

Bioseguridad en Citometría de Flujo

El SNCF sugiere a los laboratorios adheridos las acciones para un trabajo acorde a sus prácticas en lo que refiere a bioseguridad. Aquí se detallan algunas de ellas.

1- Generalidades acerca de las situaciones de riesgo biológico en el laboratorio de citometría de flujo

Es responsabilidad de cada laboratorio evaluar el nivel de riesgo y decidir si se acepta o se rechaza la realización de un servicio. Se deben tener en cuenta, por ejemplo:

- ✓ Los riesgos asociados a sorting o análisis con celdas jet-in-air en comparación con celdas cerradas;
- ✓ La generación de aerosoles y los mecanismos que los generan;
- ✓ Los riesgos al colocar un tubo en el puerto de muestra;
- ✓ La potencial producción de aerosoles durante el “*priming*” en ciertos citómetros de flujo, o durante la apertura del bidón de descarte si éste no se hallara despresurizado.
- ✓ La utilización de respirador N95 en situaciones que lo requieran por el patógeno utilizado.

El laboratorio / instituto debería contar con un responsable de área que decida la factibilidad de la práctica / prestación.

2- Toma de decisiones: aceptación o rechazo de una solicitud de servicio de citometría de flujo atendiendo razones de bioseguridad

Se sugiere seguir el siguiente procedimiento para decidir la aceptación o rechazo de un servicio:

- a. *Evaluar la naturaleza de las muestras a adquirir mediante la utilización de la Hoja de Bioseguridad*
- b. *Considerar las prácticas que involucrarían la adquisición de las muestras (el tipo de citómetro a utilizar y su entorno)*
- c. *Definir el riesgo biológico*
- d. *Decir si se acepta o se rechaza la realización del servicio*

2-a Conocer la muestra con la que se va a trabajar y establecer su nivel de biorriesgo.

Se sugiere el uso de un formulario que funcione como una declaración del tipo de muestra a analizar (Hoja de Bioseguridad). Este formulario debería ser presentado por TODOS los usuarios ya que es una forma de documentar el tipo de muestra que ingresa al laboratorio. Es decir, debería ser completado tanto por quienes adquieren sus propias muestras como por aquellos usuarios que llevan las muestras hasta el laboratorio de citometría para que sean adquiridas por el personal técnico que opera el equipo.

Mediante la utilización de dicha herramienta, el operador puede conocer la naturaleza de la muestra a analizar, qué patógeno está presente en la misma, si el material está fijado o no, si se trata de una muestra humana de banco de sangre, etc.

2-b Conocer las prácticas, el instrumento y el entorno que se va a utilizar durante el análisis de citometría de flujo.

La importancia de la muestra para la evaluación del riesgo es innegable; pero en el mismo nivel de importancia se coloca la *evaluación del procedimiento* que se realizará en el laboratorio de citometría. Por ello, se deben evaluar las "situaciones del aparato, del laboratorio y las situaciones en las que existe la potencialidad de generación de aerosoles".

Como primera aproximación, se recomienda la lectura de los manuales de Bioseguridad de la OMS¹ para conocer la clasificación de los distintos niveles de bioseguridad (BSL1 a BSL4), así como los procedimientos o prácticas acordes a cada nivel.

Sin embargo, se debe tener en cuenta que aquellas son referencias, guías o lineamientos que no reemplazan la evaluación de riesgo en cada caso particular, ya que se deben conocer en profundidad las prácticas del laboratorio de citometría para poder contrastarlas con los requisitos necesarios para proteger al operador / usuario del riesgo biológico. Algunas prácticas o situaciones a tener en cuenta serían: determinar si el citómetro se encuentra en un espacio compartido con otros equipos, si se realiza análisis de muestras o separación celular (*sorting*), el número de usuarios en laboratorio mientras se está operando el citómetro, proximidad al lugar donde se descartan los desechos, etc.

2-c Definición del Biorriesgo.

Una vez que se han evaluado la naturaleza de las muestras y las prácticas del laboratorio, se definirá el riesgo biológico con el cual se trabajará de manera biosegura. Esta evaluación de Biorriesgo nos ayudará a tomar la decisión final:

2-d Aceptación o rechazo de la muestra.

Sobre la base de la evaluación y análisis exhaustivo no solo de la muestra a analizar sino también de los recursos disponibles en el laboratorio, se decidirá la factibilidad de análisis de una muestra dada.

2-1 Cómo abordar el caso de usuarios externos al laboratorio de citometría que operan el citómetro

Analizaremos el caso donde el usuario opera el citómetro. Para ello, identificaremos los procesos encadenados más generales de un análisis de citometría:

- a. Transporte y recepción de la muestra;
- b. Carga de la muestra en el instrumento;
- c. Procesamiento de la muestra en el instrumento (corrida);
- d. Descarga de la muestra;
- e. Disposición de los restos de muestra no utilizados;
- f. Disposición periódica del reservorio de desechos.

En cada uno de los procesos aquí enunciados existe el riesgo de exposición. El nivel de riesgo de exposición y generación de efectos adversos dependerá no solo del tipo de muestras sino también del tipo de práctica que se utilice en la implementación de cada proceso. Así, de acuerdo con lo comentado, un modo de abordar el caso de un usuario externo podría ser el siguiente:

- a. Generar un *Manual del usuario*, donde se describa paso a paso cómo operar el equipo;

¹ www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/en/Biosafety7.pdf

- b. Capacitar al usuario para que lo opere tal como está escrito, observar (auditar) su desempeño (por ejemplo en operación con supervisión), realizando una evaluación del estilo *checklist*, realizando una etapa de aprobación/autorización para la operación del equipo;
- c. evaluación periódica (auditorías periódicas);
- d. revisión periódica de los procedimientos con fines de mejora continua.

Este esquema, útil para la formación y evaluación de usuarios externos, es válido también para nuevos usuarios internos.

3- Prácticas frecuentemente utilizadas para reducir el riesgo de exposición

Entre las situaciones de riesgo más comunes durante la operación de un citómetro se encuentran: la expulsión del tubo del puerto de muestra por falla de presurización con producción de aerosoles, el vertido del contenido del tubo, la producción de aerosoles durante el trabajo de *sorting*, y otras situaciones como las ya mencionadas previamente en forma general. También, la recuperación de tubos para su reutilización constituye un riesgo, ya que como suelen ser descontaminados con lavandina antes de ser lavados, se genera una instancia adicional de riesgo.

Estas situaciones han conducido a establecer múltiples prácticas que contribuyen a reducir los riesgos de exposición en distintas situaciones que ocurren en el laboratorio de citometría de flujo. Es recomendable que cada laboratorio de citometría de flujo las tenga en cuenta para incorporarlas o adaptarlas a la instrumentación de un sistema de gestión de riesgo biológico.

Prácticas que se sugiere implementar para la operación del laboratorio de citometría de flujo:

- a. Establecer al laboratorio de citometría como un área de acceso restringido;
- b. Instrumentar el uso de elementos de protección personal (Guantes de nitrilo/vinilo; guardapolvos cerrados; gafas protectoras; barbijo o mascarilla tipo N95; etc.);
- c. Establecer el uso de zapatos cerrados;
- d. Definir el número máximo de personas que puedan permanecer simultáneamente en el área;
- e. Establecer prácticas para evitar los riesgos inherentes al láser;
- f. Incorporar la utilización de sistemas de contención de aerosoles en el caso de *cell sorters*;
- g. Advertir a los usuarios sobre los riesgos existentes en el laboratorio utilizando carteles indicadores;
- h. Utilizar film para cubrir teclados y mouse;
- i. Implementar el uso de "baberos de odontólogo descartables" debajo del puerto de muestra para absorber potenciales derrames o aerosoles producidos.
- j. Utilizar tubos nuevos. En caso de que esto último no sea posible, se sugiere diseñar el mejor procedimiento para reducir el riesgo de exposición por contacto directo, salpicaduras u otro tipo de incidente con el material durante el proceso de lavado y recuperación (por ejemplo uso de guantes, gafas, bateas acordes al procedimiento, modo de sumergir los tubos para evitar salpicaduras, etc).

Por último, se recuerda que siempre es una buena idea contactar al especialista en bioseguridad de la institución para que colabore en los estudios de evaluación y gestión de riesgo del laboratorio de Citometría de Flujo.