|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **MANUAL DE PROCEDIMIENTOS EN BIOSEGURIDAD** | | | PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN: GENERAL | |
| **UIEEN-BIO-01** |  |
| Escrito por:  Dr. Oscar Medina Contreras | Revisado por:  Dr. Oscar Medina Contreras | Aprobado por:  Dra. Jenny Vilchis Gil | En vigor:  Octubre 2022 | Sustituye a:  Febrero 2020 |

Contenido

[1. INTRODUCCIÓN 5](#_Toc13757511)

[2. ANTECEDENTES 6](#_Toc13757512)

[3. OBJETIVOS GENERALES 7](#_Toc13757513)

[*4.* RIESGO BIOLÓGICO, GRUPO DE RIESGO 2 (GR2) 8](#_Toc13757514)

[**NIVEL DE BIOSEGURIDAD (BSL) Y BIOCONTENCIÓN** 8](#_Toc13757515)

[**Laboratorio Básico BSL-2** 8](#_Toc13757516)

[**REQUERIMIENTOS DEL LABORATORIO BSL-2** 8](#_Toc13757517)

[**MEDIDAS DE CONTENCIÓN PARA EL NIVEL DE BIOSEGURIDAD 2** 9](#_Toc13757518)

[**INSTALACIONES E INGENIERÍA EN BSL-2** 10](#_Toc13757519)

[**EQUIPO ESPECIAL PARA CONFINAMIENTO EN BSL-2** 11](#_Toc13757520)

[**USO DE EQUIPO DE PROTECCIÓN PERSONAL (EPP) EN BSL-2** 11](#_Toc13757521)

[**PROCEDIMIENTOS ADMINISTRATIVOS, PEO Y BUENAS PRÁCTICAS DEL LABORATORIO EN BSL-2** 12](#_Toc13757522)

[**PROCEDIMIENTOS ESPECÍFICOS BSL2** 12](#_Toc13757523)

[6. REGLAMENTO Y PROTOCOLOS, PEO EN BSL2 DE LA BIOSEGURIDAD Y LA CONTENCIÓN 14](#_Toc13757524)

[7. CONTENCIÓN PRIMARIA 15](#_Toc13757525)

[**EQUIPO DE PROTECCIÓN PERSONAL (EPP)** 15](#_Toc13757526)

[**GABINETES DE BIOSEGURIDAD (GSB)** 16](#_Toc13757527)

[**USO DE GSB** 16](#_Toc13757528)

[**CARACTERÍSTICAS DE LOS GABINETES DE SEGURIDAD BIOLÓGICA** 17](#_Toc13757529)

[**GABINETES DE SEGURIDAD BIOLÓGICA PARA LA UIEEN**  19](#_Toc13757530)

[**Gabinetes de clase ll** 19](#_Toc13757531)

[**COLOCACIÓN DEL MATERIAL** 20](#_Toc13757532)

[**OPERACIÓN Y MANTENIMIENTO** 21](#_Toc13757533)

[**Luz ultravioleta** 21](#_Toc13757534)

[**Mecheros** 22](#_Toc13757535)

[**Derrames** 22](#_Toc13757536)

[**Limpieza y desinfección** 22](#_Toc13757537)

[**Descontaminación** 23](#_Toc13757538)

[**Equipo de Protección Personal (EPP)** 23](#_Toc13757539)

[**Alarma audible** 23](#_Toc13757540)

[8. EQUIPOS. DISPOSITIVOS Y PRÁCTICAS QUE PRODUCEN Y LIBERAN AEROSOLES 24](#_Toc13757541)

[**USO DE LAS CENTRÍFUGAS** 24](#_Toc13757542)

[**USO DE HOMOGENEIZADORES, AGITADORES, MEZCLADORES Y DESINTEGRADORES ULTRASÓNICOS** 26](#_Toc13757543)

[**USO DE TRITURADORES DE TEJIDOS** 27](#_Toc13757544)

[9. CAPACITACIÓN DEL PERSONAL PARA LA REDUCCIÓN DEL RIESGO 27](#_Toc13757545)

[10. SEGURIDAD PARA EL PERSONAL QUE PRESTA SERVICIOS DE APOYO 28](#_Toc13757546)

[11. TRANSPORTE, ENVASE Y EMBALAJE DE MATERIAL BIOLÓGICO. 29](#_Toc13757547)

[**REGLAMENTACIÓN INTERNACIONAL EN MATERIA DE TRANSPORTES.** 29](#_Toc13757548)

[12. MANIPULACIÓN SEGURA DE MATERIAL BIOLÓGICO Y MUESTRAS, RECEPCIÓN, ALMACENAMIENTO Y TRASLADO DEL MATERIAL BIOLÓGICO DENTRO DE LAS INSTALACIONES DE LABORATORIOS BASICOS BSL-1 y BSL-2. 29](#_Toc13757549)

[**MANIPULACIÓN SEGURA DE MATERIAL Y MUESTRAS.** 29](#_Toc13757550)

[**Manipulación segura de muestras de laboratorio:** 30](#_Toc13757551)

[**Recipientes para contención de muestras biológicas:** 30](#_Toc13757552)

[**Traslado de muestras dentro de la instalación:** 30](#_Toc13757553)

[**Recepción de muestras** 30](#_Toc13757554)

[**Apertura de los envases/embalaje:** 30](#_Toc13757555)

[**USO DE PIPETAS Y DISPOSITIVOS AUTOMÁTICOS DE PIPETEO:** 31](#_Toc13757556)

[**TÉCNICAS PARA EVITAR LA DISPERSIÓN DE MATERIAL INFECCIOSO:** 32](#_Toc13757557)

[**Asas microbiológicas:** 32](#_Toc13757558)

[**ALMACENAMIENTO DE MATERIAL BIOLÓGICO Y MUESTRAS EN REFRIGERADORES Y CONGELADORES.** 32](#_Toc13757559)

[**TÉCNICAS PARA APERTURA DE AMPOLLETAS QUE CONTENGAN MATERIAL INFECCIOSO LIOFILIZADO:** 33](#_Toc13757560)

[**ALMACENAMIENTO DE AMPOLLETAS QUE CONTENGAN MATERIAL INFECCIOSO** 34](#_Toc13757561)

[**PRECAUCIONES NORMALIZADAS EN RELACIÓN CON LA SANGRE Y OTROS LÍQUIDOS CORPORALES, TEJIDOS Y EXCRECIONES.** 34](#_Toc13757562)

[**Apertura de muestras y muestreo del contenido:** 35](#_Toc13757563)

[**Vidrio y objetos punzocortantes y cortantes.** 35](#_Toc13757564)

[**Extensiones y frotis para el microscopio:** 35](#_Toc13757565)

[**Tejidos:** 35](#_Toc13757566)

[**Descontaminación:** 36](#_Toc13757567)

[13. USO DE ANIMALES EN EL LABORATORIO DE BIOSEGURIDAD. 36](#_Toc13757568)

[**NIVEL DE BIOSEGURIDAD 1 PARA ANIMALES ABSL-1 (DEL INGLÉS ANIMAL BIOSAFE AND LEVEL).** 36](#_Toc13757569)

[**NIVEL DE BIOSEGURIDAD ABSL-2 PARA ANIMALES.** 36](#_Toc13757570)

[**EL NIVEL DE BIOSEGURIDAD ABSL-3 PARA ANIMALES.** 38](#_Toc13757571)

[14. CONTINGENCIA BIOLÓGICA, INCIDENTES, ACCIDENTES, SALPICADURAS Y DERRAME, ACCIONES CORRECTIVAS, MITIGACIÓN, DESCONTAMINACIÓN Y PLAN DE EMERGENCIA 40](#_Toc13757572)

[**DESINFECCIÓN** 41](#_Toc13757573)

[15. LIMPIEZA DEL MATERIAL DE LABORATORIO. 42](#_Toc13757574)

[**ALGUNOS GERMINICIDAS QUÍMICOS** 43](#_Toc13757575)

[**Descontaminación de espacios y superficies** 50](#_Toc13757576)

[**Descontaminación de gabinetes de seguridad biológica:** 51](#_Toc13757577)

[**Lavado y descontaminación de las manos:** 51](#_Toc13757578)

[16. BARRERAS SECUNDARIAS 52](#_Toc13757579)

[**AUTOCLAVES** 52](#_Toc13757580)

[**Desinfección y esterilización por calor:** 52](#_Toc13757581)

[**Tratamiento en autoclave:** 53](#_Toc13757582)

[**Carga de autoclave:** 53](#_Toc13757583)

[**Precauciones del uso de la autoclave:** 53](#_Toc13757584)

[17. HOJAS TÉCNICAS DE REACTIVOS QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS PELIGROSOS. 54](#_Toc13757585)

# INTRODUCCIÓN

El ¨**Manual de Procedimientos en Bioseguridad¨**, es un documento normativo que establece reglas y estándares de bioseguridad que permiten el manejo adecuado y la reducción de riesgo biológico por exposición no intencional con material infeccioso, a niveles aceptables y debe ser del conocimiento de todo el personal que labora en la Unidad de Investigación Epidemiológica en Endocrinología y Nutrición.

En el ¨**Manual de Procedimientos en 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 este fin, así como procedimientos administrativos entre otros aspectos. Así también se incluyó la descripción de: 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), los procedimientos estándares de operación (PEO), los procedimientos administrativos (PA) y las instalaciones (INS) del local.

# 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 microorganismo y la salvaguarda 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), 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 en Bioseguridad¨, establece los lineamientos para cumplir con los siguientes objetivos:

* Entrenar al personal y estudiantes para el manejo del material biológico y su control médico.
* Proporcionar seguridad al personal para evitar la exposición a agentes biológicos utilizando el EPP.
* Actuar con 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.
* Conocer las responsabilidades y obligaciones del grupo administrativo y las obligaciones de las personas que trabajan con agentes biológicos
* Implantar las medidas y controles administrativos, para la restricción de entrada y tránsito de las personas y la bio-custodia, estableciendo los niveles de salvaguardia de los agentes biológicos para reducir el riesgo de pérdida, robo, uso incorrecto, desviaciones o liberación intencional de patógenos o toxinas.
* Conocer las acciones preventivas, los planes de contingencia y descontaminación y la respuesta a emergencias en caso de incidentes o accidentes.
* Establecer los protocolos y PEO (procedimientos estándar de operación).
* Establecer el uso y mantenimiento de instalaciones y equipo y los requerimientos en infraestructura e ingeniería.
* Reglamentar la recepción, manipulación, almacenamiento y transporte de los agentes biológicos.
* Establecer el plan de manejo y la disposición de los RPBI (Residuos Peligrosos Biológico-Infecciosos).

# RIESGO BIOLÓGICO, GRUPO DE RIESGO 2 (GR2)

La Unidad de Investigación Epidemiológica en Endocrinología y Nutrición (UIEEN) está ubicado en el Grupo de Riesgo 2 ya que en ella se manejan microorganismos (*E. Coli* y *H. Pylori*) 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.

## **NIVEL DE BIOSEGURIDAD (BSL) Y BIOCONTENCIÓN**

### **Laboratorio Básico BSL-2**

El nivel de bioseguridad de la UIEEN es 2 ya que se trabaja con agentes que representan un riesgo moderado para el trabajador (la enfermedad resulta de auto inoculaciones, ingestiones o exposiciones de membranas mucosas o bien debido a inmunosupresión). Su diseminación en el medio ambiente es poco probable y existe tratamiento o medidas preventivas contra la infección generada.

## **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, deben tomarse precauciones extremas con objetos punzocortante contaminados, así como con los procedimientos en los cuales se pueda crear aerosoles infecciosos o salpicaduras, los cuales deberán ser realizados en un gabinete de seguridad biológica (GSB) 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 el personal experimentado, con entrenamiento específico en el área.

