

# **MANUAL DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO**

**DEPARTAMENTO DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA. INSTITUTO NACIONAL DE  
ENFERMEDADES RESPIRATORIAS “Dr. EMILIO CONI”**



**Participantes que contribuyeron a la elaboración del Manual:**

Dra. Kuszniez Gabriela. Dra. Susana Imaz, Dra. Chiani Yosena

*Año de Redacción y Aprobación: 2009*

*Fecha de 1<sup>a</sup> Revisión y Actualización: 2015*

*Fecha de 2<sup>da</sup>. Revisión y Actualización: Marzo 2019*

***Ningún elemento de protección es tan necesario como la información, la organización en el trabajo, la concentración, el estado de alerta y la implementación de medidas de precaución muy simples.***

***Ningún equipo, por costoso que sea, puede brindar protección cuando el personal del laboratorio no adopta y mantiene prácticas seguras***

**INDICE**

<b>Principios Generales de la Bioseguridad</b>	6
<b>1. Equipos de seguridad</b>	7
1.1 Cámaras de seguridad biológica	7
1.2 Dispositivos de pipeteo	15
1.3 Ropa y equipo de protección personal	15
1.4 Gafas de seguridad	16
1.5 Protección respiratoria	16
1.6 Guantes	17
<b>2. Código de Prácticas Generales para todos los laboratorios del Departamento Diagnóstico y Referencia</b>	18
<b>3. Recepción de muestras biológicas</b>	21
<b>4. Bioseguridad en el Laboratorio de Tuberculosis</b>	22
4.1 Organización del laboratorio	23
4.2 Diseño e Instalaciones	24
4.3 Vigilancia de la Salud	25
4.4 Precauciones específicas del trabajo en el Laboratorio de TBC	25
4.4.1 Recepción de muestras	28
4.4.2 Procesamiento de muestras mediante la técnica de baciloscopía	29
4.4.3 Procesamiento de las muestras mediante la técnica de cultivo	31
4.4.4 Procesamiento de pruebas de sensibilidad	34
4.4.5 Procesamiento de Pruebas de identificación	35
4.5 Manipulación y uso de desinfectantes	35
4.6 Manipulación de otras sustancias químicas	36
4.7 Contingencia ante Accidentes y Derrames Biológicos	36
<b>5. Bioseguridad en el Laboratorio de Leptospirosis</b>	38
5.1 Riesgos de laboratorio	39
5.2 Instalaciones y diseño del Laboratorio	39
5.2.1 Características del diseño del Laboratorio	39
5.2.2 Organización del Laboratorio	39
5.3 Elementos de protección personal	40
5.4 Equipos de seguridad	41
5.5 Prácticas apropiadas de laboratorio	41
5.6 Gestión de la Bioseguridad	43
5.7 Vigilancia de la Salud	43
<b>6. Bioseguridad en el Laboratorio de Agentes Respiratorios</b>	44
6.1 Organización del laboratorio	45
6.2 Diseño e Instalaciones	46
6.3 Prácticas microbiológicas	47
6.4 Equipos de seguridad	48
6.5 Limpieza de Instalaciones	49

<b>7. Desinfección y esterilización</b>	50
7.1 Definiciones	50
7.2 Cloro	51
7.3 Formaldehído	51
7.4 Compuestos fenólicos	52
7.5 Alcoholes	53
7.6 Descontaminación de espacios y superficies	54
7.6.1 Mantenimiento de Refrigeradores	54
7.7 Desinfección y esterilización por calor	54
7.8 Descontaminación de material contaminado por autoclavado	54
7.8.1 Tratamiento en autoclave	55
7.9 Limpieza del material de laboratorio	57
<b>8. Transporte de sustancias infecciosas</b>	58
8.1 Reglamentación internacional	58
8.2 El sistema básico de embalaje triple	59
8.3 Procedimiento de limpieza de derrames	60
<b>9. Comité de bioseguridad</b>	62
<b>10. Programa de Control Médico e Inmunoprofilaxis</b>	64
<b>11. Reglas de seguridad para el personal de apoyo, proveedores y personal de visita al laboratorio</b>	65
<b>12. Programas de capacitación y evaluación del cumplimiento de las normas de bioseguridad</b>	66
<b>13. Bibliografía</b>	67
<b>14. ANEXOS</b>	68

**POR01-01** POEs Recepción de muestras en el Laboratorio

**POTB02-02** POEs Ingreso y Egreso al Laboratorio de TBC y Utilización de Vestimenta y elementos de seguridad personal

**POLEP03-01** POEs Utilización de Vestimenta y elementos de seguridad personal en el laboratorio de Leptospirosis

**POAR04-01** POEs Utilización de Vestimenta y elementos de seguridad personal en el laboratorio de Agentes Respiratorios

**PODYR05-01** POEs Utilización de Cabina de Seguridad Biológica

**PODYR06-01** POEs Utilización de Respiradores N95

**POTB07-02** POEs Utilización de Respirador Purificador de Aire Forzado

**PODYR08-01** POEs Utilización de guantes y Lavado de manos

**POTB09-01** POEs de Ingreso y egreso de material al Laboratorio de TBC

**POLEP10-01** POEs de Ingreso de material infeccioso al Laboratorio de Leptospirosis

**POAR11-01** POEs de Ingreso de material infeccioso al Laboratorio de Agentes Respiratorios

**POTB12-01** POEs Contingencia ante Derrames Biológicos en el Laboratorio de TBC

**POLEP13-01** POEs Contingencia ante Derrames Biológicos en el Laboratorio de Leptospirosis

**POAR14-01** POEs Contingencia ante Derrames Biológicos en el Laboratorio de Agentes Respiratorios

**PODYR15-02** POEs Preparación de soluciones desinfectantes

**POEL16-02** POEs Lavado y Secado de material de laboratorio

**POEL17-02** POEs Preparación y esterilización de material por calor seco

**POEL18-02** POEs Esterilización de material por autoclavado

**POEL19-02** POEs Descontaminación de material contaminado por autoclavado

**PODYR20-01** POEs de Descontaminación de Cabina de Seguridad con gas Formaldehído

Guía de observación del cumplimiento de las normas de bioseguridad

## **Principios generales de Bioseguridad**

Este manual es una enumeración de las prácticas y los procedimientos esenciales para el trabajo en el laboratorio del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias “Dr. Emilio Coni” y constituyen la base de las técnicas microbiológicas apropiadas.

En él se identifican los riesgos conocidos y potenciales y se especifican las prácticas y los procedimientos encaminados a eliminar o reducir al mínimo esos riesgos.

Las técnicas microbiológicas apropiadas son fundamentales para la seguridad en el laboratorio y no pueden sustituirse por un equipo de laboratorio por más especializado que sea.

Las medidas de bioseguridad deben involucrar a todos los servicios de un laboratorio. Todo el personal, pacientes, y visitantes deben cumplir con las normas establecidas para prevenir accidentes.

El uso de Barreras establece el concepto de evitar la exposición directa a todo tipo de muestra potencialmente contaminante, mediante la utilización de materiales o barreras adecuadas que se interpongan al contacto con las mismas, reduciendo los accidentes.

*-Barreras primarias:* Los equipos de seguridad incluyen cabinas de seguridad biológica (CSB), recipientes cerrados, y otros controles de ingeniería destinados a eliminar o minimizar las exposiciones a materiales biológicos peligrosos. La CSB es el dispositivo principal utilizado para proporcionar contención de salpicaduras o aerosoles infecciosos generados por diversos procedimientos microbiológicos.

Los equipos de seguridad pueden también incluir elementos de protección personal, tales como guantes, ambos, delantales, cobertores de zapatos, botas, respiradores, máscaras faciales, anteojos de seguridad o antiparras. Los equipos de protección personal se utilizan en general en combinación con CSB.

*-Barreras secundarias:* El diseño y la construcción de las instalaciones contribuyen a la protección de quienes trabajan en el laboratorio, proporcionan

una barrera para proteger a las personas que se encuentran fuera del laboratorio, y protegen a la comunidad de agentes infecciosos que pueden ser liberados accidentalmente del laboratorio.

## **1. Equipos de Seguridad**

### **1.1 Cámaras de seguridad biológica**

Las cámaras de seguridad biológica (CSB) están diseñadas para proteger al trabajador, la atmósfera del laboratorio y los materiales de trabajo de la exposición a las salpicaduras y los aerosoles infecciosos que pueden generarse al manipular material que contiene agentes infecciosos, como cultivos primarios, soluciones madre y muestras de diagnóstico. Los aerosoles se producen en cualquier actividad que transmita energía a un material líquido o semilíquido, por ejemplo, al agitarlo, verterlo a otro recipiente, removerlo o verterlo sobre una superficie o sobre otro líquido. Las partículas de aerosol de menos de 5mm de diámetro y las pequeñas gotículas de 5 a 100mm de diámetro no son visibles a simple vista. El trabajador no suele darse cuenta de que se están produciendo esas partículas, que pueden ser inhaladas o provocar la contaminación cruzada de los materiales que se encuentran sobre las superficies de trabajo.

Las CSB, cuando se utilizan debidamente, han demostrado ser sumamente eficaces para reducir las infecciones adquiridas en el laboratorio y la contaminación cruzada de cultivos por exposición a aerosoles. Las CSB también protegen la atmósfera del laboratorio. Los filtros HEPA de las CSB retienen el 99,97% de las partículas de 0,3mm de diámetro y el 99,99% de las partículas de tamaño mayor o menor; esto les permite retener eficazmente todos los agentes infecciosos conocidos y garantizar que de la cámara sólo sale aire exento de microorganismos. En la CSB además se dirige hacia la superficie de trabajo el aire que haya pasado por filtros HEPA, con el fin de proteger de la contaminación los materiales de esa superficie. Esta característica a menudo se conoce como protección del producto.

#### ***Cámaras de seguridad biológica de clase II***

Además de proporcionar protección personal, las CSB de clase II protegen del aire contaminado del local a los materiales de la superficie de

trabajo. Las CSB de clase II, de las que hay cuatro tipos (A1, A2, B1 y B2), pueden utilizarse para trabajar con agentes infecciosos de los grupos de riesgo 2 y 3, y también con agentes infecciosos del grupo de riesgo 4, siempre que se utilicen trajes presurizados.

En el laboratorio se dispone de CSB de clase II tipo A2, con y sin salida al exterior.

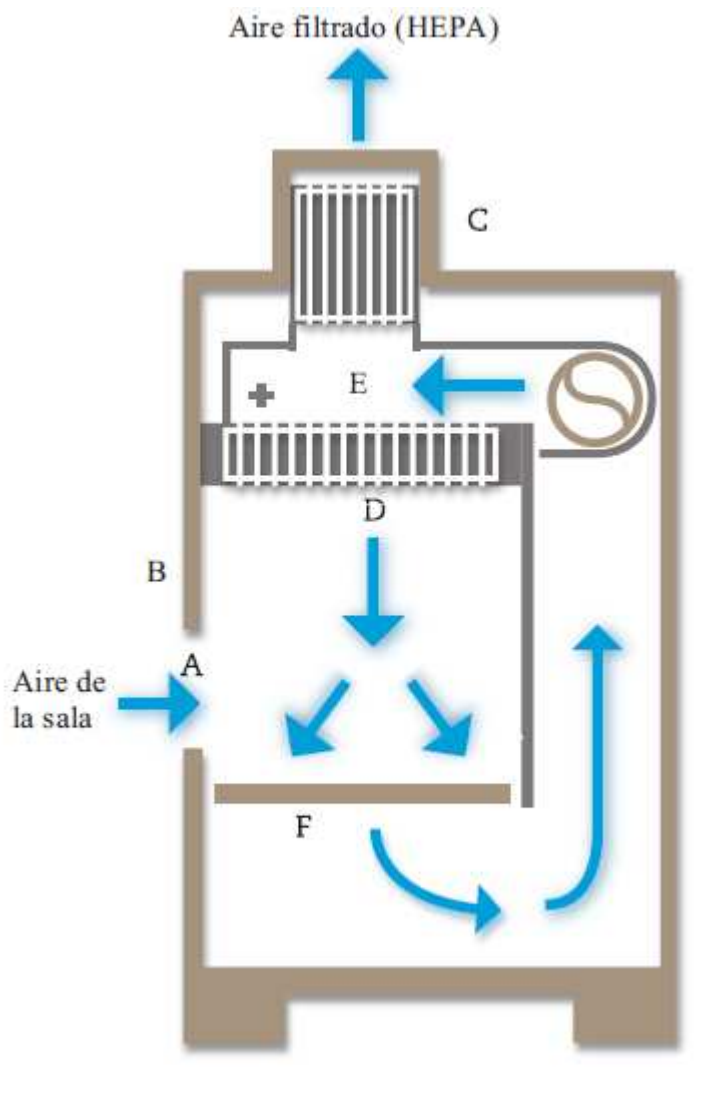
### ***Cámaras de clase II de tipo A2 con salida al exterior, y de tipo B1 y B2***

Estas CSB se distinguen entre sí en varios aspectos: la velocidad de entrada del aire por la abertura frontal; la cantidad de aire que se vuelve a hacer pasar por la superficie de trabajo y que sale de la cámara; el sistema de extracción de aire, que determina si el aire se evacua hacia la sala o al exterior por su propio sistema de evacuación o por el sistema de evacuación de aire del edificio; y las presiones en el interior de la cámara (en unas los conductos y las cámaras de distribución cargados de aire biológicamente contaminado están bajo presión negativa, o están rodeados por conductos y cámaras de distribución bajo presión negativa).

En las CSB de clase II A2, un ventilador interno succiona aire de la sala hacia el interior de la cámara por la abertura frontal y a continuación hacia la rejilla frontal. La velocidad de entrada de este aire debe ser de al menos 0,38 m/s en el plano de la abertura frontal. Después de atravesar la rejilla, el aire de entrada es conducido hacia arriba y a través de un filtro HEPA antes de pasar en sentido descendente por encima de la superficie del trabajo. Al circular en sentido descendente a unos 6-18 cm sobre la superficie de trabajo, el aire se divide de modo que aproximadamente la mitad del volumen atraviesa la rejilla de salida frontal y la otra mitad atraviesa la rejilla de salida trasera. Las partículas de aerosol que se hubieran generado en la superficie de trabajo son inmediatamente captadas por esta corriente de aire descendente y salen por la rejilla de evacuación delantera o trasera, con lo que se logra la máxima protección del producto. A continuación el aire se evacua a través de la cámara de distribución posterior hacia el espacio comprendido entre el filtro de suministro y el filtro de evacuación situados en la parte superior de la cámara. Debido al tamaño relativo de esos filtros, el 60%-70% del aire vuelve a circular a través del filtro HEPA de suministro y regresa a la zona de trabajo; el 30%-

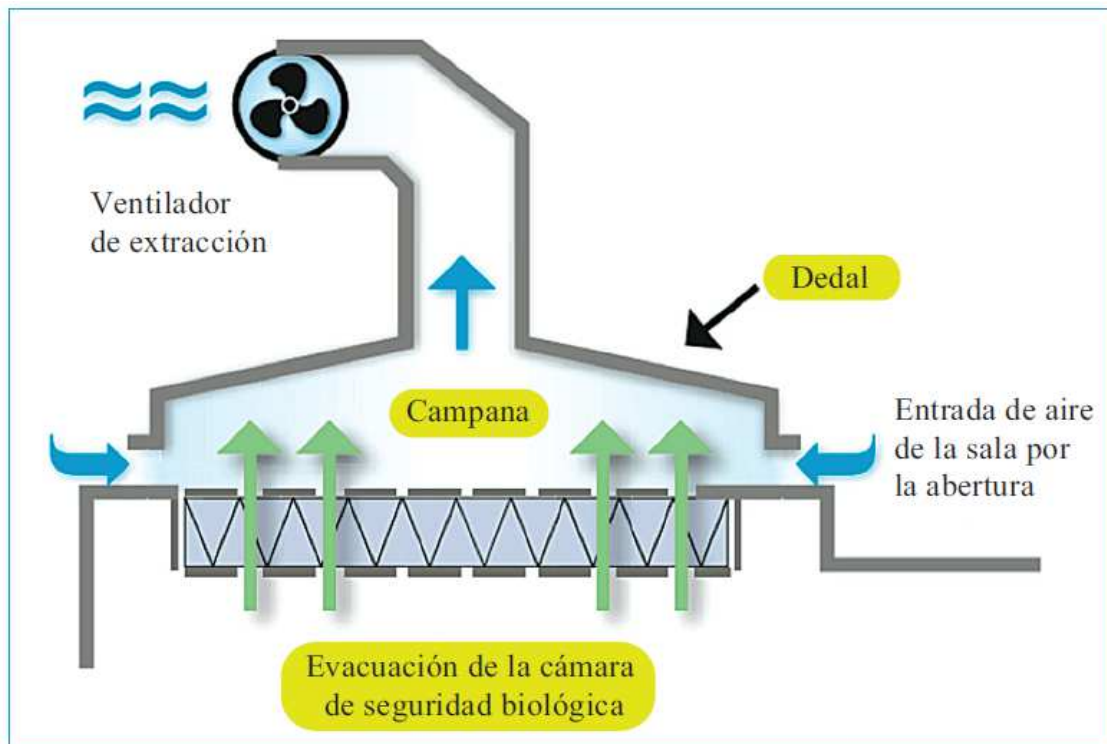


40% restante atraviesa el filtro de evacuación hacia la sala o el exterior. El aire de salida de una cámara de este tipo puede reciclarse en la sala o evacuarse al exterior del edificio por medio de un acoplador de tipo «dedal» conectado a un conducto dedicado exclusivamente a este fin.



**Conexiones de tipo dedal.** Las conexiones mediante acopladores de tipo dedal se utilizan con las CSB de clase II tipo A2 conectadas al exterior. El acoplador se ajusta a la salida de aire de la cámara, succionando el aire expulsado de la cámara hacia los conductos que llevan al exterior. Se mantiene una pequeña abertura (generalmente de 5 cm de ancho) entre el acoplador y la

salida de aire de la cámara que permite succionar aire de la sala hacia el sistema de evacuación de aire. La capacidad del sistema de evacuación de aire debe ser suficiente para captar aire procedente tanto de la sala como de la cámara. El acoplador de tipo dedal debe ser extraíble o estar diseñado de modo que permita las pruebas de funcionamiento de la cámara. En general, el rendimiento de una cámara conectada mediante un dedal no se ve muy afectado por las fluctuaciones en la corriente de aire del edificio. Una ventaja de utilizar una conexión en dedal es que la CSB no necesita ajuste alguno y la presión en la sala se mantendrá prácticamente constante. Para mantener una presión controlada, constante y reducida dentro de la sala de contención, normalmente se necesita un control de regulación del sistema de evacuación para permitir que el flujo de aire a través de la conexión en dedal esté equilibrado con la capacidad de evacuación del ventilador de extracción situado al final de los conductos. Otra ventaja de utilizar este tipo de conexión es que en caso de corte eléctrico, el aire que vuelve a la sala en la que existe una presión menor pasará casi exclusivamente a través de la entrada del acoplador en dedal, y no arrastrará bacterias del filtro HEPA. La instalación de una válvula que impida el retroceso en el conducto asegura que el aire que entra lo hará por la entrada de aire limpio.



CSB	VELOCIDAD EN LA ABERTURA FRONTAL (m/s)	FLUJO DE AIRE (%)		SISTEMA DE EVACUACIÓN
		RECIRCULADO	EVACUADO	
Clase I <sup>a</sup>	0,36	0	100	Conducto rígido
Clase IIA1	0,38–0,51	70	30	Extracción a la sala o a un acoplador de tipo «dedal»
Clase IIA2 con salida al exterior <sup>a</sup>	0,51	70	30	Extracción a la sala o a un acoplador de tipo «dedal»
Clase IIB1 <sup>a</sup>	0,51	30	70	Conducto rígido
Clase IIB2 <sup>a</sup>	0,51	0	100	Conducto rígido
Clase III <sup>a</sup>	NA	0	100	Conducto rígido

NA: No aplicable.

<sup>a</sup> Todos los conductos biológicamente contaminados se encuentran bajo presión negativa o están rodeados por conductos y *cámaras de distribución* con presión negativa.

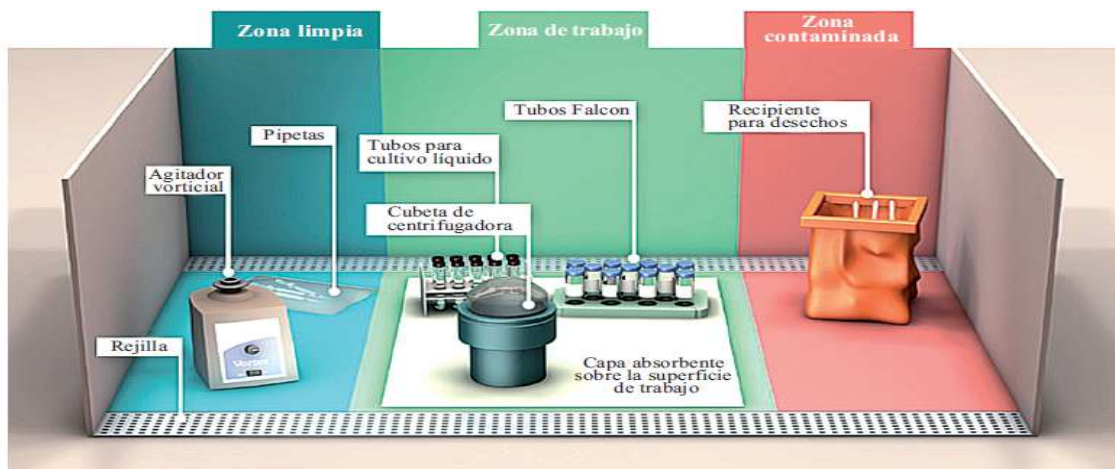
### **Ubicación y Usos de la cabina**

Si las CSB no se usan correctamente, sus efectos protectores pueden verse gravemente disminuidos. La integridad del flujo direccional de aire es frágil y puede verse alterada por las corrientes de aire que las personal producen al caminar en las proximidades de la cámara, por ventanas abiertas, puertas, etc. Siempre que sea posible, debe dejarse un espacio de 30 cm por detrás y a cada lado de la CSB para permitir el acceso para la limpieza y mantenimiento. 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 ajuste y el aire barra las manos y los brazos. El número de movimientos a través de la abertura frontal también debe reducirse al mínimo colocando todo el material necesario en el interior antes de comenzar las manipulaciones.

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%. El trabajo puede realizarse sobre paños absorbentes empapados de desinfectante con el fin de que éstos recojan las salpicaduras y los 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 (por ejemplo mezcladoras) 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 poner en peligro la protección tanto del personal como del producto.



### **Operación y mantenimiento**

Las cámaras deben encenderse al menos 5 minutos antes de comenzar el trabajo y después de terminarlo para permitir que se «purguen», es decir, dejar tiempo para que el aire contaminado sea eliminado del entorno de la cámara (Anexo: PODYR05-01).

Todas las reparaciones que se hagan en una CSB debe realizarlas un técnico calificado. Cualquier fallo en el funcionamiento de la CSB debe comunicarse y repararse antes de utilizarla de nuevo.

### ***Luz ultravioleta***

Las lámparas deben limpiarse una vez a la semana para quitar el polvo y la suciedad que puedan bloquear la eficacia germicida de la luz. La intensidad de la luz ultravioleta debe comprobarse cada vez que se vuelve a certificar la cámara para asegurarse de que la emisión de luz es apropiada. Las luces ultravioletas deben apagarse cuando la sala está ocupada, para proteger los ojos y la piel de exposiciones involuntarias. Reemplazar el tubo periódicamente, es activo durante 700 horas de uso, dependiendo del tipo. Es importante llevar registro de las horas de uso de la lámpara para reemplazarla oportunamente y garantizar su efectividad.

### ***Llamas desnudas***

Deben evitarse las llamas desnudas ya que alteran las corrientes de aire y pueden ser peligrosas cuando se utilizan al mismo tiempo sustancias volátiles e inflamables.

Para esterilizar las asas microbiológicas, es preferible utilizar microincineradores.

### ***Derrames***

Se colocará en lugar visible una copia del protocolo del laboratorio para tratar los derrames, que deberán leer y comprender todos los usuarios. Cuando se produzca un derrame de material de riesgo biológico dentro de una CSB, debe procederse de inmediato a su limpieza, mientras la cámara sigue en funcionamiento. Debe utilizarse un desinfectante eficaz y aplicarse de modo que se reduzca al mínimo la formación de aerosoles (Anexo: POTB12-01; POLEP-13-01; POAR14-01).

### ***Certificación***

El funcionamiento y la integridad de cada CSB deben ser certificados en relación con las normas de funcionamiento nacionales o internacionales en el momento de la instalación, y después de forma periódica, por técnicos cualificados y de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La evaluación de la eficacia de contención de la cámara debe incluir pruebas de la integridad de

la cámara, fugas de los filtros HEPA, perfil de velocidad del flujo de aire descendente, velocidad en la abertura frontal, tasa de presión negativa/ventilación, características del flujo de aire, y alarmas e interruptores de interbloqueo. También pueden realizarse pruebas facultativas en relación con la instalación eléctrica y la intensidad de la iluminación, la luz ultravioleta, los ruidos y las vibraciones.

### ***Limpieza y desinfección***

Todos los artículos que entren en una CSB, incluido el material de laboratorio, deben tener su superficie descontaminada y sacarse 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 empapado en un desinfectante que elimine los microorganismos que pudiera haber. Es fundamental en control de insectos y el polvillo en el laboratorio para la mantener la integridad de los filtros. Periódicamente limpiar la parte superior de la CSB.

Al final del día de trabajo, 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 con alcohol al 70%. Si se utilice un desinfectante corrosivo habrá que pasar un paño con agua **estéril**. Antes de apagarla habrá que dejarla funcionando durante 5 minutos para purgar la atmósfera interior (Anexo PODYR05-01).

### ***Descontaminación***

Las CSB deben descontaminarse antes de los cambios de filtro y antes de cambiarlas de sitio. El método de descontaminación más común es la fumigación con formaldehído gaseoso (Anexo: PODYR20-01).

### ***Alarmas***

Las CSB pueden ir equipadas con uno de los dos tipos siguientes de alarma. Las alarmas de abertura, que sólo se encuentran en las cámaras que llevan ventanas de cristal correderas; indican que el trabajador ha colocado el cristal en posición incorrecta, y se detienen cuando el cristal está debidamente

colocado. Las alarmas de flujo de aire señalan perturbaciones de las características normales del flujo de aire en la cámara que representan un peligro inmediato para el trabajador o el producto.

## **1.2 Dispositivos de pipeteo**

Para los procedimientos de pipeteo debe utilizarse siempre un dispositivo especial. El pipeteo con la boca debe estar estrictamente prohibido. El uso de dispositivos de pipeteo permite evitar la ingestión de patógenos. Es importante que ni su diseño ni su modo de empleo aumenten el riesgo de infección, y que sean fáciles de esterilizar y limpiar. Deben utilizarse puntas de pipeta obturadas (resistentes a los aerosoles) cuando se manipulen microorganismos y cultivos celulares.

Todas las pipetas tendrán tapones de algodón para reducir la contaminación de los dispositivos de pipeteo. No se expulsarán a la fuerza los líquidos de una pipeta. Las pipetas contaminadas deben sumergirse completamente en un desinfectante adecuado contenido en un recipiente irrompible y permanecer en él durante un tiempo suficiente antes de tirarlas.

Debe colocarse un recipiente para las pipetas usadas dentro (no fuera) de la CSB. Las pipetas que tengan los extremos de succión agrietados o astillados deben desecharse, ya que dañan las juntas herméticas por las que se insertan en los dispositivos de pipeteo y crean un peligro.

## **1.3 Ropa y equipo de protección personal**

La vestimenta y el equipo de protección personal pueden actuar como barrera para reducir al mínimo el riesgo de exposición a aerosoles, salpicaduras e inoculación accidental.

Las prendas de vestir y el equipo que se seleccionen dependen de la naturaleza del trabajo que se realice. En el laboratorio los trabajadores llevarán ropa protectora. Antes de abandonar el laboratorio, tendrán que quitarse las prendas protectoras y lavarse las manos.

Las batas de manga larga y abertura trasera y los mamelucos protegen mejor que las batas de abertura frontal y son preferibles en los laboratorios de microbiología y cuando se trabaja en una CSB. Los delantales pueden llevarse por encima de las batas cuando se necesite mayor protección contra el

derrame de sustancias químicas. Se puede utilizar cofias cuando por el riesgo de transmisión sea necesaria.

Se puede utilizar cubrecalzados cuando no se dispone de calzado exclusivo para uso en el laboratorio.

Las batas, mamelucos, cubrecalzados, calzado y delantales no deben usarse fuera de las zonas del laboratorio.

Todo personal del laboratorio debe ingresar en el registro de entrega de indumentaria, los elementos de protección recibidos con la firma correspondiente.

#### **1.4 Gafas de seguridad**

La elección del material para proteger los ojos y el rostro de salpicaduras e impactos de objetos dependerá de la actividad que se lleve a cabo. Pueden fabricarse gafas, graduadas o no, con monturas especiales que permiten colocar los cristales desde delante. Los cristales son de material irrompible y pueden ser curvos o llevar protecciones laterales (cristales de seguridad). Las gafas de patilla no protegen debidamente contra las salpicaduras ni siquiera cuando se utilizan con protecciones laterales. Las gafas de máscara para proteger contra salpicaduras e impactos deben llevarse sobre las gafas graduadas normales y las lentes de contacto (que no protegen contra los riesgos biológicos o químicos). Las viseras están hechas de plástico irrompible, se ajustan al rostro y se sujetan a la cabeza mediante cintas o una capucha. Ninguno de estos elementos de protección debe usarse fuera del laboratorio.

#### **1.5 Protección Respiratoria**

El tipo de respirador elegido dependerá del tipo de peligro. Existen respiradores con filtros cambiables para proteger contra gases, vapores, partículas y microorganismos. Es indispensable que el filtro esté colocado en el tipo de respirador adecuado. Para que la protección sea máxima, los respiradores deben ajustarse al rostro de cada trabajador y probarse previamente.

Las mascarillas de tipo quirúrgico están diseñadas exclusivamente para proteger a los pacientes y no ofrecen protección respiratoria a los trabajadores. Los respiradores adecuados para proteger de las exposiciones a agentes



biológicos son los barbijos N95 o N100. Los respiradores no deben usarse fuera del laboratorio. Los respiradores deben ser certificados y tener impreso la certificación NIOSH (norma de los EE.UU. NIOSH N95) o FFP2 (norma europea EN149:2001). Esos respiradores N95 son ligeros y desechables, cubren la nariz y la boca y filtran el 94%–95% de las partículas de  $\geq 0,3\text{--}0,4\ \mu\text{m}$ . En condiciones ideales, el personal debe pasar una prueba de ajuste para asegurar que no se producen fugas. Los respiradores deben ser inspeccionados antes de cada uso para comprobar que no hay orificios además de los correspondientes a las grapas, y para asegurar que no han sufrido daños (los orificios dados de sí con material de filtro desgarrado o roto alrededor de los agujeros de las grapas se consideran daños). También hay que comprobar las cintas y las válvulas. Un respirador dañado debe ser desechado y sustituido de inmediato.

El Respirador Purificador de Aire Forzado (PAPR), es un equipo que se compone de una unidad de filtrado de aire, una batería, un filtro de alta eficiencia, un cinturón y un indicador de caudal de aire. Es un sistema de respiración motorizado que utiliza un ventilador para llevar aire filtrado que pasa a través de un filtro o cartucho a un casco, capucha o respirador de rostro completo (Anexo: PODYR06-01; POTB07-02)

### **1.6 Guantes**

Las manos pueden contaminarse cuando se trabaja en el laboratorio. También son vulnerables a las heridas producidas por objetos punzantes o cortantes. Los guantes desechables de látex, vinilo o nitrilo de tipo quirúrgico aprobados para uso microbiológico son los más extendidos para el trabajo general de laboratorio y para manipular agentes infecciosos, así como sangre y otros líquidos corporales. Después de manipular material infeccioso o trabajar en una CSB y antes de abandonar el laboratorio es preciso retirar los guantes y lavarse las manos concienzudamente.

Los guantes desechables usados deben eliminarse junto con los residuos de laboratorio infectados. Los guantes no deben usarse fuera de las zonas de laboratorio (Anexo: PODYR08-01).

## **2. Código de Prácticas Generales para todos los laboratorios del Departamento Diagnóstico y Referencia.**

A continuación se detallan las precauciones generales y las técnicas apropiadas que se deben respetar para garantizar la seguridad del personal del laboratorio.

1. En el laboratorio no se debe conservar ni consumir alimentos o bebidas. Debe existir en el edificio un sector de refrigerio, aislado físicamente de los sectores donde se efectúan las actividades del laboratorio para la conservación y el consumo de los alimentos. Está prohibido fumar, utilizar cosméticos y manipular lentes de contacto.
2. Los laboratorios debe estar señalizados con el cartel que indique riesgo biológico y acceso restringido a personal, con el nombre de los integrantes de ese laboratorio.
3. Eliminar roedores o artrópodos que pueden ser vehículos de microorganismos mediante la desinfección periódica.
4. Asignar a cada empleado la responsabilidad de mantener el orden, limpieza y desinfección del área. El equipo y el material que no se están utilizando o que no funcionen deben ser retirados de las zonas de trabajo.
5. No utilizar anillos ni ningún tipo de joya o bijouterie para realizar el trabajo en el laboratorio.
6. No permitir la presencia de animales no relacionados con el trabajo practicado en el laboratorio
7. En el laboratorio no se colocarán objetos en la boca (lápices, goma de mascar).
8. El personal utilizará ropa y equipo de protección personal mientras permanezca en el laboratorio. No llevar calzado abierto.
9. La cara, los ojos y la boca deben estar protegidos con una pantalla o de algún otro modo durante cualquier operación que pueda provocar salpicaduras de material potencialmente infeccioso.
10. La inoculación accidental debida a heridas por objetos de vidrio rotos puede evitarse mediante prácticas y procedimientos cuidadosos. Los mismos deben colocarse en recipientes resistentes.
11. Nunca deben volver a cubrirse las agujas. Los artículos desechables deberán colocarse en recipientes resistentes a la perforación que tengan tapa.

12. Si se trabajara fuera de la cabina de seguridad biológica el personal llevará guantes y equipo protector de ojos y mucosas.

13. No se debe pipetear con la boca, usar dispositivos de pipeteo. Las pipetas usadas se sumergirán por completo en un desinfectante apropiado y permanecerán en él durante un tiempo suficiente, hasta que se eliminen o se laven y esterilicen para volverlas a utilizar.

14. Los tubos de ensayo que se desea eliminar y que contienen coágulos de sangre u otros materiales se colocarán, nuevamente con sus tapas, en recipientes impermeables apropiados que se tratarán y esterilizarán en el autoclave previa descontaminación con hipoclorito de sodio.

15. Las centrifugas deben colocarse a una altura tal que los trabajadores puedan ver la cubeta para colocar correctamente los soportes y los cestillos.

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

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

18. Los cestillos deben cargarse, equilibrarse, cerrarse y abrirse en una CSB. Los cestillos y los soportes se deben emparejar por el peso y equilibrar correctamente con los tubos en su sitio. Los rotores y los cestillos de la centrifugas deben observarse diariamente para detectar signos de corrosión y grietas. Los cestillos, los rotores y la cubeta de la centrifugas deben descontaminarse después de cada uso.

19. Los refrigeradores y congeladores deben descongelarse y limpiarse periódicamente; se eliminarán todos los tubos, ampollas y otros objetos que se hayan roto durante el almacenamiento. Durante la limpieza se debe utilizar protección facial y guantes de goma gruesa. Después de la limpieza se desinfectarán las superficies interiores de la cámara.

20. Todos los recipientes almacenados en refrigeradores y congeladores deben llevar etiquetas bien claras con el nombre científico del contenido y la fecha de almacenamiento.

21. Debe mantenerse un inventario del contenido de los refrigeradores y congeladores.

22. Las ampollas que contienen material infeccioso no se deben sumergir nunca en nitrógeno líquido, ya que las que estén fisuradas o mal cerradas podrían romperse o explotar al sacarlas. Si se necesitan temperaturas muy bajas, las ampollas sólo se deben almacenar en la fase gaseosa que queda por encima del nitrógeno líquido. Al retirar las ampollas del almacenamiento en frío, el personal deberá llevar protegidos los ojos y las manos. Las ampollas conservadas por estos procedimientos se descontaminarán por fuera siempre que se saquen del lugar de almacenamiento.

23. Las personas se deben lavar las manos luego de manipular material infeccioso, luego de quitarse los guantes y antes de retirarse del laboratorio. No tocar instalaciones, material de escritorio o equipamiento del laboratorio sin antes quitarse los guantes y lavarse las manos.

24. Al terminar cada jornada desinfectar las superficies de mesadas donde se colocaron recipientes con material potencialmente infeccioso, con una solución de 1g/l de cloro libre.

25. No se debe utilizar teléfono móvil en el laboratorio.

26. No utilizar la cabina si no funciona correctamente o no está controlada. Evitar las corrientes de aire durante el trabajo en cabina. No abrir las ventanas ni las puertas mientras se está trabajando.

27. Cualquier accidente o incidente debe comunicarse al jefe de División y Departamento, y el mismo debe registrarse en el registro correspondiente.

### **3. Recepción de muestras biológicas**

Las muestras se recibirán solamente en el laboratorio de 7 a 14 horas. Las mismas se enviarán según la normativa para el transporte de sustancias infecciosas (ver capítulo 8). El personal encargado de la recepción deberá verificar las condiciones de envío e ingresar los datos del remitente que envía el material en el libro de registro de ingreso de muestras (Anexo: POR01-01).

#### **4. BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO DE TUBERCULOSIS**

#### **4.1 Organización del laboratorio**

Las instalaciones del laboratorio de tuberculosis se clasifican en el nivel de Alto riesgo, ya que las actividades implican manipulación de cultivos para la identificación; antibiogramas o ensayos de sonda en línea en aislamientos cultivados. Estas actividades poseen un alto riesgo de generación de aerosoles infecciosos a partir de las muestras; con alta concentración de partículas infecciosas.

El área del laboratorio destinada a Tuberculosis se encuentra aislada del resto del laboratorio general.

##### **Acceso al Laboratorio.**

El acceso al laboratorio B se realiza a través de un doble vestuario, que permite al personal autorizado para el ingreso dejar la ropa y zapatos de circulación dentro del laboratorio general en el vestuario limpio y colocarse los elementos de protección personal en el vestuario 2, para el ingreso al laboratorio B. Los detalles técnicos y operativos se describen en el procedimiento (Anexo: POTB02-02; POTB07-02; PODYR06-01; PODYR08-01). Desde el laboratorio B se ingresa al laboratorio A. Para el ingreso de muestras existe en el laboratorio B un pass through que conecta a un patio externo (Anexo: PO09-01). Existe además desde el laboratorio A una puerta de emergencia que comunica también con el exterior.

El ingreso al laboratorio A y B es de acceso restringido. Las personas autorizadas para ingresar en esta sección están listadas en el acceso.

**Laboratorio A:** se realiza:

- **Procesamiento de muestras y de aislamientos de *M. tuberculosis*:**  
Se realiza la técnica de baciloscopía, cultivo en medio sólido y medio líquido, identificación por métodos bioquímicos y moleculares y Prueba de sensibilidad. Este laboratorio a su vez posee tres habitaciones, en cada una de las cuales se encuentra una CSB tipo II clase A2 con salida al exterior.

**Laboratorio B:** conectado con el laboratorio A y el vestuario. Se realiza:

- Proceso de Coloración de Extendidos.
- Envío por fax de la documentación al sector informes.
- Microscopía.

## 4.2 Diseño e instalaciones.

El diseño y la construcción apropiados de las instalaciones del laboratorio contribuyen a la protección de todo el personal del laboratorio y actúa como barrera que protege a la comunidad de los aerosoles que puedan crearse en el laboratorio. Las características concretas del laboratorio, incluida la separación de las distintas zonas y el sistema de ventilación, son medidas de contención secundaria. A continuación se enumeran los requisitos:

-Se necesitan una **ventilación adecuada y un flujo de aire direccional**. La ventilación adecuada para los laboratorios de tuberculosis se describe como un flujo de aire direccional con entre 6 y 12 intercambios de aire por hora (IAH) El flujo de aire direccional se refiere al aire que fluye de las zonas limpias hacia las zonas en las que pueden generarse aerosoles; ese aire debe extraerse de manera segura de la habitación.

La expresión «intercambios de aire por hora (IAH) se refiere al número de veces que el volumen de aire de la habitación se evacua y se sustituye por aire limpio cada hora.

-Las **paredes, los techos y los suelos** deben ser lisos y fáciles de limpiar. Los suelos serán antideslizantes.

-Las **superficies de trabajo** deben ser resistentes al agua y a las sustancias químicas y los desinfectantes que normalmente se emplean en el laboratorio; también deben ser resistentes al calor moderado.

-La **iluminación** debe ser suficiente para todas las actividades. Deben evitarse los reflejos y los brillos incómodos. No deben utilizarse cortinas.

-El **mobiliario** de laboratorio debe ser sólido, estar hecho de materiales resistentes y poder descontaminarse fácilmente. No debe utilizarse ningún mueble tapizado con tela.

-Los **espacios abiertos** entre mesas de trabajo, muebles y equipo y los espacios inferiores deben ser accesibles para permitir su limpieza.

-El **espacio de almacenamiento** debe ser suficiente para contener el material de uso inmediato e impedir la acumulación en las superficies de trabajo y en los pasillos exteriores al laboratorio.



-En cada sala de laboratorio habrá una bacha para lavar las manos con jabón, de preferencia cerca de la salida. Las puertas del laboratorio tendrán un panel de cristal.

- Habrá un **suministro eléctrico** seguro y adecuado

#### **4.3 Vigilancia de la Salud.**

Los trabajadores de salud infectados con HIV, con otra enfermedad inmunosupresora, con tratamientos prolongados con medicamentos inmunosupresores o diabéticos no deben trabajar en áreas de riesgo, en particular en el laboratorio de tuberculosis. Los que padecen enfermedades pulmonares crónicas deben contar con autorización de su médico para ser incorporados a las tareas del laboratorio.

- En el momento de ingreso, el personal debe aplicarse la prueba tuberculínica como dato inicial de control de infección en la institución.
- Todos los empleados del INER que realicen algunas de las tareas relacionadas con manipulación de muestras de tuberculosis deben tener una evaluación anual médica clínica, radiología de tórax y control de la infección mediante prueba tuberculínica. Se efectuará el seguimiento del personal cuya prueba tuberculínica sea negativo, mediante la aplicación de la misma una vez al año. En caso de viraje tuberculínico, el empleado debe realizar la quimioprofilaxis para evitar el paso a enfermedad.
- Cuando el personal presente síntomas respiratorios por más de 15 días, se deberá disponer su examen médico, radiología de tórax y el examen por baciloscopia y cultivo de muestras de esputo.
- El personal debe notificar inmediatamente cualquier accidente/incidente de trabajo a la jefa de la División y a la Dirección del laboratorio.
- Se llevará un registro de los exámenes médicos, radiológicos, de reacciones tuberculínicas, vacunación, aplicación de BCG, accidentes /incidentes.

#### **4.4 Precauciones específicas del trabajo en el Laboratorio de TBC.**

En el momento de ingreso, el personal deberá ser claramente instruido acerca de cómo se transmite la tuberculosis y las medidas de bioseguridad que deberá aplicar en su trabajo cotidiano. Se debe asegurar que el personal esté capacitado y que se ha evaluado su competencia técnica para la realización de distintos procedimientos. Tendrá la obligación de leer el manual de bioseguridad y seguir las prácticas normalizadas.

**Básicamente es necesario aplicar todos los procedimientos de modo que se reduzcan al mínimo o se impida la formación de aerosoles y gotículas, que son el vehículo principal de transmisión del bacilo de la tuberculosis. La vía de transmisión primaria es la inhalación de núcleos de gotículas infecciosas. Los bacilos pueden seguir siendo viables durante mucho tiempo en el medio ambiente.**

- Se empleará el aire acondicionado asegurando que la corriente del aire que genera no produzca turbulencias sobre las cabinas de bioseguridad. Los mismos deberán ser tipo Split y estar ubicados sobre la misma pared donde se ubica la CSB, al costado de la salida de transición, dirigiendo el aire hacia la parte superior de la pared contraria. Nunca hacia abajo. Nunca colocar el aire acondicionado frente a la CSB ni en las paredes laterales.
- Mantener cerradas la puerta de comunicación entre la Sección A y la B.
- Utilizar siempre ropa y equipo de protección: mameluco de trabajo, bata prendida atrás, guantes y un equipo de protección respiratoria (PAPR o respiradores de seguridad N 95 mientras se permanezca en la sección A y B) (Anexo: POTB02-02; POTB07-02; PODYR06-01).
- El fenol es el desinfectante de elección en tuberculosis, sin embargo debe tenerse en cuenta que el contacto frecuente con la piel causa excoriaciones y se absorbe por éste órgano, pudiendo causar problemas renales con el tiempo. Por otra parte es un tóxico ambiental. Por estas razones se debe utilizar sólo en Contingencia ante Derrames y en cantidades correctas, sin exagerar su uso (Anexo:PODYR15-02).

- No sacar los libros de registros o solicitudes fuera del laboratorio. Todos los registros deberán egresar vía fax desde el laboratorio de contención hacia el área de registros.
- El personal de limpieza, debe limpiar los pisos diariamente y las paredes y ventanas semanalmente con una solución de 1g/l de cloro. **No barrer ni limpiar superficies en seco, utilizar siempre un paño húmedo. No encerar. No levantar polvo al limpiar.**
- No permitir el acceso de personal de mantenimiento si no están bajo supervisión del personal de laboratorio entrenado y no permitirlo si ya se comenzó a trabajar.
  - No se expulsarán con fuerza líquidos infecciosos de una pipeta.
- No se introducirá con fuerza aire de una pipeta en líquidos potencialmente infecciosos.
- Cuando se utilice una pipeta para añadir un reactivo a un líquido potencialmente infeccioso, se apoyará la pipeta contra la pared interior del recipiente y se dejara salir el líquido suavemente.
- Se evitará siempre romper una burbuja o película en un tubo de cultivo abierto. Para ello se colocará de nuevo la tapa, se darán unos golpes suaves en la parte superior del tubo, se dejará el tubo a un lado y se permitirá que los posibles aerosoles que se hayan generado se depositen antes de abrirlo de nuevo.
- Cuando se centrifugue una muestra o un cultivo, se hará en una cubeta de seguridad cerrada o un rotor cerrado para evitar la liberación de aerosoles a la centrifuga y el laboratorio. Las cubetas de seguridad o los rotores se abrirán dentro de una CSB.
- Después de centrifugar, agitar con vortex o mezclar muestras o cultivos, se colocarán los recipientes en la CSB y se dejarán reposar durante un mínimo de 10 minutos para permitir que los aerosoles se depositen antes de abrir los recipientes.
- Nunca se agitará con vortex un tubo abierto; habrá que asegurarse siempre de que las tapas de rosca están bien apretados en los tubos antes de colocar en el vortex o agitar. No se agitarán con vortex tubos tapados con algodón o tapón de goma.

- No se mezclarán ni harán suspensiones de material infeccioso llenando y vaciando repetidas veces una pipeta.
- Los tubos agitados con vortex se dejarán reposar durante 10 a 15 minutos para reducir al mínimo la propagación de aerosoles, especialmente si los tubos contienen altas concentraciones de bacilos tuberculosos.
- Al decantar líquidos, hay que asegurarse de que los tubos se sujetan con cierto ángulo de manera que el líquido se deslice por el lateral del tubo, o se desechara el recipiente para reducir al mínimo las posibles salpicaduras.
- Se insertará solamente la punta desechable de una micropipeta en un tubo o contenedor; **NUNCA** se insertará el cilindro de la micropipeta.

#### **Precauciones especiales para las cabinas de bioseguridad:**

- Las cabinas que se emplean para el trabajo con el M. tuberculosis son tipo II A2 con ducto al exterior de tal manera que dado que se encuentran colocadas dentro de pequeños laboratorios, generarán una presión negativa que asegura la unidireccionalidad del flujo de aire.
- No dejar destapados los tubos o botellas con los que se está operando. Cerrarlos inmediatamente después de haber sacado o transferido material dentro de ellos.
- Si por accidente se derramara material (potencialmente) infeccioso cubrir la superficie afectada con una toalla de papel o paño absorbente y solución de fenol al 5%, y continuar según el procedimiento (Anexo: POTB12-01)
- Si suena la alarma, cerrar de inmediato todo frasco o tubo con material infeccioso, descontaminar la superficie de trabajo, apagar el equipo y dejar de operar en él hasta que esté reparado.

#### **4.4.1 Recepción de muestras**

Para el ingreso de muestras existe en el laboratorio B un pass through que conecta a un patio externo (Anexo: POTB09-01). Los servicios de salud que derivan muestras deben hacerlo en cajas de plástico con tapa de cierre hermético, del tipo de las que se utilizan en el hogar para conservar alimentos, de altura ligeramente superior a la de los envases de las muestras. En el interior de las cajas se adapta una plancha en la que se cortan círculos de

diámetro adecuado como para que encajen en ellos los envases de las muestras que deben estar introducidas en pequeñas bolsas de polietileno. Las cajas deben estar selladas con cintas de enmascarar y no deben contener las solicitudes de exámenes. Estas deberán ser colocadas dentro de otro recipiente de mayor volumen que hará las veces de envase terciario. Mantener las cajas cerradas y en la posición en que lo indican las flechas y cómo actuar en caso de ocasional rotura de envases.

En caso que sean los mismos pacientes los que entregan sus muestras, deben ser atendidos con prontitud porque debe tenerse en cuenta que **la permanencia prolongada de pacientes que están expectorando bacilos genera riesgo de transmisión de la tuberculosis al personal.**

- a. En ningún caso se pedirá ni aceptará que el paciente expectore en el laboratorio.
- b. Todas las cajas de muestras se abren en CSB. Si las muestras estuvieron en movimiento, dejar reposar los envases durante 20 minutos antes de comenzar a abrirlos.
- c. Inspeccionar las muestras para ver si se han producido derrame. Si el derrame ocurrió actuar según POTB12-01.
- d. Si las muestras no van a ser procesadas en el día, conservarlas en la heladera que está en ese laboratorio, dentro de la caja de plástico.
- e. Si se van a procesar en el día, descontaminar las cajas por lavado con solución de hipoclorito de sodio y desechar en bolsa de residuos patológicos todo el material de envoltura.
- f. Notificar al servicio que derivó las muestras, si se han observado inconvenientes especialmente en la calidad y cantidad de los esputos y en la forma de envío.

#### **4.4.2 Procesamiento de las muestras mediante la técnica de baciloscopía.**

- a. Tener a disposición soluciones antisépticas: solución de 5g/l y 1g/l de cloro preparado diariamente, fenol al 5% y alcohol de 70%.
- b. Ubicar en la cabina de bioseguridad sólo lo necesario para realizar el extendido: muestras ya numeradas, portaobjetos numerados, ansas metálicas, esterilizador de asas, asas descartables, bandejas para

- colocar los extendidos y el frasco con arena y fenol para limpiar asas antes de esterilizarlas (PODYR05-01).
- c. Ubicar al lado de la cabina el recipiente para descartar el material con la bolsa autoclavable.
  - d. Poner en funcionamiento la cabina antes de comenzar a trabajar en ella (PODYR05-01).
  - e. Destapar con cuidado el envase.
  - f. Al preparar frotis, es preferible utilizar asas desechables en lugar de asas reutilizables, que es preciso esterilizar por calor. El mango del asa no debe medir más de 15 cm, para evitar vibraciones y pérdida del material en el momento de transferirlo, el aro debe estar completamente cerrado y no debe tener más que 5 mm de diámetro.
  - g. Si se emplea un asa reutilizable, debe esterilizarse por calor en un microincinerador.
  - h. Luego de ser usada el ansa, introducirla en el frasco que contiene arena cubierta con alcohol, limpiarla con movimientos circulares por la arena y luego quemar todo el alambre hasta que se ponga rojo, en el incinerador de asas. No re-utilizar nuevamente el asa hasta que se haya enfriado.
  - i. Cuando se prepare un frotis utilizando un palillo o asa, se harán movimientos lentos y suaves para evitar la creación de aerosoles. Conservar los bordes de las láminas limpios, sin muestra.
  - j. El extendido no debe ser fijado a la llama mientras esté húmedo porque puede generar aerosoles y además, alterarse la estructura de los bacilos y su posterior tinción.
  - k. Una vez verificado que no es necesario realizar nuevos extendidos o cultivarse, desechar las muestras junto con los papeles y algodones que eventualmente se hubieran utilizado en todas las etapas en la bolsa autoclavable.
  - l. Limpiar la superficie de trabajo y las paredes de la cabina, con algodón o paño de bajo contenido de pelusas empapado en alcohol a 70% para desinfectarla.
  - m. Encender la luz UV de la cabina y dejar actuar.
  - n. Llevar la bandeja con los extendidos fijados a la sección B del laboratorio para ser coloreados.

- o. Los extendidos deben ser coloreados lo antes posible, no deben quedar sin colorear hasta el día siguiente, ya que algunos bacilos permanecen vivos después de fijados con calor hasta que incorporan la fucsina.
- p. Cerrar la bolsa y dejarla en el pasaje hacia la Sección Esterilización. La bolsa deberá ser autoclavada antes de ser retirada por el servicio de residuos patológicos.
- q. Cuando se realiza la coloración de los extendidos para la protección contra los vapores de fenol que se desprenden de la fucsina utilizar máscara con filtros para gases y limitar el número de extendidos a colorear a 12.

#### **4.4.3 Procesamiento de las muestras mediante la técnica de cultivo**

La agitación y centrifugación de tubos conteniendo bacilos durante la homogeneización/descontaminación/concentración generan aerosoles infecciosos que incrementan el riesgo biológico en un laboratorio que realiza cultivo en relación con el que realiza sólo baciloscopía. El riesgo es mayor cuanto mayor es la carga de bacilos que contenga la muestra.

- Tener presente que las muestras pueden contener otros microorganismos además del bacilo de la tuberculosis, incluyendo el virus de hepatitis B y el HIV.
- Colocar en la cabina un frasco con una solución de 5g/l de cloro libre para descartar pipetas.
- Colocar cerca de la cabina un cesto para colocar el material que será esterilizado y lavado.
- Verificar que los frascos para pipetas y los cestos utilizados para incubar y trasladar tubos donde se han inoculado muestras tengan base resistente y que contengan el material dentro en caso de rotura por accidente.
- Utilizar frascos autoclavables que permitan dispensar soluciones y/o pipetas operadas con propipetas. Nunca pipetear con la boca. No expulsar con fuerza los líquidos de una pipeta

- Mezclar suspensiones y soluciones dentro de un tubo cerrado, por agitación manual o mecánica, nunca pipeteando.
- No abrir un envase ni un tubo de centrifuga sin haber cerrado antes los anteriores
- Trasvasar líquidos volcando con movimientos decididos y suaves, sin salpicar el contenido del envase dentro de los tubos. Limpiar el exterior de los tubos con un algodón o pañuelo de papel embebido en solución de 5g/l de cloro si eventualmente se produce algún derrame
- No tocar con la bata la boca de envases o tubos conteniendo muestras. En el caso en que accidentalmente suceda quitarse la ropa de trabajo, y descartarla en la bolsa autoclavable.
- Usar exclusivamente tubos plásticos con tapa a rosca de cierre hermético para la centrifugación.
- Verificar que todos los tubos estén cerrados herméticamente antes de agitar y/o de llevar a la centrifuga.
- Utilizar centrifugas con cubetas de seguridad. Cada cubeta debe cargarse y descargarse en una CSB. Se recomiendan las centrifugas refrigeradas con cubetas oscilantes.
- Cuando se utiliza una microcentrifuga para la extracción de ADN, se necesita un rotor de seguridad con tapa sellada; la microcentrifuga debe cargarse y descargarse en el interior de una CSB.
- Trasladar los tubos dentro de la canastilla de la centrifuga hasta la misma.
- Asegurar rigurosamente el equilibrio de los tubos colocados en forma opuesta dentro del rotor de la centrifuga. Utilizar tubos del mismo tipo y grosor.
- Respetar los límites de carga y velocidad de la centrifuga establecidas por el fabricante
- Esperar que se detenga completamente la centrifuga antes de abrirla.
- Abrir la tapa de la centrifuga. En caso de sospechar o comprobar algún derrame dentro de la canastilla, proceder a la limpieza (Anexo: POTB12-01). De lo contrario retirar las canastillas conteniendo los tubos muy



cuidadosamente, trasladarlas a la cabina y allí abrir la tapa de bioseguridad de las canastillas.

- Dejar reposar los tubos sacados de la centrífuga 5 minutos antes de abrirlos.
- Abrir el primer tubo centrifugado, descartar su sobrenadante suavemente sobre la solución de hipoclorito sin salpicar ni mojar la parte exterior del tubo. Limpiar el exterior del tubo con un algodón embebido en solución de 5g/l de cloro. Descartar el pañuelo o algodón dentro de la bolsa destinada a descartar tubos, cerrar la tapa del tubo. No abrir el siguiente tubo sin haber cerrado el anterior.
- Ajustar las tapas de los tubos inoculados y trasladarlos en gradillas asidas cuidadosa y firmemente hasta la cámara de cultivo. Una vez ubicados en ella, abrir ligeramente las tapas para su secado.
- Asegurar el cierre hermético de la tapa de cada tubo de centrífuga y colocarlos junto con los trozos de algodón, papeles y guantes desechables que eventualmente hubieran sido utilizados, dentro de una bolsa autoclavable ubicada en el recipiente destinado a autoclavar material a desechar. Cerrar la bolsa.
- Ubicar dentro del cesto destinado a autoclavar material a reciclar el recipiente conteniendo los sobrenadantes y morteros, pinzas, tubos de vidrio eventualmente utilizados para procesar muestras. Cerrar la tapa del recipiente.
- Lectura de cultivos: hacerla en la misma cámara de cultivo o en la sección A.
- Cuando sea necesario hacer extendidos para confirmar o descartar la presencia de micobacterias en un tubo sembrado recordar que **el riesgo es máximo cuando se abren tubos donde ha desarrollado *M. tuberculosis* debido a la cantidad de bacilos.**
- Descartar los tubos, frascos con medios de cultivos cuya incubación haya finalizado, luego de leer y registrar el resultado, con o sin desarrollo, en una bolsa autoclavable y colocados en un canasto donde serán autoclavados.

#### **4.4.4 Procesamiento de pruebas de sensibilidad.**

- a. Tener a mano soluciones antisépticas: fenol al 5% o solución de 5g/l de cloro preparado diariamente y alcohol de 70%.
- b. Ubicar al lado de la cabina el recipiente para descartar el material con la bolsa autoclavable.
- c. Poner en funcionamiento la cabina antes de comenzar a trabajar en ella.
- d. Preparar los tubos para las diluciones y retirarlos cuando estén listos.
- e. Ubicar en la cabina de bioseguridad sólo lo necesario para realizar las suspensiones: ansas, esterilizador de ansas, el frasco con arena y fenol para limpiar ansas antes de esterilizarlas, tubos con cultivos a estudiar, vórtex, frascos con perlas de vidrio, pinza, tubos marcados para las suspensiones y un frasco con solución de cloro 5g/l para descartar pinzas o tapones.
- f. Abrir con cuidado cada tubo. Si tuviera tapa de algodón, sacarla con una pinza y desecharlo en el frasco para las pipetas y conservar el tapón de goma sobre la base de la cabina apoyado en su base externa. Una vez extraído el cultivo, tapar el tubo con el tapón de goma.
- g. El mango del ansa no debe medir más de 15 cm, para evitar vibraciones y pérdida del material en el momento de transferirlo, el aro debe estar completamente cerrado y no debe tener más que 5 mm de diámetro
- h. El ansa a usar debe estar completamente fría antes de ser introducida en una muestra.
- i. Luego de ser usada el ansa, introducirla en el frasco que contiene arena cubierta con fenol, limpiarla con movimientos circulares por la arena y luego quemar todo el alambre hasta que se ponga rojo, en el incinerador de ansas. No re-utilizar nuevamente el asa hasta que se haya enfriado.
- j. Agitar las suspensiones de cepas dentro de la cabina.
- k. Retirar de la cabina las ansas, esterilizador de ansas, el frasco con arena y fenol, vórtex y frascos con pinza y tapones.
- l. Desechar los tubos con cultivos y frascos con perlas de vidrio utilizados con las tapas de cada tubo y frasco cerrado herméticamente en el cesto para material a reciclar.
- m. Colocar en la cabina la gradilla con los tubos para una prueba y los tubos de medio para sembrar esa prueba. Una vez sembrados, llevar a

- la cámara de cultivo y descartar las suspensiones asegurando el cierre hermético de la tapa de cada tubo en el cesto para material a reciclar.
- n. Lectura de pruebas: hacerla en la misma cámara de cultivo o en la sección A.
  - o. Descartar los tubos, frascos con medios de cultivos cuya incubación haya finalizado, luego de leer y registrar el resultado, con o sin desarrollo, en una bolsa autoclavable dentro de un canasto donde serán autoclavados.
  - p. Si se usaron placas, estas deben ser ubicadas dentro de bolsas autoclavables para poder ser desechadas luego del autoclavado.

#### 4.4.5 Procesamiento de Pruebas de Identificación

Para la realización de las mismas así como de los repliques de las cepas, se debe recordar que **el riesgo es máximo cuando se abren tubos con cultivos debido a la cantidad de bacilos**. Tanto para los repliques como para las pruebas, se deben seguir exactamente las mismas indicaciones que para la realización de pruebas de sensibilidad.

La prueba de niacina se debe realizar utilizando el equipo comercial BD TB mediante las tiras de niacina que no implica manipulación con reactivos tóxicos, como el bromuro de cianógeno.

#### 4.5 Manipulación y uso de desinfectantes

Se aconseja usar fenol al 5% o solución de 5g/l de cloro libre (solución recientemente preparada y mantenida en lugar fresco, al abrigo de la luz) para tratar muestras y todo lo que haya estado en contacto con las ellas (derrames). (Anexo: POTB12-01).

Para la desinfección de superficies y pisos se aconseja solución de 1g/l de cloro libre. (Anexo: PODYR15-02).

- Manipular con mucho cuidado el fenol. Es una sustancia corrosiva. Mantener el fenol acuoso en frascos con cierre hermético, en un lugar fresco, al abrigo de la luz y preferentemente en un lugar de almacenamiento alejado del área de trabajo.
- Mantener el fenol al 5% al alcance de la mano, en frascos con cierre hermético que evite que se escapen vapores.
- Evitar el contacto directo del fenol con la piel o mucosas. Utilizar guantes para manipularlo.

#### **4.6 Manipulación de otras sustancias químicas**

- Manipular con mucho cuidado los ácidos concentrados. Agregar siempre el ácido al agua y no al revés
- No dejar envases con alcohol ni utilizarlo cerca de la llama del mechero para evitar que se prenda fuego y posibles quemaduras

#### **4.7 Contingencia ante Accidentes y/o Derrames Biológicos**

- Si se produjera un derrame actuar según POTB12-01.
- Si se produce herida cortante o punzante en el momento en que se está manipulando muestras, extendidos, o material descartado, lavarse las manos o zona afectada de inmediato con abundante agua y jabón y aplicarse inmediatamente etanol al 70-80%.
- Si se produce una salpicadura que afecte el ojo con material potencialmente infeccioso o un reactivo, lavarlo con agua destilada o solución fisiológica estériles.
- Si se produce contacto con un ácido concentrado, lavar la zona y ropa afectada con abundante agua.
- Toda vez que se hubiera producido una herida, el contacto de una herida o penetración cutánea o por mucosas con material en el que se han detectado bacilos, después del urgente lavado y limpieza local, debe ser consultado un médico para que controle al trabajador y disponga la administración de quimioprofilaxis si es pertinente.

- Tener a mano en lugar bien visible en el laboratorio el nombre y teléfono del jefe de Programa de Tuberculosis de la provincia de Santa Fe que se pueda recurrir en caso de accidente grave.
- Comunicar al jefe de la División el accidente luego de tomar las medidas descriptas y efectuar la denuncia en la ART.
- Registrar cada incidente o accidente haciendo constar la fecha, el nombre de la(s) persona(s) involucrada(s) y el número que identifica la(s) muestra(s) o el/los aislamiento(s) que estaba manipulando. El resultado del cultivo y eventualmente de la prueba de sensibilidad correspondiente a este material permitirá orientar la quimioprofilaxis del laboratorista en el caso en que el médico que lo asiste decida administrarla

## **5. BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO DE LEPTOSPIROSIS**

## **5.1 Riesgos en el laboratorio**

El agente investigado en este laboratorio: *Leptospira* spp, puede estar presente en la orina, en la sangre y en los tejidos de animales y seres humanos infectados. La ingestión, la inoculación parenteral accidental y el contacto directo e indirecto de la piel o de las membranas mucosas con cepas, cultivos, tejidos infectados o con fluidos corporales, especialmente con la orina, son los principales riesgos de laboratorio. No se conoce la importancia de la exposición por aerosoles. Además de este patógeno, en las muestras procesadas también pueden estar presentes otros agentes infecciosos. Para el desarrollo de las actividades en este laboratorio se recomiendan las prácticas microbiológicas y los equipos del Nivel de Bioseguridad 2.

## **5.2 Instalaciones y diseño del Laboratorio**

### **5.2.1 Características del diseño del Laboratorio**

Cada laboratorio:

1. Debe estar diseñado para que pueda limpiarse fácilmente.
2. Debe estar construido con mesas de trabajo, impermeables al agua, resistentes a los solventes orgánicos, ácidos, álcalis y sustancias químicas empleadas para descontaminar las superficies y equipos de trabajo.
3. Debe contener espacios entre mesas de trabajo, gabinetes y equipos accesibles para su limpieza.
4. Debe contener sillas y otros muebles utilizados en el trabajo de laboratorio cubiertos por un material que se limpie fácilmente.
5. Debe contener un gabinete de seguridad biológica (CSB) instalado lejos de puertas y ventanas y de otros equipos potencialmente interruptores, de manera de minimizar las fluctuaciones del aire que puedan afectar los parámetros para la contención.
6. Debe contener iluminación adecuada para cada una de las actividades, evitando los reflejos y el brillo que puedan molestar la visión.
7. Debe contener un sistema de circulación de aire.
8. Debe contener lavatorios para el lavado de manos, lavado de ojos y duchas.

### **5.2.2 Organización del Laboratorio**

El laboratorio de leptospirosis estará dividido en 2:

- El Laboratorio 1 será el área limpia, destinada a la preparación de medios de cultivo y todo tipo de reactivos que necesiten para su preparación un área estéril. Este sector tendrá una entrada independiente en el pasillo de circulación general y estará comunicado con el Laboratorio 2 por una ventana de paso, por donde se ingresará el material limpio al laboratorio 2.
- El laboratorio 2 tendrá su entrada también ubicada en el pasillo de circulación general. Estará dividido en tres sectores, con una puerta de salida en el lado opuesto al ingreso, para retirar el material contaminado. En el sector 1 estará destinado a la observación y repiques de cepas y aislamientos, y lectura del Test de Microaglutinación (MAT) en microscopio de campo oscuro. Este sector será cerrado para lograr la total oscuridad cuando sea necesaria para la observación microscópica. En el sector 2 se realizará la recepción de muestras biológicas y su registro, las técnicas serológicas de screening: Test de Macroaglutinación (TR) y ELISA (1º Parte) y la técnica serológica confirmatoria MAT. Además se realizará el cultivo de fluidos corporales y tejidos, y la extracción de material genético para las técnicas de biología molecular. Finalmente en el sector 3 se llevará a cabo la 2º parte del ELISA y la descontaminación del material.

### **5.3 Elementos de protección personal**

- 1- Se deberán utilizar guardapolvos y/o batas de uso exclusivo en el laboratorio. En el caso de manipulación de cepas es indispensable el uso de una bata descartable sobre el guardapolvo, que será desechada al finalizar la jornada (POLEP03-01).
- 2- Se deberá utilizar calzado cerrado de uso exclusivo en el laboratorio.
- 3- Se deberán usar guantes mientras se trabaje con materiales infecciosos o probablemente infecciosos, superficies o equipos contaminados. Se deberán descartar los guantes cuando están manifiestamente contaminados, cuando se completa el trabajo con los materiales infecciosos o cuando está comprometida la integridad del guante. Los guantes descartables no se lavan, no se vuelven a usar ni se utilizan para tocar superficies "limpias" (teclados, teléfonos), y no se deben usar fuera del laboratorio.



#### **5.4 Equipos de Seguridad**

Se deben utilizar Cabinas de Seguridad Biológica (CSB) Clase II en los siguientes casos:

- 1- Siempre que se manipule material infeccioso (fluidos y tejidos humanos o animales, manejo de cultivos de cepas y aislamientos). (POLEP03-01).
- 2- Cuando haya un alto riesgo de infección transmitida por vía aérea. Debido a que se desconoce el contenido real de las muestras biológicas derivadas para diagnóstico al laboratorio, la apertura del envase primario deberá realizarse siempre en CSB. (POLEP10-01).
- 3- Cuando se utilicen procedimientos con posibilidades de producir aerosoles, como la centrifugación, trituración, homogeneización, agitaciones o mezclas vigorosas y la apertura de recipientes de materiales infecciosos cuyas presiones internas puedan ser distintas a la presión ambiente. Este es el caso particular para la preparación de antígeno para TR, ya que se utiliza jeringa para la pulverización del sedimento.

#### **5.5 Prácticas apropiadas de laboratorio**

- 1- Todos los procedimientos se deberán realizar con cuidado a fin de minimizar la generación de salpicaduras o aerosoles.
- 2- No estará permitido comer, beber, fumar, manipular lentes de contacto y usar maquillaje en las áreas de trabajo.
- 3- Los alimentos deberán almacenarse fuera del área de trabajo en gabinetes o refrigerados designados exclusivamente a tal fin.
- 4- Se deberá mantener el orden, la limpieza y la organización del trabajo todos los días.
- 5- Estará prohibido pipetear con la boca, se deberán utilizar dispositivos pipeteadores mecánicos.
- 6- Se deberá tener precaución con los materiales punzantes o cortantes contaminados, incluyendo las agujas y jeringas, portaobjetos para microscopio y pipetas. El uso de agujas y jeringas y otros instrumentos punzantes o cortantes deberán quedar restringidos en el laboratorio para cuando no haya otra alternativa. El material de vidrio se sustituirá por material plástico, en la medida de lo posible.

- 7- En el laboratorio se recibirán muestras de suero, pero no se realizará extracción de sangre. Solamente se utilizarán jeringas y agujas en los procesos de obtención de los antígenos para desarrollo de reactivos. Las agujas descartables utilizadas se colocarán con cuidado en recipientes resistentes a punciones para ser descartado posteriormente en bolsa para residuos patológicos.
- 8- En caso de accidentes, no se deberán manipular directamente con las manos los artículos de vidrio rotos, sino que deben retirarse por medios mecánicos como pinza, o cepillo y pala. (POLEP13-01)
- 9- Se deberán usar asas de plásticos desechables para trabajar con cultivos de cepas y aislamientos. También se podrán utilizar incineradores eléctricos de asas dentro de la CSB para reducir la formación de aerosoles.
- 10- Los frascos y tubos que se utilicen deberán tener tapa a rosca para asegurar el cierre hermético.
- 11- Los tubos con cultivos de cepas o aislamientos se descontaminarán mediante autoclave. Los tubos de vidrio serán posteriormente lavados para su reutilización, mientras que los de plásticos se descartarán en bolsa de residuos patológicos. (POEL19-02, POEL16-02).
- 12- Otros materiales de plástico o vidrio re-utilizables que estuvieron en contacto con material biológico y/o infeccioso, se descontaminarán en recipientes conteniendo una solución de cloro (1 g/l), durante 24 hs, previo al lavado. (POEL16-02)
- 13- Los tejidos, fluidos corporales, o cualquier desecho potencialmente infecciosos se deberán colocar en un recipiente con lavandina (5 g/l) con tapa, para descontaminar. Luego se deberán desechar como residuo patológico (PODYR15-02).
- 14- Las superficies de trabajo se deberán descontaminar luego de finalizar el proceso o al finalizar la jornada laboral, y luego de cada derrame o salpicadura de material infeccioso, con desinfectantes efectivos contra los agentes en cuestión. (POLEP13-01, PODYR15-02)
- 15- Los equipos como centrifugas y CSB deberán descontaminarse al finalizar el trabajo, y especialmente cuando se producen derrames evidentes, salpicaduras u otra contaminación por materiales infecciosos. (PODYR05-01, POLEP13-01).

- 16- Los residuos patológicos se deberán retirar del laboratorio al finalizar cada jornada de trabajo y se llevarán al área de depósito transitorio hasta que sean retirados por la empresa correspondiente. (PODYR21-02)
- 17- Se recomienda una práctica adecuada del lavado de manos, abriendo la canilla con una toalla de papel limpia que se descarta y luego de lavarse las manos también se cierra con una toalla limpia. (PODYR08-01).

### **5.6 Gestión de la Bioseguridad**

- 1- El jefe de la sección Leptospirosis deberá restringir el acceso al laboratorio cuando se está trabajando. El jefe será quien tenga la responsabilidad final de evaluar cada circunstancia y determinar quién puede ingresar o trabajar en el laboratorio.
- 2- El jefe de la sección Leptospirosis deberá garantizar que el personal de laboratorio y asistencia reciba la capacitación adecuada sobre los posibles riesgos asociados con el trabajo en cuestión y las precauciones necesarias para evitar exposiciones. El personal recibirá las actualizaciones anuales o instrucciones adicionales según sea necesario conforme a las modificaciones de procedimientos o políticas.
- 3- La seguridad de laboratorio incumbe asimismo a todos los supervisores y empleados del laboratorio; cada empleado deberá ser responsable de su propia seguridad y de la de sus colegas. Se espera de los empleados que lleven a cabo su trabajo en condiciones de seguridad y comuniquen a sus supervisores cualesquiera actos, condiciones o incidentes que atenten contra la seguridad.

### **5.7 Vigilancia de la salud.**

- 1- El personal del laboratorio deberá someterse a las inmunizaciones correspondientes al personal de laboratorio como hepatitis B. Actualmente en Argentina, no hay vacunas de Leptospirosis disponibles para su uso en humanos
- 2- Se deberá informar de inmediato al director del laboratorio, al director del Instituto y a la ART los accidentes que deriven en exposiciones evidentes a los materiales infecciosos.

## **6. BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO DE AGENTES RESPIRATORIOS**

### 6.1 Organización del laboratorio.

El laboratorio se divide en dos áreas: el área de procesamiento de muestras biológicas, y el área administrativa separada físicamente del área anterior.

En el área de procesamiento de muestras se efectúan las actividades que se detallan a continuación:

- ♣ Recepción de muestras respiratorias y muestras de sangre: Hisopado nasal, Aspirado nasofaríngeo (ANF), sangre entera y suero e ingreso en registros de laboratorio.
- ♣ Procesamiento de hisopados nasales, ANF y sangre, preparación de las muestras, rotulado, almacenamiento.
- ♣ Detección de antígeno viral para Virus sincicial respiratorio, Influenza, Parainfluenza, Adenovirus por inmunofluorescencia en muestras respiratorias habitualmente Aspirado nasofaríngeo, o hisopado nasal.
- ♣ Cultivo en líneas celulares de muestras respiratorias para el aislamiento de Influenza y Adenovirus.
- ♣ Hemaglutinación de los cultivos de Influenza para realizar su posterior caracterización.
- ♣ Extracción y agregado de ADN, ARN; para la realización de la técnica de Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para diagnóstico y caracterización molecular de virus respiratorios: Rinovirus, Adenovirus, Metapneumovirus, Bocavirus, Influenza.
- ♣ Extracción y agregado de ADN para la realización de la técnica de Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección de *Streptococcus pneumoniae*.

Para el desarrollo de las actividades en este laboratorio se recomiendan las prácticas microbiológicas y los equipos del Nivel de Bioseguridad 2.

A continuación se describen los agentes que estarían presentes en las muestras biológicas procesadas en el área.

**Agentes:** Influenza-Virus Sincicial Respiratorio-Adenovirus-Parainfluenza-Bocavirus, Metapneumovirus, *Streptococcus pneumoniae*, que causan infección respiratoria aguda tanto en niños como en adultos.

*Riesgos de laboratorio:* El agente puede estar presente en tejidos o secreciones respiratorias humanas. El principal riesgo de laboratorio es la inhalación del virus a partir de aerosoles generados por la preparación o la mezcla de muestras o cultivos celulares infectados por el virus.

## 6.2 Diseño e Instalaciones.

1. El laboratorio dispone de dos box abiertos donde se ubican las dos cabinas de seguridad biológica.
2. Las paredes, los techos y el piso son lisos, fáciles de limpiar y resistentes a desinfectantes normalmente utilizados en el laboratorio. Las paredes no poseen revestimiento epoxi que las hacen impermeables a los líquidos.
3. Las superficies de trabajo tales como mesadas una es de acero inoxidable, y la otra es de madera y mampostería y por lo tanto no es impermeables y resistentes a químicos y no es fácil la limpieza.
4. La iluminación es adecuada para todas las actividades. Se evitarán los reflejos y brillos molestos.
5. El espacio es suficiente para guardar los artículos de uso inmediato.
6. En la sala del laboratorio hay una bacha de lavado con agua corriente.
7. Las puertas se mantienen cerradas y llevan las debidas señales de riesgo biológico.
8. Las puertas del laboratorio son de madera.
9. La instalación eléctrica no es adecuada a las normas.
10. Los sistemas de seguridad comprenden medios de protección contra incendios, así como duchas para casos de urgencia y medios para el lavado de los ojos.
11. Hay un sistema de iluminación de emergencia que permite salir del laboratorio en condiciones de seguridad.

### 6.3 Prácticas Microbiológicas

- Se limita o restringe el acceso al laboratorio cuando se están realizando experimentos. No se permite dentro del laboratorio la presencia de personas que tienen un mayor riesgo de adquirir la infección o para quienes la infección puede tener graves consecuencias: Ejemplo, las personas inmunocomprometidas o inmunodeprimidas.
- Mantener el orden, la limpieza y la organización del trabajo todos los días.
- Las agujas descartables utilizadas no se deben doblar, cortar, romper, recubrir o retirar de las jeringas descartables, se deben colocar con cuidado en recipientes resistentes a punciones para la disposición de objetos punzantes.

**Todos los procedimientos se realizan con cuidado a fin de minimizar la generación de salpicaduras y/o aerosoles.**

- No utilizar secadores de pelo para favorecer el secado de improntas de muestras respiratorias. Se deben secar en las cabinas de bioseguridad a temperatura ambiente.
- Las superficies de trabajo como mesadas y azulejos se descontaminan luego de finalizar el trabajo, y antes de comenzar cada jornada de trabajo con una solución de 1g/l de cloro (Anexo: PODYR15-02).
- Cuando ocurre un derrame o salpicadura de material viable con una solución de 5g/l de cloro (Anexo: POAR14-01).
- El material biológico debe llegar al laboratorio en perfectas condiciones de limpieza (sin derrames) y herméticamente cerrado, cumpliendo con el embalaje de triple envase.
- Se debe utilizar siempre recipientes con una solución de 5g/l de cloro libre para el descarte de pipetas, tips durante el procesamiento, previo a la eliminación en bolsa roja.
- Las gradillas, y todo tipo de material plástico como insumos del equipo de extracción automatizada deben descontaminar con una solución al 5g/l luego de ser utilizadas.

- Los cestillos de las centrifugas se deben descontaminar con alcohol 70 %, al terminar la jornada de trabajo.
- El material de vidrio reutilizable es llevado al área del laboratorio para su autoclavado y posterior lavado del material.
- Los cultivos, tejidos, fluidos corporales o desechos potencialmente infecciosos se colocan en un recipiente plástico con tapa que evita las filtraciones durante el procesamiento (centrifugación, agitación), almacenamiento, transporte o envío.
- En los procedimientos de centrifugación no emplear tubos sin tapa, ni de vidrio, emplear tubos plásticos irrompibles con cierre hermético y en lo posible usar canastas con tapa y rotores con la tapa provista.
- Todos los cultivos, stocks y otros desechos se deben descontaminar y eliminarse a través del servicio de residuos patológicos.
- Los residuos patológicos se deben retirar del laboratorio al finalizar cada jornada de trabajo y llevar al área de depósito transitorio hasta que sean retirados por la empresa correspondiente.

#### **6.4 Equipo de Seguridad**

- Todas las prácticas de laboratorio que impliquen manipulación con material potencialmente infeccioso (muestras respiratorias, líneas celulares) se debe realizar en cabinas de bioseguridad de Clase II debido a los procedimientos que puedan generar aerosoles o salpicaduras infecciosas (tales como: recepción de la muestra, preparación y secado de improntas de muestras respiratorias, mantenimiento de líneas celulares, inoculación de muestras en líneas celulares, cultivo, extracción de ADN, etc.). (Anexo: PODYR05-01; POAR11-01; POAR14-01).
- Sólo se lleva a cabo fuera de la cabina la fijación y la coloración de las improntas para inmunofluorescencia.
- Instalar gabinetes de seguridad biológica de tal manera que las fluctuaciones del aire de entrada y escape de la sala no hagan funcionar a los gabinetes de seguridad biológica fuera de sus parámetros para contención. Coloque los gabinetes lejos de las



puertas, de las ventanas que se pueden abrir, de las áreas del laboratorio de mucho tránsito.

- Los gabinetes de seguridad se deben descontaminar con alcohol 70% y luz ultravioleta antes y después de cada jornada de trabajo (Anexo: PODYR05-01).
- Garantizar el servicio de verificación anual de velocidad de flujo, capacidad de filtración de partículas, ausencia de fugas y eficiencia de lámparas de luz ultravioleta de los equipos.
- El personal debe utilizar ropa de protección y elementos de seguridad personal. Se deben retirar y dejar esta ropa de protección en el laboratorio antes de dirigirse a otras áreas (por ejemplo, cafetería, biblioteca, oficinas administrativas). La ropa como guardapolvos o ambos deben primero desinfectarse en el lugar de trabajo antes de llevarla a su casa. (Anexo: POAR04-01; PODYR08-01; PODYR06-01).
- Se deben usar guantes cuando es posible que las manos entren en contacto con materiales infecciosos, superficies o equipos contaminados o bien con mutágenos y carcinógenos. Se descartan los guantes cuando están manifiestamente contaminados, y se retiran cuando se completa el trabajo con los materiales infecciosos o cuando está comprometida la integridad del guante. Los guantes descartables no se lavan, no se vuelven a usar ni se utilizan para tocar superficies “limpias” (teclados, teléfonos, entre otras), y no se deben usar fuera del laboratorio. Se deben usar guantes adecuados para evitar crioquemaduras cuando se trabaja con tanques de nitrógeno líquido o freezer. Se deben higienizar las manos después de retirarse los guantes y antes de retirarse del laboratorio (Anexo: PODYR08-01).
- Usar protectores respiratorios N95 para las tareas que impliquen la manipulación de cultivos de virus, o ante un derrame (Anexo: PODYR06-01).

### **6.5 Limpieza de Instalaciones.**

Los pisos de los laboratorios se deben limpiar con una solución de 1g/l de cloro.

No se debe barrer ni usar plumero.

## 7. Desinfección y Esterilización

Los requisitos particulares de la descontaminación dependerán del tipo de trabajo experimental y de la naturaleza de los agentes infecciosos que se estén manipulando.

Los tiempos de contacto con los desinfectantes son distintos para cada material y cada fabricante. Así pues, todas las recomendaciones para el uso de desinfectantes deben seguir las especificaciones del fabricante.

### 7.1 Definiciones

**Antimicrobiano** – Agente que mata los microorganismos o suprime su crecimiento y proliferación.

**Antiséptico** – Sustancia que inhibe el crecimiento y el desarrollo de microorganismos pero no necesariamente los mata. Los antisépticos suelen aplicarse a las superficies corporales.

**Biocida** – Término general para cualquier agente que mate organismos.

**Descontaminación** – Cualquier proceso utilizado para eliminar o matar microorganismos. También se utiliza para referirse a la eliminación o neutralización de sustancias químicas peligrosas y materiales radioactivos.

**Desinfección** – Medio físico o químico de matar microorganismos, pero no necesariamente esporas.

**Desinfectante** – Sustancia o mezcla de sustancias químicas utilizada para matar microorganismos, pero no necesariamente esporas. Los desinfectantes suelen aplicarse a superficies u objetos inanimados.

**Esporicida** – Sustancia o mezcla de sustancias químicas utilizadas para matar microorganismos y esporas.

**Esterilización** – Proceso que mata o elimina todas las clases de microorganismos y esporas.

**Germicida químico** – Sustancia o mezcla de sustancias químicas utilizada para matar microorganismos.

**Microbicida** – Sustancia o mezcla de sustancias químicas que mata microorganismos. Este término se utiliza a menudo en lugar de «biocida», «germicida químico» o «antimicrobiano».

Todo material reutilizable correspondiente a los laboratorios de tuberculosis, leptospirosis o Virus y Bacterias Respiratorias y antes de proceder a la limpieza de los mismos se deben descontaminarse por autoclave.

## **7.2 Cloro (hipoclorito sódico)**

El cloro, oxidante de acción rápida, es un germicida químico de uso muy extendido y de amplio espectro. Normalmente se vende en forma de lavandina, una solución acuosa de hipoclorito sódico (NaOCl) que puede diluirse en agua para conseguir distintas concentraciones de cloro libre.

El cloro, es sumamente alcalino y puede ser corrosivo para los metales. Su actividad se ve considerablemente reducida por la materia orgánica (proteínas). Las soluciones madre o de trabajo almacenadas en recipientes abiertos, particularmente a temperaturas elevadas, liberan cloro gaseoso con lo que se debilita su potencial germicida. La frecuencia con la que deben prepararse nuevas soluciones de trabajo depende de su potencia inicial, del tamaño y el tipo de los recipientes (por ejemplo, con o sin tapa), de la frecuencia y el tipo de uso, y de las condiciones ambientales. A título de orientación general, las soluciones que reciban materiales con gran cantidad de materia orgánica varias veces al día deben cambiarse al menos diariamente, mientras que aquellas que se usan con menos frecuencia pueden durar hasta una semana.

Como solución desinfectante general para toda clase de trabajos de laboratorio se utilizará una concentración de 1 g/l de cloro libre. En caso de derrame que conlleve un peligro biológico y en presencia de grandes cantidades de materia orgánica, se recomienda utilizar una solución más concentrada, que contenga 5 g/l de cloro libre. Las soluciones de hipoclorito sódico, como la lavandina 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 (Anexo PODYR15-02).

El cloro gaseoso es sumamente tóxico. Por esa razón, la lavandina debe almacenarse y utilizarse solamente en zonas bien ventiladas. Además, la lavandina no debe mezclarse con ácidos para evitar la liberación rápida de cloro gaseoso.

### **7.3 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 (véase más adelante el apartado sobre descontaminación ambiental de 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.

### **7.4 Compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos, un grupo amplio de productos, figuran entre los germicidas más antiguos. Sin embargo, los resultados de estudios de inocuidad más recientes recomiendan restringir su uso. 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. Los compuestos fenólicos desnaturalizan proteínas y tienen un efecto detergente sobre lípidos. Su acción

bactericida depende fuertemente de la destrucción de la membrana y la lisis celular ya que la muerte va acompañada de descarga de material citoplasmático en el medio. Mantienen su actividad en presencia de materia orgánica. Dos de estos compuestos que se usan como desinfectantes son el orto-fenilfenol y el orto-bencil-p-clorofenol. La actividad del fenol se incrementa por el agregado de jabón. Se usa para pisos y paredes, pero son corrosivos para equipos de acero inoxidable. La actividad antibacteriana del fenol se puede aumentar con el agregado de sustituyentes de tipo alquilo o halógenos que aumentan la polaridad del grupo OH y disminuyen la solubilidad en agua. Los sustituyentes de cadena corta aumentan la potencia del fenol más o menos en igual grado para una variedad de microorganismos. Tienen acción sobre virus con cubierta lipídica (influenza), pero no actúan sobre virus sin envolturas; el HIV se inactiva con una solución al 0,5%; actúa sobre bacterias vegetativas, pero no sobre sus esporas y sobre *M. tuberculosis* y hongos en la forma vegetativa en concentración del 2% pero no sobre sus esporas. Tienen el inconveniente que son tóxicos, carcinogénicos y corrosivos. La exposición prolongada daña la piel. No deben eliminarse a través de los desagües, ni siquiera diluidos. Los procedimientos de destrucción química están fuera de las posibilidades de los laboratorios. Deberán ser separados en recipientes específicos y transferirlos a un gestor autorizado de residuos. (Anexo PODYR15-02).

### **7.5 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. 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 friegas 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 llamas desnudas. Las soluciones de trabajo deben almacenarse en recipientes apropiados para evitar la evaporación. Los alcoholes pueden endurecer el caucho y disolver ciertos tipos de cola. 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. (Anexo PODYR15-02).

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

Las superficies pueden descontaminarse con una solución que contenga 1 g/l de cloro libre puede ser apropiada para la limpieza general, pero recomiendan soluciones más potentes (5 g/l) cuando se trate de situaciones de alto riesgo.

### **7.6.1 Mantenimiento de refrigeradores**

Limpiar y desinfectar periódicamente con una solución que contenga 1 g/l de cloro libre los refrigeradores utilizados para mantener muestras de pacientes o cultivos positivos. El personal de laboratorio entrenado debe hacerse cargo de esta tarea utilizando los elementos de protección personal.

## **7.7 Desinfección y esterilización por calor**

El calor es el agente físico más utilizado para la descontaminación de patógenos. 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 una a cuatro horas (POEL17-02).

El calor «húmedo» es especialmente eficaz cuando se utiliza en autoclave. Los artículos esterilizados deben manipularse y guardarse de forma que se mantengan descontaminados hasta que se vuelvan a utilizar (POEL18-02).

### **7.8 Descontaminación de material contaminado por autoclavado.**

En general, lo más eficiente para esterilizar material de vidrio, instrumentos, soluciones contaminadas, etc (Anexo: POEL19-02). Para que una autoclave funcione de manera óptima hay dos factores esenciales: 1) todo el aire en la cámara debe ser sustituido por vapor, y 2) la temperatura debe ser de 121 °C.

#### **7.8.1 Tratamiento en autoclave**

Para la mayoría de los propósitos, los ciclos siguientes garantizarán la esterilización del contenido de la autoclave siempre que se haya cargado correctamente:

El laboratorio dispone de dos autoclaves eléctricos automatizados, uno que se utiliza para la descontaminación del material contaminado y otro para la esterilización de material no contaminado. Las instrucciones de uso para el autoclave eléctrico automatizado marca Selecta son las siguientes:

- 1)- Encender el equipo y abrir la tapa.
- 2)- **APAGAR** el equipo para colocar el material a esterilizar en el autoclave.
- 3)- Poner agua destilada hasta el nivel del cubrerresistencias.
- 4)- Encender nuevamente el equipo y cerrar la tapa.
- 5)-Asegurarse que la válvula manual vaciado (parte trasera izquierda) esté cerrada.
- 6)-Cerrar la válvula de vaciado de vapor (parte trasera derecha).
- 7)- Verificar el programa.
- 8)- Iniciar el ciclo.
- 9)- Para abrir la tapa la presión debe ser 0 Bar, la temperatura inferior a 95° y la válvula manual de vapor (parte trasera derecha) abierta. Cuando la tapa

esté lista para ser abierta el display superior muestra la palabra **“End”** y el otro display muestra **“P0”**.

10)- Cambiar el agua después de 30 ciclos de uso.

#### **RECOMENDACIONES PARA EVITAR ACCIDENTES.**

- 1). No tomar contacto con el equipo mientras esté el mismo conectado a la corriente eléctrica.
- 2). Utilizar guantes resistentes a altas temperaturas.
- 3). Desconectar de la corriente eléctrica para ingresar y retirar el material del autoclave.
- 4) **NO ABRIR LAS VALVULAS TRASERAS HASTA QUE EL CICLO NO ACABE COMPLETAMENTE PARA EVITAR QUEMADURAS.**

#### ***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 a presión.

1. El manejo y el mantenimiento ordinario deben ser responsabilidad de personas adiestradas.
2. 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.
3. El vapor de agua estará saturado y exento de sustancias químicas (por ejemplo, inhibidores de la corrosión) que podrían contaminar los objetos que se están esterilizando.
4. Todo el material debe colocarse en recipientes que permitan una fácil evacuación del aire y una buena penetración del calor; la cámara no estará sobrecargada, de modo que el vapor alcance por igual a toda la carga.
5. 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.
6. Cuando se introduzcan líquidos en la autoclave, la evacuación debe ser lenta, pues al sacarlos pueden hervir debido al sobrecalentamiento.
7. Los trabajadores deben llevar guantes y viseras de protección apropiadas al abrir la autoclave, incluso cuando la temperatura haya bajado por debajo de los 80 °C.

8. En la vigilancia regular del funcionamiento de la autoclave, se colocarán indicadores biológicos o termopares en el centro de cada carga. La vigilancia regular mediante termopares y dispositivos de registro colocados en una carga «más desfavorable» es sumamente conveniente para determinar los ciclos de funcionamiento más adecuados.

9. El filtro de la rejilla de drenaje de la cámara (si existe) debe retirarse y limpiarse todos los días.

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

### **7.9 Limpieza del material de laboratorio**

La limpieza consiste en la eliminación de suciedad, materia orgánica y manchas. Incluye el cepillado, el lavado o el fregado con un paño y agua con detergente neutro. La suciedad, la tierra y la materia orgánica pueden albergar 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 (POEL16-02).

### **8. Transporte de sustancias infecciosas**

Los agentes etiológicos y las sustancias infecciosas son términos estrechamente vinculados que se encuentran en las reglamentaciones de transferencia y de transporte. Los agentes biológicos pueden presentarse como cultivos purificados y concentrados pero también pueden estar presentes en una serie de materiales como los fluidos corporales, los tejidos, las muestras del suelo, etc. El transporte se refiere al envasado y envío de estos materiales por vía aérea, marítima o terrestre, realizado, por lo general, por un medio de transporte comercial. La transferencia se refiere al proceso de intercambiar estos materiales entre las instalaciones.

El transporte de material infeccioso y potencialmente infeccioso está sometido a reglamentaciones nacionales e internacionales estrictas. El personal de laboratorio debe enviar las sustancias infecciosas de acuerdo con las normas de transporte aplicables, cuyo cumplimiento permitirá:

1. reducir la probabilidad de que los embalajes/envases se estropeen y derramen su contenido
2. reducir el número de exposiciones que den lugar a posibles infecciones
3. mejorar la eficiencia de la entrega de los envíos.

### **8.1 Reglamentación internacional**

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. Para que sea jurídicamente vinculante, la Reglamentación Modelo ha de ser introducida en las normas nacionales y las reglamentaciones modelo internacionales por las autoridades competentes (por ejemplo, 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 (ADR)*).

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.

### **8.2 El sistema básico de embalaje triple**

El sistema de embalaje/ensado triple, que es el preferible para el transporte de sustancias infecciosas y potencialmente infecciosas, se muestra a modo de ejemplo en la figura. Este sistema de embalaje/ensado 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 estanco, 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.

El embalaje/envase externo protege el embalaje/envase secundario de los daños físicos durante el transporte. Se debe identificar el remitente, el destinatario y el área (Área de Tuberculosis, Leptospirosis y Virus y bacterias respiratorias).

Los envases comerciales además están provistos del rotulado de sustancia infecciosa.

### **8.3 Procedimiento de limpieza de derrames**

En caso de que se produzca un derrame de material infeccioso o potencialmente infeccioso, se aplicará el siguiente procedimiento de limpieza:

1. Utilizar guantes y ropa protectora, e incluso protección facial y ocular
2. Cubrir el derrame con paños o papel absorbente para contenerlo.
3. Verter un desinfectante apropiado sobre el papel absorbente y la zona inmediatamente circundante (en general, son apropiadas las soluciones de 5g/l de cloro; sin embargo, para los derrames en aeronaves deben utilizarse desinfectantes a base de amonio cuaternario).
4. Aplicar el desinfectante en círculos concéntricos, comenzando por el exterior de la superficie del derrame y procediendo hacia el centro.
5. 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 a prueba de perforaciones para su eliminación.

6. Limpiar y desinfectar la zona afectada por el derrame (en caso necesario, repetir los pasos 2 a 5).
7. Colocar el material contaminado en un recipiente para desechos a prueba de fugas y de perforaciones.
8. Tras una desinfección satisfactoria, informar a las autoridades competentes de que el lugar ha quedado descontaminado.

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



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



## **9. Comité de bioseguridad**

La seguridad de laboratorio incumbe asimismo a todos los empleados del laboratorio; cada empleado deberá ser responsable de su propia seguridad y de la de sus colegas.

Se espera de los empleados que lleven a cabo su trabajo en condiciones de seguridad y comuniquen a sus supervisores cualesquiera actos, condiciones o incidentes que atenten contra la seguridad.

### **Funcionario de bioseguridad**

El funcionario de bioseguridad será en principio hasta que se cuente con un personal para dicha actividad, el responsable del departamento.

Su cuya misión consistirá en cerciorarse de que en todo el laboratorio se apliquen los planes y programas de bioseguridad.

Entre las actividades del funcionario de bioseguridad deben figurar las siguientes:

1. Atender consultas sobre protección biológica, bioseguridad y cumplimiento de las condiciones técnicas.
2. Realizar auditorías internas periódicas en materia de bioseguridad, en particular de los métodos, procedimientos y protocolos técnicos, los agentes biológicos, el material y el equipo.
3. Examinar las infracciones de los protocolos o los procedimientos de bioseguridad con las personas apropiadas.
4. Verificar que todo el personal ha recibido la capacitación apropiada en materia de bioseguridad.
5. Impartir formación continua en materia de bioseguridad.
6. Investigar incidentes que entrañen la posible fuga de material potencialmente infeccioso o tóxico, y comunicar los resultados y las recomendaciones al director del laboratorio y al comité de bioseguridad.
7. Coordinar con el personal médico la atención a posibles infecciones adquiridas en el laboratorio.
8. Asegurar una descontaminación apropiada tras los derrames u otros incidentes con materiales infecciosos.

9. Garantizar la correcta manipulación y eliminación de los desechos.
10. Velar por una descontaminación apropiada de cualquier aparato antes de su reparación o revisión.
11. Establecer procedimientos apropiados para la importación y exportación de material patógeno por el laboratorio, de acuerdo con la reglamentación nacional.
12. Revisar los aspectos de bioseguridad de todos los planes, protocolos y procedimientos de operación para el trabajo de investigación con agentes infecciosos antes de la puesta en práctica de esas actividades.
13. Instituir un sistema para hacer frente a las emergencias.

### **Comité de bioseguridad**

El comité de bioseguridad estará encargado de formular las políticas, elaborar y hacer cumplir los códigos de prácticas del Departamento en materia de bioseguridad. Las funciones del comité serán:

- Atender consultas sobre protección biológica, bioseguridad y cumplimiento de las condiciones técnicas.

- Realizar auditorías internas periódicas en materia de bioseguridad, en particular de los métodos, procedimientos y protocolos técnicos, los agentes biológicos, el material y el equipo.

- La formulación de nuevas políticas de seguridad y la solución de controversias sobre cuestiones relativas a la seguridad.

El comité de bioseguridad estará compuesto por un integrante de cada sección del laboratorio: Esterilización y Lavado, Tuberculosis, Leptospirosis y Virología.

El comité de bioseguridad debe recurrir al asesoramiento de distintos especialistas en seguridad y funcionarios de otros departamentos (protección radiológica, seguridad industrial, prevención de incendios, etc.). A veces puede ser necesario solicitar asesoramiento a expertos independientes en distintos campos afines, así como a las autoridades locales y a los organismos nacionales de reglamentación.

## 10. Control Médico e Inmunoprofilaxis

### ***Inmunizaciones:***

- Se aplicará inmunización contra hepatitis B a todo personal que ingrese a trabajar al laboratorio cuando no la tenga aplicada.
- Los trabajadores de salud que no presenten cicatriz de BCG y sean no reactivos a la tuberculina (prueba de Mantoux menor de 10 mm) deben recibir la vacuna con BCG al ingresar a trabajar.
- Se aplicará anualmente la vacuna contra influenza al inicio de cada temporada invernal.
- Se debe mantener un registro completo de las vacunas recibidas.

### ***Control Médico del personal:***

- Se debe realizar la prueba de Mantoux (PPD) al ingreso de cada personal, como dato inicial de control de infección.
- El personal cuya PPD sea negativa, todos los años debe realizarse la prueba. Si se produce el viraje tuberculínico iniciará la quimioprofilaxis para evitar el paso a enfermedad.
- Se debe realizar radiografía de tórax y bacteriología de esputo a todo personal que presente síntomas respiratorios.
- Se debe realizar radiografía de tórax anualmente al personal que realiza tareas en el laboratorio de tuberculosis.
- Se deben registrar todos los controles en el cuaderno de registro correspondiente.
- 

### **Accidentes de trabajo.**

En el caso que se produzca un accidente de trabajo, comunicarse a la Asegura de Riesgo de trabajo (ART) para realizar la denuncia correspondiente y recibir asistencia médica.



## **11. Reglas de seguridad para el personal de apoyo, proveedores y personal de visita al laboratorio**

### **Personal de mantenimiento del edificio y proveedores**

Este personal, dedicado al mantenimiento y reparación de la estructura, las instalaciones y el equipo, debe tener algunos conocimientos sobre el tipo de trabajo que se realiza en el laboratorio, así como de las normas y los procedimientos en materia de seguridad.

Las pruebas a las que hay que someter el equipo después de las revisiones, como la verificación de la eficiencia de las CSB tras la instalación de nuevos filtros, debe ser realizada por el funcionario de bioseguridad o efectuarse bajo la supervisión de éste.

Los mecánicos del personal de mantenimiento solamente deben acceder a los laboratorios con la aprobación y la supervisión de un profesional del laboratorio y con los elementos de protección necesarios. El personal deberá firmar el registro de entrega de elementos de protección personal.

### **Personal de limpieza**

El personal de limpieza debe tener algunos conocimientos sobre el tipo de trabajo que se realiza en el laboratorio, así como de las normas y los procedimientos en materia de seguridad.

El personal de limpieza del Instituto debe ingresar con los elementos de protección necesarios, de acuerdo a las normas de cada sección.

La empresa privada contratada sólo accederá a los sectores de oficina y cocina a realizar la limpieza correspondiente.

### **Personal de visita al laboratorio**

El personal externo que visite transitoriamente el laboratorio debe:

-Solicitar con anticipación la autorización para ingresar al laboratorio según el procedimiento de permanencia programada de personas externas.

-Debe completar la solicitud de permanencia de personas externas y la carta compromiso.

-Para el ingreso debe tener aprobada la autorización requerida y presentar fotocopia de la aseguradora de riesgo de trabajo (ART) correspondiente.

## **12. Programas de capacitación y evaluación del cumplimiento de las normas de bioseguridad**

**12.1** A continuación se enumeran los elementos fundamentales del programa de capacitación:

### *1. Evaluación de las necesidades.*

Serán definidas por el funcionario de bioseguridad junto con el comité de bioseguridad.

### *2. Especificación del contenido y los medios para la capacitación.*

El contenido son los conocimientos o las técnicas que debe dominar el alumno de acuerdo a los contenidos que definan el comité de bioseguridad junto con el funcionario de bioseguridad.

Para el método de enseñanza se utilizarán charlas, vídeos interactivos, material impreso.

### *3. Evaluación de la capacitación.* Se efectuará mediante:

-Evaluación del comportamiento en el trabajo.

-Evaluación de conceptos teóricos mediante ejercicios posteriormente a la culminación de la capacitación.

## **12.2. Evaluación del cumplimiento de las normas de bioseguridad.**

Mediante la guía de observación del cumplimiento de las normas de bioseguridad, se evaluará en cada sección el cumplimiento de las mismas. Esta evaluación se realizará trimestralmente por el jefe del departamento o jefes de división.

### **13. Bibliografía**

- Manual de Bioseguridad en el Laboratorio, Tercera Edición, Organización Mundial de la Salud, 2005.
- Guía de Protección Respiratoria 3M.
- Normas Técnicas del Programa Nacional de Tuberculosis
- Manual de Bioseguridad en el Laboratorio de Tuberculosis, OMS 2013.

## **14. ANEXOS**

Anexo1.

**GUÍA DE OBSERVACIÓN DEL CUMPLIMIENTO DE LAS  
NORMAS DE BIOSEGURIDAD  
DEPARTAMENTO DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA  
INER EMILIO CONI**

Fecha:.....  
 Servicio:.....  
 Personal observado:.....

NORMAS DE BIOSEGURIDAD	SI	NO	No aplica
1-Orden y limpieza adecuado en el laboratorio			
2-Utilización adecuada de guantes de latex.			
3-Utilización de batas descartables.			
4-Utilización de barbijos N-95			
5-Buenas prácticas en la cabina de seguridad biológica			
6-Utilización de PAPR (sólo para el servicio de TBC)			
7-Utilización de soluciones adecuadas para la descontaminación			
8-Utilización de depósito para cortopunzantes			
9-Gestión adecuada de residuos patológicos			
10-Utilización adecuada de indumentaria en áreas de riesgo y áreas limpias.			
11-Utilización adecuada de autoclaves y estufas			
12. Utilización de guantes resistentes al calor			
Observaciones:			

Firma de personas observadas: Firma de Evaluador:

