el uso de dispositivos de pipeteo automático sin filtros c) la mezcla de cultivos líquidos con pipeta d) la preparación de laminillas e) el rompimiento de tubos o frascos con cultivos f) el derramamiento de suspensiones de bacilos g) el rompimiento de tubos durante la centrifugación h) la preparación de secciones congeladas, i) los corte de tejidos no fijados y j) la homogenización de tejidos para cultivo primario (Anderson *et al*; Stern *et al*). Hasta recientemente la sangre no había sido considerada como una fuente de transmisión de *M. tuberculosis* (o *M. bovis*) en el laboratorio, parcialmente porque la bacteremia es transitoria en los individuos inmunocompetentes. Sin embargo con la emergencia HIV/AIDS, la micobacteremia causada por *M. tuberculosis* ocurre mas frecuentemente y la sangre se considera ahora como una fuente potencial de transmisión en el laboratorio. Todos las muestras clínicos sospechosos de ser positivos a *M. tuberculosis* deberán ser considerados como potencialmente infecciosos y deberán manejarse de acuerdo a las precauciones recomendadas para los organismos presentes en la sangre de tal forma que la aerolización sea minimizada (Barnes *et al* 1991., CDC 1988)

Bibliografía

- Anderson RE, Stein L, Moss ML, Gross NH. Potential Infectious Hazards of Common Bacteriological Techniques. J Bact 1952;64:473-481.
- Barnes PF, Bloch AB, Davidson PT, Snider DE. Tuberculosis in Patients with Human Immunodeficiency Virus Infection. N Engl J Med. 1991; 324:1644-1650.
- Balasubramanian V, Wiegshaus EH, Taylor BT, Smith DW. Pathogenesis of tuberculosis: pathway to apical localization. Tubercle and Lung Disease 1994;75:168-178.
- CDC. Update: universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and other blood borne pathogens in health-care settings. MMWR 1988;37:377-382,387-388.
- Kent PT, Kubica GP. Public Health Mycobacteriology. A Guide for the Level III Laboratory. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, CDC, 1985.
- Riley RL. Airborne pulmonary tuberculosis. Bacteriol Rev 1961;25:243-248.
- Reid DP. Incidence of tuberculosis among workers in medical laboratories. Br Med J 1957;2:10-14.

Tabla 1. Especies de *Mycobacterium* según el Nivel de riesgo biológico

Especie	Huésped
• <i>M. tuberculosis</i>	Humanos
• <i>M. canetti</i>	Humanos
• <i>M. africanum</i>	Humanos
• <i>M. bovis</i>	Humanos, bovinos, cabras, elefantes focas, leones, venados, etc.
• Aislados clínicos de pacientes con tuberculosis	
• Se consideran de Nivel 2, todas las demás especies incluyendo las bacterias no patógenas recombinantes que han sido transfectadas con genes de virulencia, y las patógenas inactivadas.	

Reglamento General del laboratorio de micobacterias

Las normas generales a seguir en el laboratorio de micobacterias serán la mismas enunciadas para la Unidad (ver reglamento de la Unidad de Bioseguridad). Además algunas normas específicas deberán seguirse en cada laboratorio, dependiendo del microorganismo de estudio.

Del personal

Solo las personas que hayan adquirido los conocimientos, el entrenamiento y la experiencia necesarios para trabajar en un laboratorio de Bioseguridad serán personal autorizado. Las personas en entrenamiento o candidatos únicamente podrán entrar acompañadas con el personal autorizado (ver reglamento general de la Unidad de Bioseguridad).

Seguimiento del personal (Ver procedimiento general descrito en el manual de Bioseguridad)

- No se permitirá la experimentación con *M. tuberculosis* al personal que temporalmente se encuentre afectado por una infección respiratoria aguda.

- Todo el personal actual y de nuevo ingreso, trabajador, estudiante, académico o visitante de los laboratorios que trabajen con *M. tuberculosis* y otras micobacterias deberán someterse a un examen médico riguroso que se lleve a cabo en el servicio Médico de la Universidad Nacional Autónoma de México.

- Será responsabilidad del jefe de grupo avisar al responsable del BSL-3 del personal de nuevo ingreso a sus laboratorios.

Pruebas de laboratorio

- El personal deberá someterse a una prueba cutánea de sensibilidad a antígenos de *M. tuberculosis* (PPD) y una radiografía de tórax antes de incorporarse o seguir trabajando en dichos laboratorios

- Las pruebas para el personal se aplicaran cada año. El PPD únicamente para las personas que hubieran resultado negativas. Si hay una conversión positiva se tomara otra placa radiográfica.

- Se recomienda la toma de una muestra de sangre del personal para hacer pruebas serológicas (Esta se hará con consentimiento escrito del personal y será voluntario. Los sueros serán debidamente codificados y almacenados a -70°C).

- Los resultados de todas las pruebas serán confidenciales y serán entregados a los interesados en sobre cerrado.

Del laboratorio

-El horario de trabajo será de 9 am a 5 pm en días hábiles únicamente. En caso de que un procedimiento requiera que se trabaje fuera de estas horas se deberá solicitar permiso por escrito a la Comisión de Bioseguridad del Instituto.

Antes de entrar en el laboratorio los usuarios deberán:

- Recoger la llave de entrada al BSL-3 y la hoja de reporte de trabajo en el laboratorio de la Dra. Clara Espitia.

-Anotar en el calendario mensual de actividades que aparecerá en la bitácora los días, las horas y el código del procedimiento que planea llevar a cabo.

-.Verificar en los indicadores de presión (colocados a la entrada del laboratorio), que el indicador superior marque -8 mm y el inferior marque -4mm. Registre la información en la hoja de reporte (Formato No1).

-.Una vez en el vestidor el usuario deberá ponerse la ropa de trabajo antes de entrar al BSL-3. Asegurarse antes de empezar a trabajar que cuenta con todas las cosas necesarias para realizar su trabajo de acuerdo al protocolo que se seguirá.

-.Observar cuidadosamente el estado del laboratorio. Cualquier anomalía deberá ser anotada en la hoja de reporte.

- Encender a lámpara de luz ultravioleta de la CSB 15 minutos antes de empezar a trabajar con el ventilador de flujo de aire apagado. Con la lámpara U.V. apagada, encender el ventilador.

-.Encender la iluminación de la mesa de trabajo de la CSB.

-.Cubrir el área de trabajo de la campana con papel absorbente plastificado con película de polietileno por un lado, antes de iniciar cualquier procedimiento.

-Al manipular, no sacar por ningún motivo el material de trabajo fuera de la CSB (incluyendo guantes)

-Cualquier manipulación en la que se manejen líquidos produce aerosoles (apertura de una matraz, agitación de tubos, evitar manipulaciones bruscas y la producción de espuma, y recordar que el uso de pro-pipetas evita la aspiración de aerosoles.

-Por ningún motivo se deberá entrar al laboratorio cuando haya personal trabajando

-El número máximo de personas dentro del laboratorio no debe exceder del número de gabinetes de seguridad biológica + 1, que en este caso equivale a dos personas..

-No esta permitido el acceso a personas menores de 18 años.

-Al finalizar el trabajo, y la ropa de trabajo deberá ser esterilizada, coloque todo dentro de una bolsa para esterilizarla en autoclave, retire la bolsa una vez se haya cerrado debidamente (las bolsas no se deben cerrar herméticamente pues se evitaría la entrada de vapor esterilizante).

-Apagar la iluminación de la mesa de trabajo

-Apagar el ventilador

-Encender durante 15 minutos la lámpara U.V. de la mesa de trabajo.

-Una vez finalizado el trabajo limpie la mesa con una solución etanol al 70%.

Cultivos de micobacteria

-Todos los cultivos de micobacterias deberán ser registrados en el Formato A, el cual que deberá ir con el visto bueno del jefe de grupo.

-Se deberán cumplir los tiempos de cultivo propuestos por los usuarios. En caso de detectarse cultivos con un mayor tiempo al especificado en el formato se procederá a esterilizarlos.

- No estará permitido el cultivo de las cepas del complejo *M. tuberculosis* en agitación en material de vidrio en volúmenes mayores a 50 ml.

- La inoculación de bacterias deberá hacerse con un asa bacteriológica. Excepto cuando se requiera inocular una cantidad fija de bacterias.

- El personal del laboratorio deberá evitar transportar tubos o matraces en las manos o en recipientes inapropiados. Todo el material debe ser transportado de manera segura en

contenedores apropiados. Todos los cultivos, deberán estar debidamente identificados con la cepa de bacteria, la fecha y el usuario. Los cultivos sin marca o abandonados serán esterilizados

Centrifugación.

Antes de usar la centrifuga lea cuidadosamente las instrucciones. La centrifugación es uno de los procedimientos con mayor riesgo de generar aerosoles. La centrifuga del laboratorio cuenta con tapas para los rotores y tubos con sello hermético para evitar la fuga de aerosoles. Evite centrifugar grandes volúmenes. Trate de usar siempre el 50% de los tubos con muestra y el otro 50% con agua. Equilibre perfectamente los tubos. Nunca abandone la centrifuga hasta que haya alcanzado la velocidad deseada. Recuerde cualquier desbalance o alteración puede corregirse en los primeros minutos y evitar un accidente como ruptura de los tubos con material infeccioso. Abrir los rotores y tubos siempre en la CSB.

Cuidado de la campana de seguridad biológica

- La mesa debe limpiarse cotidianamente con una solución de etanol al 85%. Esta operación mata las micobacterias depositadas y elimina el polvo acumulado durante la jornada de trabajo.

- La lámpara U.V. debe limpiarse mensualmente con una tela empapada de alcohol.

- Al cambiar los filtros de la campana, estos deben ser descontaminados antes de ser destruidos por incineración

-En este momento el cepario consta de alrededor de 100 cepas (Ver anexo 2). Sin embargo por algunos problemas en el almacenamiento de las mismas, será necesario verificar la viabilidad.

Limpieza, Descontaminación y Disposiciones del Desecho

La limpieza del laboratorio de bioseguridad estará a cargo de los usuarios. La limpieza se llevará acabo con los desinfectantes indicados: Etanol al 70% para las mesas y campana (limpiar con sanitas la campana y con franelas la mesas). Hipoclorito al 5% para los pisos. Al finalizar todo el material de limpieza deberá ser esterilizado en la autoclave.

-Todos el material y ropa de trabajo utilizado durante un procedimiento deberá ser debidamente esterilizada en autoclave.

- Cada semana se llevara acabo la limpieza del laboratorio. Ver calendario anexo.

Transporte, recepción y almacenamiento de material y/o agentes biológicos.

- Cualquier muestra material biológico, tejidos y/o fluidos biológicos experimental o potencialmente infectados, así como cultivos puros de cepas de referencia o aislados clínicos, deberán ser empacados, marcados y transportados en contenedores especiales de Bioseguridad. El contenedor primario deberá estar rodeado de material absorbente para evitar el movimiento de las muestras.

- El arribo de cualquier material biológico al laboratorio deberá ser informado al responsable quien autorizara previo consentimiento del Comité de Bioseguridad la entrada del material o cepa. - Todas las cepas de micobacterias de referencia y aislados clínicos manipuladas en el laboratorio deberán estar debidamente registradas.

- Se deberá reportar su origen, susceptibilidad a antibióticos y de ser posible el grado de virulencia.

- Las cepas de referencia y/o aislados clínicos (cultivos madres) se almacenaran en un tanque de nitrógeno líquido. Cada cepa tendrá una hoja de registro y será almacenada bajo el mismo procedimiento con un código. Se guardaran 10 alicuotas de cada cepa. A solicitud de los usuarios las cepas serán proporcionadas, previa determinación de la susceptibilidad a las drogas.

- La manipulación de las cepas almacenadas o nuevas cepas deberá siempre serán autorizadas por la CBS-IIB.

- Cualquier material potencialmente peligroso deberá abrirse exclusivamente en la campana de bioseguridad del laboratorio BL-3.

Plan de emergencia ante un derrame o salpicadura. (Ver procedimiento general en el manual de Bioseguridad).

Todo usuario responsable de un incidente, deberá hacerse cargo de superar la eventualidad que se presente y esto deberá hacerse con la premura necesaria. En caso de que no se actué inmediatamente se le retirara el permiso para entrar a la Unidad.

4.3.1.- En la campana

- 1.-Mantener el flujo encendido. No apagarlo por ningún motivo.
- 2.- Alertar al personal que este en el laboratorio para que salgan inmediatamente.
- 3.- Aplicar solución desinfectante en las paredes interiores la superficie de trabajo y el equipo o material contenido en la campana.
- 4.- Dejar actuar durante 30 min
- 5.- Colocar el material de la campana en bolsa para esterilizarlo en autoclave.
- 6.- Dejar la campana con el ventilador encendido durante 10 min antes de volver a utilizarla o de apagarla

Nota. En caso de salpicadura importante descontaminar la campana con Formaldehído. (ver procedimiento descrito en el manual)

4.3.2.- En el laboratorio

- Cuando ocurra una liberación de material infecciosos (salpicadura, o derrame por ruptura de un tubo), el o las personas que se encuentren en el laboratorio deberán contener la respiración y salir inmediatamente del cuarto. Quitarse la ropa contaminada en caso necesario y salir del laboratorio inmediatamente. Para salpicaduras en la cara lavar inmediatamente dentro del laboratorio con ayuda del lavaojos.
- Se deberá dar aviso inmediatamente al responsable del laboratorio Dra Clara Inés Espitia Pinzón y a los integrantes de la Comisión de Bioseguridad del IIBM quienes deberán poner en marcha el plan de emergencia inmediatamente.
- Se deberá dar también dar aviso inmediato y oportuno al Secretario Técnico
- Las áreas de acceso no restringido del laboratorio deberán ser aisladas inmediatamente colocando sellos visibles, hasta que se terminen los procedimientos de descontaminación descritos en el Manual de Bioseguridad.

Formato A

Ficha de ingreso al laboratorio de micobacterias (BL-3)

Fecha: _____

Hora de entrada: _____ Hora de salida: _____

Usuario: _____

Grupo de Trabajo: _____

Especie(s) de *Mycobacterium* que será(n)

manipulada(s): _____

Tipo de

manipulación: _____

Protocolo No.: _____

Otra:

La presión del vestidor es de _____. La presión del laboratorio es de _____.

Entregó la llave del laboratorio habiendo dejado todo perfectamente limpio.

SI NO

La campana de bioseguridad fue tratada con desinfectante y 15 min de luz UV. _____

El autoclave de doble puerta funciona correctamente. _____

Todo el material y vestuario fueron descontaminados.

Observaciones: _____

Firma: _____

Formato B

Cultivos Líquidos de Micobacterias.

(Solo esta permitido cultivos líquidos de máximo 50 ml de micobacterias patógenas)

*Llene una hoja por cada cepa de micobacteria a cultivar, por favor marque los matraces con la siguiente información:

Fecha, cepa de micobacteria y nombre del usuario.

Fecha:-----

Laboratorio:-----

Cepa de micobacteria-----

Medio de Cultivo-----

Numero de matraces y volumen de cada uno-----.

Tiempo de cultivo-----

Fecha aproximada de eliminación del cultivo-----

Método de eliminación. -----

Autoclave -----

Filtración-----

En caso de filtración especifique como eliminara la masa bacteriana.

Declaro que he verificado la integridad de los matraces durante todo el procedimiento de preparación y esterilización de los medios de cultivo.

Nombre y firma

Usuario:

Nombre y firma

VoBo Jefe de Grupo

Formato C

Autorización de personal y procedimientos en el la Unidad de Bioseguridad

1. Nombre de la persona responsable del trabajo que será autorizada
2. Otros usuarios autorizados en calidad de personal en entrenamiento o candidatos.
- 3.- Nombre del agente y/ o tipo de material a trabajar
- 4.- Protocolo de trabajo (incluya las hojas que sean necesarias, o ponga el código en caso de que el protocolo a usar este dentro de los autorizados)
- 5.- Procedimiento de descontaminación
- 6.- Cantidad de material que sea almacenado y el metodo de almacenamiento
- 7.- Tiempo estimado de uso del laboratorio
8. Equipo o reactivos extras que serán transferidos al laboratorio

He leído el Manual de Bioseguridad para trabajar el la Unidad de Bioseguridad del IIB, entendiendo los procedimientos y reglas enunciadas. Estoy de acuerdo en cumplir y trabajar bajo esas normas. Entiendo que cualquier cambio a este procedimiento o personal involucrado deberá ser notificado llenando una nuevo formato C

Firma:_____

ANEXOS:

LINEAMIENTOS DE SEGURIDAD ANTES DE INGRESAR AL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS (BSL3)



1. Revisar y anotar las lecturas de los manómetros I y II.
2. Determinar de acuerdo a las siguientes condiciones, si es posible ingresar al laboratorio para trabajar con Micobacterias:



- Si la lectura del **manómetro I** se encuentra entre el intervalo de referencia de **color verde, indica nivel aceptable de presión negativa**; por lo que se podrá ingresar al laboratorio de Micobacterias para manipular ese agente biológico.



- Si la lectura del **manómetro I** se encuentra entre el intervalo de referencia de **color amarillo, indica nivel preventivo de presión negativa**; ello indica que se podrá ingresar al Laboratorio de Micobacterias a manipular ese agente biológico; y se deberá notificar a la brevedad la revisión y/o reparación del sistema de presión negativa a: Secretaría Técnica de Obras y Conservación; Comisión de Bioseguridad y Coordinación de Seguridad del Instituto.



- Si la lectura del **manómetro I** se encuentra entre el intervalo de referencia de **color rojo, indica nivel de alto riesgo ya que existe presión positiva**; No se podrán manipular Micobacterias dentro del laboratorio respectivo; y se deberá notificar a la brevedad la revisión y/o reparación del sistema de presión negativa a: Secretaría Técnica de Obras y Conservación; Comisión de Bioseguridad y Coordinación de Seguridad del Instituto.

NOTA: Si se manipulan Micobacterias, cuando el indicador del manómetro I, se encuentre en el intervalo de color rojo y se presentara un accidente que involucre formación de aerosoles; es muy probable que se escape el agente biológico hacia el exterior del laboratorio y como consecuencia la exposición de las personas a ese agente.



- Si la lectura del manómetro se encuentra entre el intervalo de referencia de **color blanco**, puede indicar posible falla en el sistema de suministro de inyección de aire, por lo que se deberá reportar a la brevedad a: Secretaría Técnica de Obras y Conservación; Comisión de Bioseguridad y Coordinación de Seguridad del Instituto.



MANÓMETRO I

LABORATORIO DE MICOBACTERIAS



MANÓMETRO II

VESTIDOR DE ENTRADA

Cuidado de la campana de seguridad biológica

- La mesa debe limpiarse cotidianamente con una solución de etanol al 85%. Esta operación mata las micobacterias depositadas y elimina el polvo acumulado durante la jornada de trabajo.

- La lámpara U.V. debe limpiarse mensualmente con una tela empapada de alcohol.

- Al cambiar los filtros de la campana, estos deben ser descontaminados antes de ser destruidos por incineración

Procedimiento para la descontaminación de filtros de la campana

- a) Preparar una solución con 575 ml de formaldehído y 350 ml de metanol. NOTA: el metanol es tóxico. Evitar los vapores y el contacto con la piel. El formaldehído es explosivo en el aire (flamas, chispas) a concentraciones de 7 a 73%.
- b) Llenar un vaporizador, o en su defecto un recipiente colocado sobre una parrilla eléctrica, con la solución de formaldehído.
- c) Colocar el vaporizador en el interior de la campana.
- d) Utilizar un contacto eléctrico ubicado fuera de la campana.
- d) Cerrar la ventana frontal y sellarla con cinta canela.
- e) Encender el ventilador de la campana y dejar el vaporizador funcionando durante 1 hora.

- f) Apagar el vaporizador y dejar funcionando el ventilador durante un tiempo mínimo de 2 horas.
- g) Limpiar todas las superficies con etanol para eliminar los depósitos de formaldehído.

Inactivación de micobacterias

- Por sus características estructurales, el género *Mycobacterium* tiene susceptibilidades muy particulares ante agentes descontaminantes. Los métodos de descontaminación recomendados para inactivar *M. tuberculosis* son los siguientes:

- Descontaminación en autoclave, 15 lb/pulgada cuadrada, 121°C, 50 min.
- Descontaminación en autoclave, 27 lb/pulg2, 132°C, 20 min.
- Calor seco (horneado), 160-180°C, 4 horas.
- Irradiación gamma, 2.5 Mrads
- Incineración, 649-926°C.
- Radiación UV (253.7 nm), 40 µW/cm2, 10-30 min.
- Paraformaldehído (gas), 0.3 g/pie3, >23°C, 90 min.
- Peróxido de hidrógeno vaporizado, 2.4 mg/L, 4-50°C, 30 min.
- Agentes desinfectantes que pueden ser utilizados para limpiar superficies de trabajo, pisos, paredes:

Fenol 0.2 – 3 %

Hipoclorito de sodio 5%

Alcohol etílico 70-85%

Formaldehído líquido 4-8%

Glutaraldehído 2%

Peróxido de hidrógeno líquido al 6%

- Es importante mencionar que el tiempo de contacto requerido para inactivar *Mycobacterium* es de 5-30 minutos dependiendo del agente y de la cepa de *Mycobacterium* de la que se trate, y que las concentraciones de cloro alcanzadas con soluciones de hipoclorito convencionales no inactivan las micobacterias de manera efectiva. Por lo tanto, **para contener derrames se recomienda utilizar una solución de fenol al 5% en agua o en etanol y dejar actuar durante 10 minutos.**
- **Descontaminación de laminillas para tinción.** En caso de requerir realizar frotis para tinción de Ziehl-Neelsen, las laminillas deben dejar secarse al aire, fijarse con una solución de 5% fenol en etanol durante 10 minutos y posteriormente teñidas de acuerdo con el protocolo de Ziehl-Neelsen. Las soluciones de hipoclorito dañan la morfología celular.

Bibliografía

1. Best, M., Sattar, S. A., Springthorpe, V. S., Kennedy, M. E. (1990) Efficacies of selected disinfectants against *Mycobacterium tuberculosis*. J. Clin. Microbiol. 28: 2234-2239.
2. Bioseguridad de Laboratorios de Microbiología y Medicina, CDC-NIH, 4th Edition; Florida Atlantic University Biohazard/Recombinant DNA Handbook
3. Chedore, P., Th'ng, C., Nolan, D. H., Churchwell, G. M., Sieffert, D. E., Hale, Y. M., Jarnieson, F. (2002) Method for inactivating and fixing unstained smear preparations of *Mycobacterium tuberculosis* for improved laboratory safety. J. Clin. Microbiol. 40: 4077-4080.
4. David, H., Lévy-Frébault, V. & Thorel, M.-F. Méthodes de laboratoire pour mycobactériologie clinique. Institut Pasteur. Paris, 1989.
5. Fleming, D. O., Richardson, J. H., Tulis, J. J. and Vesley, D. (Eds). Laboratory Safety. Principles and Practices. 2nd. edition. ASM Press. Washington, D. C., 1995.
6. Kuehne, R., Chatigny, M. A., Stainbrook, B. W., Runkle, R. S. & Stuart, D. G. Primary barriers and personal protective equipment *in* Fleming, D. O., Richardson, J. H., Tulis, J. J. & Vesley, D. (Eds.) Laboratory Safety. 2nd. Ed. ASM Press. Washington, D. C., 1995.
7. Michaud, G. Les risques biologiques en laboratoire de recherche et leur prévention. Institut Pasteur. Paris, 1991.

CAPÍTULO 15

15. LABORATORIO BSL3 DE VIRUS DE LA INFLUENZA A H1N1

Normatividad del CDC de EEUU para el manejo del virus de la influenza A H1N1

Interim Biosafety Guidance for All Individuals handling Clinical Specimens or Isolates containing 2009-H1N1 Influenza A Virus (Novel H1N1), including Vaccine Strains

Estas recomendaciones están sujetas a cambios de acuerdo a la información generada por acuerdos basados en estudios científicos.

Esta guía tiene por objeto facilitar los lineamientos de bioseguridad para el Personal que realiza: Diagnóstico de la infección y aislamiento; pruebas rápidas preliminares de diagnóstico en lugares de control del virus de la influenza H1N1(Novel H1N1); actividades de investigación; procedimientos de vacunación con cepas.

Las prácticas que involucran manejo del virus H1N1 deben cumplir con los siguientes requerimientos:

REQUERIMIENTOS EN EL LABORATORIO

REGLAS BÁSICAS PARA EL MANEJO DE LAS MUESTRAS CONTENIENDO EL VIRUS H1N1
ACCESO AL LABORATORIO, CONTROLES PRIMARIOS DE BIOSEGURIDAD, EPP, PEO Y
PROCEDIMIENTOS ADMINISTRATIVOS.

DEFINICIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS ESTÁNDARES DE OPERACIÓN Y PROTOCOLOS
(PEO) EN EL LABORATORIO BSL-2

CBS, EQUIPOS, DISPOSITIVOS Y PÁCTICAS QUE PRODUCEN Y LIBERAN AEROSOLES EN
EL LABORATORIO BSL-2

CONTENCIÓN SECUNDARIA

ESTERILIZACIÓN CON AUTOCLAVE

DESINFECCIÓN QUÍMICA

DISPOSICIÓN DE LOS DESECHOS RPBI (PLAN DE MANEJO DE RPBI)

ACCIDENTES Y FORMA PARA REPORTAR PROBLEMAS E INCIDENTES

CARACTERÍSTICAS DE DISEÑO EN LAS INSTALACIONES BSL2 Y BSL3 (INGENIERÍA)

VIGILANCIA MÉDICA DEL PERSONAL OCUPACIONALMENTE EXPUESTO (POE).

En esta guía se describen los lineamientos de bioseguridad en las operaciones que aplican en este caso: Las pruebas rápidas de inmunoensayo para influenza; las pruebas directas e indirectas con anticuerpos acoplados a complejos inmunofluorescentes (DFA, IFA); los cultivos y ensayos moleculares preliminares requieren una cabina de bioseguridad (CSB) tipo clase II, dentro de una instalación o laboratorio nivel BSL-2. Las prácticas de cultivo del virus H1N1 especiales, requieren un laboratorio con instalaciones tipo BSL-3 (consistente con las recomendaciones de Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition, Section VII, Agent Summary Statement for contemporary, circulating human influenza strains p. 224-226).

Existen en el mercado algunas pruebas rápidas de inmunoensayo (FDA) que requieren consideraciones de bioseguridad para prevenir la exposición y contacto con el material infeccioso; se deben seguir los procedimientos de bioseguridad (BSN2) y especial atención en las operaciones, dispositivos y equipos que pueden generar y liberar aerosoles; las prácticas que no liberan aerosoles solo requieren protección para salpicaduras. Cuando en la práctica se utilice un equipo de agitación tipo vortex, se debe seguir el procedimiento descrito en la guía de bioseguridad “Clinical Laboratory Testing (Laboratory Diagnostic

Work), Viral Isolation and Laboratory Research”. Rapid immunoassay test procedures outside a Class II biosafety cabinet (BSC). Se debe utilizar el equipo de protección personal (EPP) que se describe a continuación, para disminuir el riesgo de exposición y contacto con el agente biológico, y para protección en el caso de ocurrir salpicaduras, en este tipo de pruebas:

- Bata de laboratorio
- Guantes
- Gafas y anteojos
- Careta de protección facial *

* Durante la utilización de una cabina de Bioseguridad Class II (CSB) podría no ser necesaria su utilización.

Disposiciones de bioseguridad en un laboratorio de diagnóstico clínico y de investigación en general:

Las prácticas estándares de operación (PEO) de un laboratorio de diagnóstico clínico e investigación, pueden realizarse en una instalación de laboratorio BSL-2, considerando los siguientes aspectos:

Las prácticas que utilizan equipos y accesorio en las pruebas de diagnóstico rápidas podrían formar y generar aerosoles (agitación con vortex), estas pruebas incluyen:

Los ensayos para detectar antígenos virales en especímenes clínicos que utilizan pruebas directas e indirectas con anticuerpos inmunofluorescentes (DFA, IFA); crecimiento de virus

en cultivos celulares preliminares o en huevos embrionados; pruebas preliminares moleculares de investigación.

El aislamiento viral preliminar y todas las manipulaciones que potencialmente puedan formar y liberar aerosoles, deben realizarse dentro de una CBS clase II, verificada y certificada anualmente. La CBS clase II debe tener las siguientes características: Flujo laminar unidireccional con filtración HEPA. El EPP y la seguridad ambiental debe incluir los siguientes dispositivos basados en el análisis específico de riesgo:

- Bata de laboratorio
- Guantes de protección
- CBS clase II (con dispositivos para protección en caso de ocurrir salpicaduras y formación de aerosoles)

Para más información consultar Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition, Section IV, Laboratory Biosafety Level Criteria (p. 44-49)

Manejo de los residuos peligrosos biológico infecciosos (RPBI) en el laboratorio

El tratamiento de los RPBI con calor húmedo en autoclave, es el método adecuado para descontaminar; y la disposición de los RPBI debe realizarse de acuerdo a los procedimientos PEO; lo anterior considera los lineamientos especificados en el reglamento y las regulaciones estatales y federales.

Desinfección apropiada

Se pueden emplear varios tipos de desinfectantes químicos, incluyendo: Cloro, alcoholes, peróxidos, detergentes, agentes iodóforos, fenoles entre otros compuestos; estos

agentes químicos, son efectivos para desinfectar el virus de la influenza humana, siempre y cuando se utilicen en las concentraciones y tiempos de contacto apropiados, indicados por el fabricante.

Las superficies de trabajo y el equipo, debe desinfectarse tan pronto como sea posible después de procesar muestras biológicas. Los estudios de resistencia de este tipo de virus, han demostrado que el virus de la influenza puede sobrevivir en superficies expuestas al ambiente e infectar personas entre 2-8 horas después de ser depositado en superficie. Para más información consultar *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition* Appendix B.

Salud del Personal Ocupacionalmente Expuesto

Todo el POE debe ser monitoreado para detectar los síntomas iniciales de la influenza-like; incluyendo influenza tipo A H1N1 2009 (novel H1N1). Si la persona presenta fiebre u otros síntomas como tos, dolor de garganta, nariz irritada, cuerpo cortado, dolor de cabeza, escalofrío y fatiga; deberá ser reportada al supervisor inmediatamente. Existen medicamentos antivirales disponibles en el mercado que pueden ser considerados bajo supervisión médica. Para información adicional, consultar : *Interim Guidance on Antiviral Recommendations for Patients with Confirmed or Suspected Swine Influenza A (H1N1) Virus Infection and Close Contacts*.

16. LABORATORIO BSL-2⁺ DE VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA VIH. ⁺(CON PRÁCTICAS DE OPERACIÓN PARA BSL-3).

REQUERIMIENTOS EN EL LABORATORIO DE VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA VIH

REGLAS BÁSICAS PARA EL MANEJO DEL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA VIH EN EL LABORATORIO BSL2⁺

ACCESO AL LABORATORIO, CONTROLES PRIMARIOS DE BIOSEGURIDAD, EPP, PEO Y ADMINISTRATIVOS.

DEFINICIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS ESTÁNDARES DE OPERACIÓN Y PROTOCOLOS (PEO) EN EL LABORATORIO BSL-2⁺

CBS, EQUIPOS, DISPOSITIVOS Y PÁCTICAS QUE PRODUCEN Y LIBERAN AEROSOLES EN EL LABORATORIO BSL-2⁺

CONTENCIÓN SECUNDARIA

ESTERILIZACIÓN CON AUTOCLAVE

DESINFECCIÓN QUÍMICA

DISPOSICIÓN DE LOS DESECHOS RPBI (PLAN DE MANEJO DE RPBI)

ACCIDENTES Y FORMA PARA REPORTAR PROBLEMAS E INCIDENTES

CARACTERÍSTICAS DE DISEÑO EN LAS INSTALACIONES BSL2⁺ (INGENIERÍA)

VIGILANCIA MÉDICA DEL PERSONAL OCUPACIONALMENTE EXPUESTO (POE).

CAPÍTULO 17

17. LABORATORIO BSL-2 *Trypanosoma cruzi*.

REQUERIMIENTOS EN EL LABORATORIO REGLAS BÁSICAS PARA EL MANEJO DEL PARÁSITO.

ACCESO AL LABORATORIO, CONTROLES PRIMARIOS DE BIOSEGURIDAD, EPP, PEO Y PROCEDIMIENTOS ADMINISTRATIVOS E INSTALACIONES.

DEFINICIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS ESTÁNDARES DE OPERACIÓN Y PROTOCOLOS (PEO) EN ESE LABORATORIO BSL-2

CBS, EQUIPOS, DISPOSITIVOS Y PÁCTICAS QUE PRODUCEN Y LIBERAN AEROSOLES EN **EL LABORATORIO BSL-2 E INSECTARIO**

CONTENCIÓN SECUNDARIA

ESTERILIZACIÓN CON AUTOCLAVE

DESINFECCIÓN QUÍMICA

DISPOSICIÓN DE LOS DESECHOS RPBI (PLAN DE MANEJO DE RPBI)

ACCIDENTES Y FORMA PARA REPORTAR PROBLEMAS E INCIDENTES

CARACTERÍSTICAS DE DISEÑO EN LAS INSTALACIONES BSL2 (INSTALACIONES)

VIGILANCIA MÉDICA DEL PERSONAL OCUPACIONALMENTE EXPUESTO (POE).

CAPÍTULO 18

18. LABORATORIO BSL-2 DEL VIRUS DEL DENGUE.

REQUERIMIENTOS EN EL LABORATORIO

REGLAS BÁSICAS PARA EL MANEJO DEL VIRUS DEL DENGUE

ACCESO AL LABORATORIO, CONTROLES PRIMARIOS DE BIOSEGURIDAD, EPP, PEO Y PROCEDIMIENTOS ADMINISTRATIVOS.

DEFINICIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS ESTÁNDARES DE OPERACIÓN Y PROTOCOLOS (PEO) EN EL LABORATORIO BSL-2

CBS, EQUIPOS, DISPOSITIVOS Y PÁCTICAS QUE PRODUCEN Y LIBERAN AEROSOL EN EL LABORATORIO BSL-2

CONTENCIÓN SECUNDARIA

ESTERILIZACIÓN CON AUTOCLAVE

DESINFECCIÓN QUÍMICA

DISPOSICIÓN DE LOS DESECHOS RPBI (PLAN DE MANEJO DE RPBI)

ACCIDENTES Y FORMA PARA REPORTAR PROBLEMAS E INCIDENTES

CARACTERÍSTICAS DE DISEÑO EN LAS INSTALACIONES BSL2⁺ (INGENIERÍA)

VIGILANCIA MÉDICA DEL PERSONAL OCUPACIONALMENTE EXPUESTO (POE).

ANEXOS

TABLA No. 2

GRUPOS DE LOS AGENTES BIOLÓGICOS DE RIESGO

Fuente: Manual de Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos, 5ª edición 2007, CDC/NIH.

Agentes Biológicos del Grupo de Riesgo 1

Esta clasificación incluye agentes bacterianos, hongo, virus, parásitos, rickettsia o clamidia no incluido en clases superiores : Son agentes que presentan un riesgo de infección mínimo, tanto para el trabajador como para la comunidad. No existe enfermedad causada por ellos, o ha sido raramente descrita, se definen como raramente patógenos

Agentes Biológicos del Grupo de Riesgo 2

Son agentes que presentan un *riesgo moderado* para el trabajador (la enfermedad resulta de autoinoculaciones, ingestiones o exposiciones de membranas mucosas, o bien debido a inmunodepresión). Su diseminación en el medio ambiente es poco probable y existe tratamiento o medidas preventivas contra la infección generada.

BACTERIAS

--*Acinetobacter baumannii*

--*Actinobacillus*

--*Actinomyces pyogenes*

--*Aeromonas hydrophila*

--*Amycolata autotrophica*

--*Archanobacterium haemolyticum*

--*Arizona hinshawii* – todos los serotipos

--*Bacillus anthracis*

--*Bartonella henselae*, *B. quintana*, *B. vinsonii*

--*Bordetella* including *B. pertussis*

--*Borrelia recurrentis*, *B. burgdorferi*

--*Burkholderia* (excepto las descritas en la lista del grupos de riesgo 3)

--*Campylobacter coli*, *C. fetus*, *C. jejuni*

--*Chlamydia psittaci*, *C. trachomatis*, *C. pneumoniae*

--*Clostridium botulinum*, *Cl. chauvoei*, *Cl. haemolyticum*, *Cl. histolyticum*, *Cl. novyi*, *Cl. septicum*, *Cl. tetani*

--*Corynebacterium diphtheriae*, *C. pseudotuberculosis*, *C. renale*

--*Dermatophilus congolensis*

--*Edwardsiella tarda*

--*Erysipelothrix rhusiopathiae*

--*Escherichia coli* – todas las enteropatógenas, enterotoxigénicas, enteroinvasivas y las cepas de antígeno K1, incluido *E. coli* O157:H7

--*Haemophilus ducreyi*, *H. influenzae*

--*Helicobacter pylori*

--*Klebsiella* – todas las especies excepto *K. oxytoca* (del grupo de riesgo 1)

--*Legionella* incluyendo *L. pneumophila*

--*Leptospira interrogans* – todos los serotipos

--*Listeria*

--*Moraxella*

--*Mycobacterium* (excepto las descritas en el grupos de riesgo 3) incluido *M. avium* complex, *M. asiaticum*, *M. bovis* BCG vaccine strain, *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. kansasii*, *M. leprae*, *M.*

malmoense, *M. marinum*, *M. paratuberculosis*, *M. scrofulaceum*, *M. simiae*, *M. szulgai*, *M. ulcerans*,
M. xenopi

--*Mycoplasma*, excepto *M. mycoides* and *M. agalactiae* las que son patógenos de animales

--*Neisseria gonorrhoeae*, *N. meningitidis*

--*Nocardia asteroides*, *N. brasiliensis*, *N. otitidiscaviarum*, *N. transvalensis*

--*Rhodococcus equi*

--*Salmonella* incluido *S. arizonae*, *S. choleraesuis*, *S. enteritidis*, *S. gallinarum-pullorum*, *S. meleagridis*, *S. paratyphi*, A, B, C, *S. typhi*, *S. typhimurium*

--*Shigella* incluido *S. boydii*, *S. dysenteriae*, type 1, *S. flexneri*, *S. sonnei*

--*Sphaerophorus necrophorus*

--*Staphylococcus aureus*

--*Streptobacillus moniliformis*

--*Streptococcus* incluido *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*

--*Treponema pallidum*, *T. carateum*

--*Vibrio cholerae*, *V. parahemolyticus*, *V. vulnificus*

Agentes Biológicos del Grupo de Riesgo 2

HONGOS

--*Yersinia enterocolitica*

--*Blastomyces dermatitidis*

--*Cladosporium bantianum*, *C. (Xylohypha) trichoides*

--*Cryptococcus neoformans*

--*Dactylaria galopava (Ochroconis gallopavum)*

--*Epidermophyton*

--*Exophiala (Wangiella) dermatitidis*

--*Fonsecaea pedrosoi*

--*Microsporum*

--*Paracoccidioides braziliensis*

--*Penicillium marneffeii*

--*Sporothrix schenckii*

--*Trichophyton*

Agentes Biológicos del Grupo de Riesgo 2

PARÁSITOS

--*Ancylostoma* incluido *A. duodenale*, *A. ceylanicum*

--*Ascaris* incluido *Ascaris lumbricoides* suum

--*Babesia* incluido *B. divergens*, *B. microti*

--*Brugia* filaria gusano incluido *B. malayi*, *B. timori*

--*Coccidia*

--*Cryptosporidium* incluido *C. parvum*

--*Cysticercus cellulosae* (quiste hidatídico, larva de *T. solium*)

--*Echinococcus* incluido *E. granulosus*, *E. multilocularis*, *E. vogeli*

--*Entamoeba histolytica*

--*Enterobius*

--*Fasciola* incluido *F. gigantica*, *F. hepatica*

--*Giardia* incluido *G. lamblia*

--*Heterophyes*

--*Hymenolepis* incluido *H. diminuta*, *H. nana*

--*Isospora*

--*Leishmania* incluido *L. braziliensis*, *L. donovani*, *L. ethiopia*, *L. major*, *L. mexicana*, *L. peruviana*, *L. tropica*

--*Loa loa* filaria gusano

--*Microsporidium*

--*Naegleria fowleri*

--*Necator* incluido *N. americanus*

--*Onchocerca* filaria gusano incluido, *O. volvulus*

- Plasmodium* incluido simian especies, *P. cynomologi*, *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale*, *P. vivax*
- Sarcocystis* incluido *S. sui hominis*
- Schistosoma* incluido *S. haematobium*, *S. intercalatum*, *S. japonicum*, *S. mansoni*, *S. mekongi*
- Strongyloides* incluido *S. stercoralis*
- Taenia solium*
- Toxocara* incluido *T. canis*
- Toxoplasma* incluido *T. gondii*
- Trichinella spiralis*
- Trypanosoma* incluido *T. brucei brucei*, *T. brucei gambiense*, *T. brucei rhodesiense*, *T. cruzi*
- Wuchereria bancrofti* filaria gusanos

Agentes Biológicos del Grupo de Riesgo 2

VIRUS

- Adenoviruses, todos los serotipos humanos
- Alphaviruses (Togaviruses) - Group A Arboviruses
 - Eastern equine encephalomyelitis virus
 - Venezuelan equine encephalomyelitis vaccine strain TC-83
 - Western equine encephalomyelitis virus
- Arenaviruses
 - Lymphocytic choriomeningitis virus (cepas no neuritrópicas)
 - Tacaribe virus complejo
- Bunyaviruses
 - Bunyamwera virus
 - Rift Valley fever virus vaccine strain MP-12
- Caliciviruses
- Coronaviruses
- Flaviviruses (Togaviruses) - Group B Arboviruses

--Dengue virus serotipos 1, 2, 3, and 4

--Yellow fever virus vaccine strain 17D

Hepatitis A, B, C, D, and E viruses

Herpesviruses - excepto Herpesvirus simiae (Monkey B virus) (ver grupo de riesgo 4)

--Cytomegalovirus

--Epstein Barr virus

--*Herpes simplex* tipos 1 and 2

--*Herpes zoster*

--Human herpesvirus tipos 6 and 7

Orthomyxovirus

--Influenza viruses types A, B, and C

--Other tick-borne orthomyxovirus

Papovaviruses

--Todos los papilloma virus humanos

Paramyxoviruses

--Newcastle disease virus

--Measles virus

--Mumps virus

--Parainfluenza viruses tipos 1, 2, 3, and 4

--Respiratory syncytial virus

Parvoviruses

--Human parvovirus (B19)

Picornaviruses

--Coxsackie viruses tipos A and B

--Echoviruses – todos los tipos

--Polioviruses – todos los tipos, silvestre y atenuada

--Rhinoviruses – todos los tipos

Poxviruses – todos los tipos excepto Monkeypox virus (*ver grupo de riesgo 3*) and restricted poxviruses including Alastrim,

Smallpox, and Whitepox

Reoviruses – todos los tipos incluido Coltivirus, Rotavirus humano, and Orbivirus (Colorado tick fever virus)

Rhabdoviruses

--Rabies virus – todas las cepas

--Vesicular stomatitis virus - laboratory adapted strains including VSV-Indiana, San Juan, and Glasgow

Togaviruses (*ver Alphaviruses and Flaviviruses*)

--Rubivirus (rubella)

Agentes Biológicos del Grupo de Riesgo 3

Agentes que producen enfermedad seria o *potencialmente letal* como resultado de su infección. Presentan un riesgo de transmisión elevado para el trabajador, pero bajo para la comunidad. Los agentes son patógenos estrictos y puede haber disponibilidad de tratamiento.

BACTERIAS

--*Bartonella*

--*Bruceella* incluido *B. abortus*, *B. canis*, *B. suis*

--*Burkholderia (Pseudomonas) mallei*, *B. pseudomallei*

--*Coxiella burnetii*

--*Mycobacterium bovis* (excepto cepa BCG, *ver grupo de riesgo 2*), *M. tuberculosis*

--*Pasteurella multocida* type B -"buffalo" and other virulent strains

--*Rickettsia akari*, *R. australis*, *R. canada*, *R. conorii*, *R. prowazekii*, *R. rickettsii*, *R. siberica*, *R. tsutsugamushi*, *R. typhi* (*R. mooseri*)

--*Yersinia pestis*

Agentes Biológicos del Grupo de Riesgo 3

HONGOS

--*Coccidioides immitis* (cultivo con esporas; suelo contaminado)

--*Histoplasma capsulatum*, *H. capsulatum* var.. *duboisii*

Agentes Biológicos del Grupo de Riesgo 3

PARÁSITOS

No

Agentes Biológicos del Grupo de Riesgo 3

VIRUS PRIONES

Alphaviruses (Togaviruses) - Grupo A Arboviruses

--Semliki Forest virus

--St. Louis encephalitis virus

--Venezuelan equine encephalomyelitis virus (excepto vaccine strain TC-83, ver grupo de riesgo 2)

Arenaviruses

--Flexal

--Lymphocytic choriomeningitis virus (LCM) (cepa neuritrópica)

Bunyaviruses

--Hantaviruses incluido Hantaan virus

--Rift Valley fever virus

Flaviviruses (Togaviruses) - Group B Arboviruses

--Japanese encephalitis virus

--Yellow fever virus

Poxviruses

--Monkeypox virus

VIRUS PRIONES

--Transmissible spongiform encephalopathies (TME) agentes (enfermedad Creutzfeldt-Jacob y Agentes kuru)

Retroviruses

--Human immunodeficiency virus (HIV) types 1 and 2

--Human T cell lymphotropic virus (HTLV) tipos 1 and 2

--Simian immunodeficiency virus (SIV)

Rhabdoviruses

--Vesicular stomatitis virus

Agentes Biológicos del Grupo de Riesgo 4

Son agentes que presentan un riesgo de infección elevado y frecuentemente mortal, tanto para el trabajador como para la comunidad. Se transmiten por vía aérea. Generalmente no se dispone de tratamientos contra la infección.

BACTERIAS

No

HONGOS

No

PARÁSITOS

No

Agentes Biológicos del Grupo de Riesgo 4

VIRUS

Arenaviruses

--Guanarito virus

--Lassa virus

--Junin virus

--Machupo virus

--Sabia

Bunyaviruses (Nairovirus)

--Crimean-Congo hemorrhagic fever virus

Filoviruses

--Ebola virus

--Marburg virus

Flaviruses (Togaviruses) - Grupo B Arboviruses

--Tick-borne encephalitis virus complex incluido Absetterov, Central European encephalitis,

Hanzalova, Hypr, Kumlinge, Kyasanur Forest disease, Omsk hemorrhagic fever, and

Russian spring-summer encephalitis viruses

Herpesviruses (alpha)

--Herpesvirus simiae (Herpes B or Monkey B virus)

Paramyxoviruses

--Equine morbillivirus

Hemorrhagic fever agents and viruses aún no definidos

Formato D

Donación de cepas y/o materiales biológicos; forma de registro, manifiesto Entrega-Recepción del material biológico.

**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS
ENTREGA-RECEPCIÓN
MATERIAL BIOLÓGICO NIVEL DE BIOSEGURIDAD: 2* Y 3**

CONTACTO CON EL DONANTE DEL MATERIAL BIOLÓGICO

NOMBRE: _____
DIRECCIÓN: _____

TELÉFONOS: _____

CONTACTO CON EL RECEPTOR DEL MATERIAL BIOLÓGICO

NOMBRE: _____
DIRECCIÓN: _____

TELÉFONOS: _____

DATOS DEL MATERIAL BIOLÓGICO

DESIGNACIÓN DEL MATERIAL O EN SU CASO NOMBRE DE LA CEPA: _____

NIVEL DE BIOSEGURIDAD Y NOTAS ADICIONALES: _____

FECHA DE TRANSFERENCIA: _____

GENOTIPO: _____

Vo. Bo.

DIRECCIÓN DE LA DEPENDENCIA RECEPTORA
O RESPONSABLE ACREDITADO

NOMBRE Y FIRMA DEL DONANTE

NOMBRE Y FIRMA DEL RECEPTOR

NOTAS ACLARATORIAS

PARA LA ENTREGA-RECEPCIÓN DE CEPAS NIVEL DE BIOSEGURIDAD 2* Y 3

1) El uso adecuado de los medios y vías de comunicación y transporte, en cuanto a las precauciones de bioseguridad y cumplimiento de la normatividad oficial, es responsabilidad del Investigador encargado de la transportación del material biológico.

2) El Instituto de Investigaciones Biomédicas garantiza tener las instalaciones necesarias para el manejo del material biológico con el que se trabaja, sin embargo, es responsabilidad de la Institución receptora del material biológico garantizar el tener la infraestructura necesaria para el nivel de bioseguridad requerido; se considera la firma del receptor de la cepa como la afirmación de que cuenta con las instalaciones adecuadas para trabajar con el material biológico que se ha transferido.

3) Este documento de transferencia de ninguna manera autoriza el empleo de dicho material biológico sin el acuerdo correspondiente en caso de haber patente u otro sistema de autoría de por medio. Para ello se signaran los convenios necesarios de manera independiente a este documento.

4) Por razones de bioseguridad el Instituto de Investigaciones Biomédicas autorizará la recepción del material biológico cuando se tenga la certeza de que el Investigador cuenta con los medios adecuados para su manejo, por lo cual se debe solicitar la autorización del Instituto a través de la Secretaría Académica previo a la adquisición de nuevo material de **nivel de bioseguridad 2* o 3**.

5) Obtener, guardar o manejar material biológico de nivel de bioseguridad **superior al 2** sin la autorización institucional será considerado una falta que se calificará de acuerdo a la normatividad universitaria.

La Comisión de Bioseguridad

NOMBRE Y FIRMA DEL INVESTIGADOR INTERESADO

REFERENCIAS

Normatividad Académica de la UNAM. Reglamento de Seguridad y Coordinación en Materia de Investigación para la Salud en la UNAM, 9 de febrero de 1989.

Dirección electrónica:

<http://www.ordenjuridico.gob.mx/Federal/OA/UNAM/Reglamentos/REGLAMENTO%2013.pdf>

Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL). 4ª ed. HHS Publication abril 1999.

Dirección electrónica: <http://www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/bmb14/bmb14toc.htm>

Laboratory Biosafety Manual. 3ª ed. WHO, 2004.

Dirección electrónica: http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/WHO_CDS_CSR_LYO_2004_11/en/

The Laboratory Biosafety Manual. Canadá . 3ª ed 2004

Dirección electrónica: http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/lbg-ldmbl-04/pdf/lbg_2004_e.pdf

Proposed Guidelines for Goals for Working Safely with Mycobacterium tuberculosis in Clinical, Public Health, and Research Laboratories. 28 abril 1997.

Dirección electrónica: <http://www.cdc.gov/od/ohs/tb/tbdoc2.htm>

Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. publication No. (CDC) 93-8395.

MMWR 1994; 43 (No. RR-13). 3^a ed. USA Department of Health and Human Services, Public Health Service. CDC y NIH. Atlanta, 1994.

Guidelines for preventing the transmission of Mycobacterium tuberculosis in health-care facilities. CDC, Atlanta, 1994.

Dirección electrónica: <http://www.cdc.gov/od/ohs/tb/tbdoc2.htm>

Seguridad para los Laboratorios Biomédicos. Lineamientos, prevención y protección.

Castellanos C, López M-Marín LM, Rosales C, Ladrón de Guevara O, Herion P, Osorio A, Garduño Soto G. Instituto de Investigaciones Biomédicas. UNAM, 1999.