## **MEDIDAS DE CONTENCIÓN PARA EL NIVEL DE BIOSEGURIDAD 2**

|  |  |
| --- | --- |
|  | NIVEL DE BIOSEGURIDAD |
| MEDIDAS DE CONTENCIÓN | 2 |
| Aislamiento del laboratorio | No |
| Ventilación:  -Flujo de aire hacia el interior  -Sistema de ventilación controlada  -Salida de aire con HEPA | Conveniente  Conveniente  No |
| Solamente se permitirá el acceso al personal designado. | Aconsejable |
| El lugar de trabajo deberá poder cerrarse herméticamente para permitir su desinfección. | No |
| Procedimientos de desinfección específicos. | Si |
| El lugar de trabajo se mantendrá con una presión negativa respecto a la presión atmosférica. | No |
| Tratamiento de efluentes. | No |
| Superficies impermeables al agua y de fácil limpieza | Sí, para banco de pruebas y mesa de trabajo. |
| Autoclave:  -En el local  -En la sala de trabajo  -De doble puerta | Conveniente  No  No |
| Almacenamiento de seguridad para agentes biológicos | Si |
| Ventanilla de observación | Aconsejable |
| Laboratorio con equipo propio | No |
| El material infectado, animales incluidos, deberá manejarse en un gabinete de seguridad biológica o es un aislador u otra contención apropiada | Cuando proceda |
| Incineración de animales muertos | Aconsejable |

## **INSTALACIONES E INGENIERÍA EN BSL-2**

El laboratorio cuenta con un lavamanos, puerta con vidrio, cerradura y símbolo y signo internacional de PRECAUCION RIESGO BIOLÓGICO (para GR2 o superior).

El laboratorio está diseñado para que pueda limpiarse con facilidad.

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

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

El laboratorio tiene ventanas (no recomendado), se recomienda no abrir y solicitar que estas se cubran con mosquiteros.

Debe contarse con un método para la descontaminación de desechos cerca del laboratorio (como autoclaves o incinerador). Actualmente no contamos con ello, se verá la forma de adquirirlo, todos los desechos se inactivan y se depositan en los contenedores rojos.

## **EQUIPO ESPECIAL PARA CONFINAMIENTO EN BSL-2**

Gabinete de seguridad biológica (GSB), de preferencia de tipo II, todo procedimiento potencial para crear aerosoles debe ser ejecutado dentro de GSB. Considerar que 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 infecciosos a partir de animales y extracción de huevecillos parásitos.

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 centrifugación con tapón de rosca, mismos que serán abiertos únicamente dentro del gabinete de seguridad.

## **USO DE EQUIPO DE PROTECCIÓN PERSONAL (EPP) EN BSL-2**

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

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

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

## **PROCEDIMIENTOS ADMINISTRATIVOS, PEO Y BUENAS PRÁCTICAS DEL LABORATORIO EN BSL-2**

* 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 manejar 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 ser almacenados en lugares o refrigeradores solo 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 los medios de cultivo, entre otras prácticas.
* Las áreas de trabajo deber 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.

## **PROCEDIMIENTOS ESPECÍFICOS BSL2**

* El jefe del 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 una infección o que está 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 relacionadas con el trabajo dentro del laboratorio.
* El uso de guantes es recomendable para evitar contaminación en la piel con material biológico viable.
* EI uso de agujas hipodérmicas y jeringas está restringido solo para aquellas operaciones donde no existan otras alternativas (inyección y aspiración de fluidos de animales de laboratorio); todas las jeringas y agujas deben ser descartadas de inmediatos dentro de recipientes de plástico, esterilizadas y nunca deberá reutilizarse una misma jeringa con otra aguja.
* Pueden utilizarse asas de siembra de plástico desechables, también incineradores eléctricos de asas dentro del GBS para reducir la formación de aerosoles; frascos y tubos con tapón de roscas. Son recomendables las pipetas Pasteur de plástico, desechables, en sustitución de las de vidrio.
* Cuando ocurra la contaminación de algún material o equipo de laboratorio, éste deber 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 llevarse 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.

# 6. REGLAMENTO Y PROTOCOLOS, PEO EN BSL2 DE LA BIOSEGURIDAD Y LA CONTENCION

Se fundamente en varios elementos:

* Las técnicas de laboratorio.
* El equipo de protección y de seguridad (barreras primarias).
* El diseño de las instalaciones interna, ingeniería (barreras secundarias) o el diseño estructural del edificio especializado (barrera terciaria).
* Aspectos administrativos.
* Practicas estándares de operación (PEO).

Las barreras primarias son la primera línea de defensa cuando se manipulan agentes biológicos. EI ejemplo más claro de contención primaria lo constituyen el EPP y el GSB. En la mayoría de las ocasiones se practica la combinación de ambos tipos de medida, tal como puede ser el ejemplo de Ia GBS junto con guantes y mascarilla. Todo ello sin olvidar que la máxima contención del riesgo biológico solo se da cuando, además, se emplean las técnicas de trabajo correctas PEO, unida 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 agentes infecciosos 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 localiza fuera del laboratorio frente a posibles escapes accidentales o no intencionales de agentes biológicos.

# 7. CONTENCION PRIMARIA

## **EQUIPO DE PROTECCION PERSONAL (EPP)**

A continuación, se enlista el equipo de protección personal necesario:

BATAS, PROTECCION DE ROPA Y TRAJES COMPLETOS

BOTAS, CUBREZAPATOS

PROTECCION RESPIRATORIA

CUBREBOCAS Y MÁSCARAS QUIRURGÍCAS (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 AL CABELLO).

PROTECCION FACIAL

LENTES DE SEGURIDAD

GOGGLES

CARETAS

## **GABINETES DE BIOSEGURIDAD (GSB)**

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

### **Uso de GSB**

* El GSB protege al personal, al material biológico y al ambiente si funciona apropiadamente.
* No debe utilizarse un GSB que no funciona correctamente.
* La ventana de vidrio transparente no debe abrirse mientras se está utilizando el GSB.
* Los aparatos y materiales introducidos en el Gabinete deben de 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 perturbara el flujo de aire y puede dañar los filtros. Puede permitirse el uso de mecheros especiales para GSB con piloto y flama baja; también se recomienda el uso de un micro incinerador, 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 los GSB. 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 del GSB 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 funcionado al menos durante 5 minutos después de concluido el trabajo.
* Considerar el GSB más apropiado si van a utilizarse agentes químicos, radioactivos o exclusivamente material biológico.

## **CARACTERÍSTICAS DE LOS GABINETES 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.

Un GSB 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 uno de estos gabinetes.

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

Los gabinetes de seguridad biológica (GSB) 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 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 del gabinete y contaminar así al operario y a la zona que le rodea. Además, algunos de ellos, ofrecen protección al material que se manipula.

La capacidad de los gabinetes de seguridad para proteger al personal y el ambiente de una exposición potencialmente peligrosa, especialmente por aerosoles, depende principalmente del apropiado funcionamiento del gabinete. Ningún gabinete debe ser utilizado en el manejo de microorganismos peligrosos, a menos que se demuestre por exámenes apropiados, que el mismo cumple con las mínimas especificaciones de seguridad.

Cuando un GBS es utilizado por personal debidamente formado y consciente de las limitaciones de éste, 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 un gabinete no es nunca un sustituto de una técnica microbiológica adecuada.

Los GSB disponen de dos sistemas que impiden la salida de contaminación: las barreras de aire y los filtros HEPA. 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 ingles 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 retienen partículas con una eficacia del 99.97% y hasta 0.3 micras de diámetros o más.

## **GABINETES DE SEGURIDAD BIOLÓGICA PARA EL UIEEN**

### **Gabinetes de clase ll**

Se diferencian principalmente de los de clase l 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 lI 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 o 3. Existen varios tipos de gabinetes de clase II, A, BI, BZ y BB, según sus características de construcción, flujo de aire y sistema de extracción.

Una primera diferencia entre tipo A y tipo B es que los 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 ellos, con un extractor y un sistema de alarma apropiado. Los IIA y los IIB3 mantienen una velocidad de 0,40-0,50 m/s (75-100 p/m) y en ambos también se circula un 70% de aire. Cuando los IIBB se conectan al exterior mediante conducto hermético pueden emplearse para manipulaciones que impliquen productos tóxicos radioactivos.

Los restantes gabinetes del tipo B, es decir ll B1 y II BZ, 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 los de clase II tipo B1 y del 0% en los de tipo BZ. Tanto unos como otros son adecuadas para el trabajo con concentraciones pequeñas de agentes químicos (tóxicos) y material radioactivo.

## **COLOCACIÓN DEL MATERIAL**

* La rejilla frontal de entrada de las GSB 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 recolección de material biológico peligroso para la autoclave y la bandeja de recolección de pipetas no deben colocarse fuera de la cámara.
* Deben evitarse los movimientos frecuentes de entrada y salida para utilizar estos recipientes ya que perturban la barrera de aire de la cámara y puede exponer al personal y al material.

## **OPERACIÓN Y MANTENIMIENTO**

La mayoría de los GSB están diseñadas para funcionar 24 horas al día; el funcionamiento continuo ayuda a controlar los niveles de polvo y de partículas en el laboratorio. Los GSB de clase llA1 y IIA2 que evacuan el aire a la sala o que están conectadas por acopladores de tipo dedal a conductores de extracción propios, puedan apagarse cuando no estén en uso. Otros tipos, como las de la clase Il81 y IIBZ, 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 en 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 un GSB debe realizarlas personal técnico calificado; cualquier fallo en el funcionamiento del GSB debe comunicarse para someterla a reparación antes de nuevo.

### **Luz ultravioleta**

Los GSB que vienen equipadas con lámparas de luz ultravioleta. Éstas deben limpiarse para remover el polvo una vez a la semana. La suciedad pueda 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 la emisión de luz apropiada. La lámpara de luz ultravioleta debe apagarse cuándo 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 del GSB. La llama abierta de un mechero altera los flujos de corrientes de aire y puede 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 un GSB debe procederse de inmediato a su limpieza y desinfección, mientras el GSB 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 con autoclave.

Certificación. El funcionamiento y la integridad del GSB deben ser evaluados 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 la certificación las realice personal calificado.

### **Limpieza y desinfección**

Todos los artículos que entren en un GSB, incluido el material de laboratorio, deben tener su superficie descontaminada y extraerlos del GSB. Una vez terminado el trabajo las superficies internas del GSB 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 apropiadamente a los agentes biológicos. La descontaminación final de las superficies debe incluir la limpieza de la superficie de trabajo las 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, esto cada vez que se utilice un desinfectante corrosivo. Se recomienda dejar el GSB en funcionamiento 5 minutos antes de apagarlo.

### **Descontaminación**

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

### **Equipo de Protección Personal (EPP)**

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

### **Alarma audible**

Los GSB pueden estar equipados con dispositivos sonoros o alarma. La alarma de abertura solo se encuentra 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 señala perturbaciones de las características normales de flujo de aire en la cámara que representan un riesgo de turbulencia y peligro de exposición inmediato para el trabajador o el producto.

Cuando esta alarma suena, 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 del GSB debe incluir este aspecto.

# 8. EQUIPOS. DISPOSITIVOS Y PRÁCTICAS QUE PRODUCEN Y LIBERAN AEROSOLES

Los aerosoles microbianos son suspensiones de partículas en el aire, constituidas completa o parcialmente de microorganismos. Estas pueden permanecer suspendidas en el aire por un periodo de tiempo largo y mantener o perder durante ese tiempo su infectividad o virulencia. Esto tiene especial importancia y debe manejarse cuidadosamente ya que las partículas de 1 a 5 mm son retenidas fácilmente en los alveolos pulmonares.

## **USO DE LAS CENTRÍFUGAS**

El funcionamiento mecánico satisfactorio es un requisito de la seguridad microbiológica del empleo de centrifugas en el laboratorio. Las centrifugas se utilizan según las instrucciones del fabricante; están colocadas a una altura tal que los usuarios puedan ver la cubeta para colocar correctamente los soportes y los cestos.

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

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

Las canastillas deben de cargarse, equilibrarse en balanza, cerrarse y abrirse en un GSB. Las canastillas y los soportes se deben de 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 de ser especificado en las instrucciones del fabricante.

Para equilibrar las canastillas vacías se empleará agua destilada, no usar otras soluciones que corroen los metales.

Para los microorganismos de los GR3 y GR4 se utilizaron canastillas de centrífugas de cierre hermético (canastillas de seguridad).

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

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

Los rotores y las canastillas de las centrífugas deben de observarse diariamente para detectar signo de corrosión y grietas.

Las canastillas, rotores y cubetas deben descontaminarse después de cada uso.

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

## **USO DE HOMOGENEIZADORES, AGITADORES, MEZCLADORES Y DESINTEGRADORES ULTRASÓNICOS**

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

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

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

Durante su utilización hay que cubrir 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 utilizaran dentro de un GSB.

Una vez terminada la operación, el recipiente se abrirá en una GSB.

Las personas que utilicen desintegradores ultrasónicos deben de 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 de usarse y abrirse n un GBS.

Equipo automático (desintegradores ultrasónicos, mezcladores vorticiales):

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

Los efluentes se recogerán en recipientes cerrados y se trataran en la autoclave o se eliminaran apropiadamente.

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

# 9. CAPACITACIÓN DEL PERSONAL PARA 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 del laboratorio. Por ello, el elemento clave para prevenir las infecciones adquiridas, los incidentes y accidentes en el laboratorio, es la actitud responsable del personal preocupado por la bioseguridad y bien informado sobre las medidas y prácticas prudentes que eviten o reduzcan al mínimo los accidentes para desempeñar el trabajo en un ambiente laboral seguro. En consecuencia, la información 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 en el entrenamiento en el uso de EPP, la utilización apropiada del equipo especial de confinamiento, desinfección, descontaminación y los 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 del 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 jeringas 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.

# 10. 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 laboratorio; este personal, dedicado al mantenimiento y reparación de la estructura, las instalaciones y el equipo, debe tener los conocimientos 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, con la aprobación y supervisión del personal encargado de la bioseguridad y el responsable del laboratorio.

# 11. 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 material 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 materiales peligrosos. Esas recomendaciones de las Naciones Unidas han sido elaboradas por el Comité de Expertos de las Naciones Unidas en Trasporte de Mercancías Peligrosas; las instrucciones Técnicas para el transporte sin riesgos de mercancías peligrosas por la 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.

# 12. MANIPULACIÓN SEGURA DE MATERIAL BIOLÓGICO Y MUESTRAS, RECEPCIÓN, ALMACENAMIENTO Y TRASLADO DEL MATERIAL BIOLÓGICO DENTRO DE LAS INSTALACIONES DE LABORATORIOS BASICOS BSL-1 y BSL-2.

## **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 destinados a evitar o reducir al mínimo los accidentes más comunes provocados por estos factores.

### **Manipulación segura de muestras de 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 de ser resistentes a la acción de los desinfectantes químicos periódicamente.

### **Recepción de muestras**

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

### **Apertura de los envases/embalaje:**

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 apropiados para el 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 de vidrio contaminadas deben sumergirse completamente en un desinfectante apropiado, de acuerdo con el agente que se manipula; permaneciendo sumergidas en un recipiente irrompible durante el tiempo que sea 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 diafragma, que permiten usar pipetas y evitar usar agujas hipodérmicas.

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

## **TÉCNICAS PARA EVITAR LA DISPERSIÓN DE MATERIAL INFECCIOSO:**

### **Asas microbiológicas:**

Para evitar que el material caiga del asa, esta debe tener un diámetro de 2-3 mm y terminar en un anillo completamente cerrado. Los mangos no deben tener más de 6 cm 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 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 descontaminan con un desinfectante apropiado después de un período de trabajo.

## **ALMACENAMIENTO DE MATERIAL BIOLÓGICO Y MUESTRAS EN REFRIGERADORES Y CONGELADORES.**

Los equipos de congelación y sus recipientes deben descongelarse, limpiarse y desinfectarse periódicamente. Se eliminarán tubos, ampollas y otros objetos que ya no se van a utilizar en experimentación, tratándolos en autoclave y posteriormente desechándolos apropiadamente. Durante la limpieza debe utilizarse EPP tal como: 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 lo almacenó. Los materiales sin etiquetas deben tratarse en autoclave y desecharse.

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

## **TÉCNICAS PARA APERTURA DE AMPOLLETAS QUE CONTENGAN MATERIAL INFECCIOSO LIOFILIZADO:**

Conviene abrir con precaución las ampolletas de material liofilizado, ya que, al estar cerradas a presión reducida, la entrada brusca de aire puede dispersar el contenido en el ambiente. Las ampolletas deben abrirse dentro de un GSB y para ello se recomienda el siguiente procedimiento:

. Descontaminar la superficie externa de la ampolleta.

. Limar ligeramente el cuello del tubo, cerca de la mitad del tapón de algodón o celulosa.

. Sujetar la ampolleta con 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 ampolleta retirarlo con una pinza estéril.

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

## **ALMACENAMIENTO DE AMPOLLETAS QUE CONTENGAN MATERIAL INFECCIOSO**

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

Si se necesitan temperaturas muy bajas, las ampolletas deben almacenarse en ultracongeladores. Al retirar las ampolletas de almacenamiento en frío, el personal deberé llevar EPP para cubrir los ojos y las manos. Las ampolletas conservadas por estos procedimientos, se descontaminarán por fuera siempre que se saquen del lugar del 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 reconocida como no reconocida.

Siempre se seguirán las precauciones normalizadas y se usará EPP así 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 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 muestras y muestreo del contenido:**

Los tubos de muestra deben abrirse en un GSB; debe utilizarse EPP, también se recomienda proteger los ojos y las mucosas (gafas de seguridad tipo mascara o viseras) y prendas para protección de ropa.

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

### **Vidrio y objetos punzocortantes y cortantes.**

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

### **Extensiones y frotis para el microscopio:**

La fijación y tinción de muestras de sangre, esputo y heces, para el microscopio, no inactivan a todos los microorganismos o virus de las extensiones; éstas deben manipularse con guantes o con pinzas, almacenarse cuidadosamente y descontaminarse 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 5 g/L para limpiar derrames de sangre. Para desinfección de superficies puede utilizarse glutaraldehído.

# 13. USO DE ANIMALES EN EL LABORATORIO DE BIOSEGURIDAD.

Al igual que los laboratorios, los Bioterios pueden clasificarse en cuatro niveles de bioseguridad, con base 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 BIOSAFE AND LEVEL).**

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

El responsable del Bioterio, así como la comisión de Bioterio deberán determinar las políticas, procedimientos y protocolos para las operaciones, así como para el acceso mismo. Se debe instituir un programa apropiado de vigilancia médica para el personal y se debe contar con un Manual de Seguridad de las Operaciones.

## **NIVEL DE BIOSEGURIDAD ABSL-2 PARA ANIMALES.**

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

1. Se cumplirá todos los requisitos de los Bioterios de nivel ABSL1.

2. Se colocarán señales de advertencia de 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 deberán cerrarse hacia adentro y cerrarse y solas.

5. La calefacción, la ventilación y la iluminación deben ser apropiadas.

6. Si instala ventilación mecánica, el flujo de aire debe dirigirse hacia adentro. 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, estas, 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 GSB (clases I o 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 de Bioterio.

14. El material de los lechos y serrines de las jaulas de los animales se eliminará de modo que reduzca al mínimo la producción y liberación de aerosoles y polvos.

15. Todos los materiales 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. Estos se recogerán siempre en recipientes resistentes, indicados con el símbolo de residuo peligroso biológico-infecciosos 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 riesgos en recipientes apropiadamente cerrados.

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

19. Los cadáveres de los animales serán incinerados.

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

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

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 incluidos con agentes incluidos en el grupo de riesgo 3, o cuando así lo indique la evaluación de riesgo.

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

1. Debe cumplirse con todos los requisitos correspondientes a Bioterio BSL 1 BSL2.

2. Se colocarán señales de advertencia de 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 deberán cerrarse hacia adentro y cerrarse y solas.

5. La calefacción, la ventilación y la iluminación deben ser apropiadas.

6. Si instala ventilación mecánica, el flujo de aire debe dirigirse hacia adentro. 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, estas, 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 GSB (clases I o 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 de Bioterio.

14. El material de los lechos y serrines de las jaulas de los animales se eliminará de modo que reduzca al mínimo la producción y liberación de aerosoles y polvos.

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. Estos se recogerán siempre en recipientes resistentes, indicados con el símbolo de residuo peligroso biológico-infecciosos 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 riesgos en recipientes apropiadamente cerrados.

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

19. Los cadáveres de los animales serán incinerados.

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

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

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.

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

EN GBS

EN INCUBADORAS

EN CENTRIFUGAS

EN PISOS Y MESAS DE TRABAJO DEL LABORATORIO

FORMATO PARA REPORTAR PROBLEMAS E INCIDENTES

## **DESINFECCIÓN**

LIMPIEZA NIVELES DE DESINFECCIÓN Y ESTERILIZACIÓN

ANTISÉPTICOS, FUMIGACIONES, DESINFECTANTES Y ESTERILIZANTES

EFICACIA DE LA INFECCIÓN

Para la bioseguridad en el laboratorio es fundamental el conocimiento básico sobre la desinfección y esterilización. Los objetos antes de someterse a dichos procesos deben limpiarse ya que 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 y 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 la esterilización en bioseguridad, es importante definir los siguientes términos:

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

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

Los **biocidas** son agentes que matan microorganismos; suele utilizarse este término para referirse a eliminación, neutralización y remoción de agentes químicos o reactivos del sitio contaminado.

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

Los **desinfectantes** son sustancias o mezclas de sustancias químicas utilizadas para matar microorganismos, pero no necesariamente esporas. Los desinfectantes suelen aplicarse a superficies, suelos y materiales inertes.

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

La **esterilización** es el proceso por el cual se mata o elimina toda clase de microorganismos y esporas.

Los **germinicidas químicos** son sustancias o mezclas de sustancias químicas que matan microorganismos.

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

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

# 15. LIMPIEZA DEL MATERIAL DE LABORATORIO.

La limpieza constante en la eliminación de suciedad, materia orgánica, manchas o material extraño de un instrumento, mediante aspiración, el desempolvado en seco, el lavado o fregado con un paño y agua con jabón o detergente. La suciedad, la tierra y la materia orgánica puede contener microorganismos e interferir con la acción de los descontaminantes (antisépticos, germinicidas químicos y desinfectantes). La limpieza previa es fundamental para conseguir una correcta desinfección o esterilización. Muchos productos germinicidas sólo son activos en 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 germinicidas que vayan a utilizarse después. Es muy frecuente utilizar el mismo germinicida para la limpieza y la desinfección posterior.

## **ALGUNOS GERMINICIDAS QUÍMICOS**

La actividad germinicida de muchas sustancias químicas es más rápida y eficaz a temperaturas más altas, pero a temperaturas elevadas también puede favorecer su evaporación y degradarlas.

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

**Cloro (hipoclorito de sodio):**

El cloro, oxidante de acción rápida, es un germinicida químico de uso muy extendido y amplio espectro; una solución acuosa de hipoclorito de sodio (NaClO) 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 materiales. Sin embargo, cuando se acidifica libera cloro, motivo por el cual no debe conservarse junto 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 del contenido intracelular, decremento de nutrientes e inhibición de la síntesis de proteínas.

Las soluciones de hipoclorito de sodio (como lejía de uso doméstico) contienen 50g/L de cloro libre y por tanto debe diluirse a 1:50 o 1:10 para obtener concentraciones finales de 1g/L o 5g/L, respectivamente. Las soluciones industriales de lejía tienen una concentración de NaCLO cercana a los 120g/L y deben diluirse para obtener las concentraciones indicadas.

Los gránulos o comprimidos de hipoclorito cálcico (Ca(ClO)2) suelen contener alrededor de un 70% de cloro libre. Las soluciones preparadas con gránulos o comprimidos, que contienen 1.4g/L y 7.0g/L, contendrán entonces 1.0g/L y 5.0g/L de cloro libre, respectivamente.

**Cloramidas:**

Las cloramidas existen en forma de polvo que contienen aproximadamente 25% de cloro libre. Al liberar el cloro a menor velocidad que los hipocloritos, se requieren concentraciones iniciales mayores para obtener una eficiencia equivalente a la del cloro.

Las soluciones de cloramida no son inactivadas por la materia orgánica con la misma intensidad que los hipocloritos y se recomienda una concentración de 20g/L para situaciones de limpieza y suciedad. Las soluciones de cloramida son prácticamente inodoras. No obstante, los objetos sumergidos en ellas deben enjuagarse exhaustivamente para eliminar todo residuo de los agentes inertes que se añaden a los polvos de cloramida T (tosilcloramida sódica).

**Dióxido de cloro**

El dióxido de cloro (ClO2) es un germinicida, desinfectante y oxidante potente, de acción rápida que a menudo tiene actividad a concentraciones inferiores a la del cloro procedente de la lejía. La forma gaseosa es inestable y se descompone en cloro gaseoso (Cl2) y oxígeno gaseoso (O2), 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 a todos los microorganismos y esporas a temperaturas superiores a los 20oC; no tienen actividad contra los priones. Su acción es relativamente lenta y requiere una humedad relativa alrededor del 70%. Se comercializa en forma de polímero sólido (paraformaldehído), en copos o comprimidos, o bien como formol, solución del gas en agua con aproximadamente 370g/L (37%) y con metanol (100mL/L) como estabilizante. Ambas formulaciones se calientan para liberar el gas, que se utiliza en la descontaminación y en la desinfección de espacios cerrados como GBS y locales.

El formaldehído (con 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. Debe almacenarse y utilizarse con una campana extractora de vapores o en zonas bien ventiladas. Debe observarse las hojas de seguridad para cada uno de estos agentes químicos.

**Glutaraldehído:**

El glutaraldehído (OHC-(CH2)3OH) actúa por alquilación y entrecruzamiento de proteínas y al igual que el formaldehído, tiene actividad contra las formas vegetativas de bacterias hongos y virus con y sin envoltura lipídica. No es corrosivo y su acción es más rápida que el formaldehído. No obstante, tarda varias horas en matar las esporas bacterianas.

El glutaraldehído suele suministrarse en forma de solución con una concentración de 20g/L (2%); algunos productos antes de ser utilizados necesitan ser activados (alcalinizados) mediante la acción 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, el tiempo 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 se encuentran turbias. El glutaraldehído es tóxico e irritable para la piel y 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 espec

**Compuestos fenólicos**

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

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

**Compuesto de amonio cuaternario**

Muchos tipos de compuestos de amonio cuaternario se utilizan como mezclas, y a menudo en combinación con otros germinicidas, 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 germinicida de ciertos tipos de compuestos de amonio cuaternario se reduce considerablemente con la materia orgánica, las aguas duras y los detergentes aniónicos. Es necesario tener cuidado en la selección de los agentes empleados en la limpieza previa, cuando se va a utilizar un compuesto de amonio cuaternario para desinfección. En las soluciones de estos compuestos, pueden proliferar bacterias potencialmente nocivas, Gramnegativas. Debido a su baja biodegradabilidad, estos compuestos también pueden acumularse en el medio ambiente.

**Alcoholes**

El etanol o alcohol etílico (C2H5OH) y el 2-propanol o alcohol isopropílico ((CH3)2CHOH) tienen propiedades desinfectantes similares. Son activos contra las formas vegetativas de las bacterias, hongos y virus con envoltura lipídica, pero no contra las esporas. Su acción sobre los virus sin envoltura lipídica es variable. Para conseguir una máxima eficacia deben utilizarse en concentraciones acuosas de aproximadamente un 70% (v/v): concentraciones más altas o más bajas pueden no tener tanto poder germinicida. Una de las grandes ventajas de las soluciones acuosas de alcoholes es que no dejan residuo alguno en los objetos tratados puesto que se evapora. Las mezclas con otros agentes son más eficaces que por sí solos; por ejemplo, el alcohol al 70% con 100g/L de formaldehído, o con 2g/L de cloro libre. Las soluciones acuosas de etanol al 70% (v/v) pueden utilizarse sobre la piel, superficies de trabajo de mesas de laboratorio y en GBS, así como sumergir pequeñas piezas de instrumental quirúrgico.

Dado que el etanol puede secar la piel, a menudo se mezcla con emolientes. Las friegas de alcohol se recomiendan para descontaminar las 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 cerca de una flama o fuente de calor. 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 almacenamiento apropiado del etanol en el laboratorio son sumamente importantes con el fin de evitar que se use para aplicaciones distintas a 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 menos susceptibles a la inhibición de 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 yodatada 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 a nivel sistemático y está contraindicado en pacientes con alteraciones en la tiroides, así como en embarazadas y neonatos.

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

**Peróxido de hidrógeno y perácidos**

Al igual que el cloro, el peróxido de hidrógeno (H2O2) y los perácidos son oxidantes enérgicos y pueden servir como potente germinicida de amplio espectro. También son más inocuos para el ser humano y el medio ambiente. El peróxido de hidrógeno se suministra en forma de solución al 3% listo para usarse o en solución acuosa al 30%. Sin embargo, esas soluciones al 3-6 % son relativamente lentas y limitadas como germinicidas. Los productos disponibles hoy en día tienen otros ingredientes para estabilizar el contenido del peróxido de hidrógeno, acelerar su acción germinicida y hacerlo menos corrosivo. El peróxido de hidrógeno puede ser utilizado para descontaminar las superficies de trabajo de laboratorio y de los GBS. Las soluciones potentes pueden servir para desinfectar el material médico/dental sensible al calor. El uso del peróxido de hidrógeno vaporizado o ácido paracético (CH3COOOH) para la descontaminación del material médico/quirúrgico sensible al calor requiere equipo especializado. El peróxido de hidrógeno y los perácidos pueden ser corrosivos para metales como el aluminio, cobre, latón y el zinc. También puede decolorar tejidos, cabello, piel y mucosas. Los objetos tratados con ellos deben enjuagarse exhaustivamente antes del contacto con los ojos y mucosas, ya que pueden ocasionar daños en las córneas. Siempre se almacenarán alejados del calor y protegidos de la luz.

### **Descontaminación de espacios y superficies**

La descontaminación del espacio, mobiliario y equipo de laboratorio requiere una combinación de desinfectantes líquidos y gaseosos. Las superficies pueden descontaminarse con una solución de hipoclorito de sodio; una solución que contenga 1g/L de cloro libre puede ser apropiado para la limpieza en general.

Las salas y equipo pueden descontaminarse por fumigación con formaldehído gaseoso, que se obtiene calentando paraformaldehído o hirviendo formol. El procedimiento es sumamente peligroso y debe ser realizado por personal altamente capacitado. Todas las aberturas del local (ventanas, puertas, entre otros), deben cerrarse con cinta adhesiva o un material análogo antes que se desprenda el gas. La fumigación puede efectuarse a temperatura ambiente de al menos 21oC, y a una humedad relativa del 70%. Tras la fumigación, la zona debe ventilarse antes de permitir la entrada al personal.

Toda persona que entre en la sala antes de la ventilación deberá llevar mascarillas respiratorias apropiadas. Para neutralizar el formaldehído puede utilizarse bicarbonato de amonio gaseoso. La fumigación de espacios reducidos con vapores de peróxido de hidrógeno también es eficaz, pero requiere de equipo especializado para generar calor.

### **Descontaminación de gabinetes de seguridad biológica:**

Para descontaminar los GBS de clase I y II se dispone de aparatos autónomos que generan, ponen en circulación y neutralizan, formaldehído gaseoso de forma independiente.

Se prepara una concentración final de 0.8% de paraformaldehído en el aire, en un recipiente sobre una parrilla eléctrica caliente. En una segunda parrilla caliente, también dentro de una cámara se coloca otro recipiente con bicarbonato amónico en una concentración 10% mayor que el paraformaldehído. Ambas placas deben estar conectadas fuera de la cámara para 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 (aislante, por ejemplo). Se enciende la placa con el recipiente de paraformaldehído y se apaga cuando se haya evaporado totalmente. La cámara se deja en reposo durante al menos 6 horas.

Posteriormente se enciende la segunda placa y se permite que el bicarbonato de amonio se evapore. En ese momento se apaga la placa y se enciende el ventilador del GBS durante dos intervalos de al menos dos segundos para que el bicarbonato amónico circule por el interior. La cámara se dejará en reposo durante a los 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 una limpieza general con un paño para eliminar 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 el lavado de manos de forma regular y apropiada. Las manos se lavan después de manipular materiales biológicos peligrosos, animales y antes de abandonar el laboratorio.

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

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

# 16. BARRERAS SECUNDARIAS

## **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 160oC o más durante dos o 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 a todos los microorganismos o patógenos, pero puede utilizarse como tratamiento mínimo de desinfección cuando no se pueda aplicar o estén disponibles otros métodos, tales como la desinfección o descontaminación química, o el tratamiento en autoclave.

### **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 de 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 134oC

10 minutos a 126oC

15 minutos a 121oC

25 minutos a 115oC

### **Carga de autoclave:**

El material y los objetos que vayan a esterilizarse deben agruparse sin apretarlos en la cámara, de modo que el vapor pueda circular sin dificultad y el aire pueda salir fácilmente. Debe permitirse que el vapor penetre en su contenido.

### **Precauciones del uso de la autoclave:**

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

El manejo y mantenimiento ordinario deben ser responsabilidad de personas capacitadas.

Se realizará un programa de mantenimiento preventivo a intervalos regulares que comprenderá la inspección de la cámara, el llenado de las puertas y la inclusión de todos los calibradores y controles por parte del personal calificado. El vapor de agua estará saturado y externo de situaciones químicas (inhibidores de la corrosión y dureza del agua) que podrían contaminar los objetos que se estén 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, para que este 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 deje descender la temperatura por debajo de los 80oC antes de abrir la puerta.

Cuando se introduzcan líquidos en la autoclave, la salida o escape del 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 para la cara al abrir la autoclave, incluso, cuando haya bajado la temperatura por debajo de los 80oC.

En la vigilancia regular del funcionamiento de la autoclave se colocarán indicadores biológicos o temporales en el centro de la 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 la autoclave no queden bloqueadas con papel u otro material presente en la carga.

# 17. HOJAS TÉCNICAS DE REACTIVOS QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS PELIGROSOS.

El laboratorio debe contar con cada una de las hojas técnicas de los reactivos químicos y biológicos que utiliza para su trabajo de investigación. En dichas hojas se indican los principales riesgos para la salud y la forma correcta de protegerse. Se anexan las hojas de seguridad en una carpeta adicional [Hojas de datos de seguridad (SDS)].

**He leido en su totalidad el manual de procedimientos en bioseguridad:**

|  |  |
| --- | --- |
| **Nombre y Firma** | **Fecha** |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |