



Material
Didáctico
para Estudiantes

GUÍA DE TRABAJOS PRÁCTICOS:

MANUAL DE SEGURIDAD
EN EL LABORATORIO DE
MICROBIOLOGÍA

FQByF

Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia



Universidad Nacional
de San Luis

SERIE DIDÁCTICA: MATERIAL DIDÁCTICO PARA ESTUDIANTES

Guías de Trabajos Prácticos: **MANUAL DE SEGURIDAD EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA**

Dra. Susana G. FERRARI
Dra. Gabriela I. FAVIER
Dra. M. Silvia DI GENARO
Dra. Claudia M. MATTANA

FACULTAD DE
QUÍMICA, BIOQUÍMICA Y FARMACIA



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN LUIS

2018

Decana

Dra. Mercedes Edith CAMPDERRÓS

Vice Decana

Dra. Lucía Beatriz FUENTES

Secretaria académica

Dra. Estela Isabel GASULL

Comisión de la Serie Didáctica

Coordinadora

Dra. María Cristina ALMANDOZ

Integrantes

Departamento de Bioquímica
y Ciencias Biológicas

Dra. Susana I. SÁNCHEZ

Dra. Verónica P. FILIPPA

Departamento de Farmacia

Dr. Luis A. DEL VITTO

Dra. Alejandra O. MARIA

Departamento de Química

Dra. Yamina A. DÁVILA

Dra. María de los Ángeles ÁLVAREZ

Edición

Secretaría de Vinculación y Extensión

SUMARIO

La publicación periódica Serie Didáctica ha sido creada en el ámbito de la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional de San Luis (Ordenanza N° 008/07-CD) con el fin de proporcionar material de estudio a los estudiantes de las Carreras de grado impartidas en la Facultad.

Actualmente, la SERIE DIDÁCTICA: MATERIAL DIDÁCTICO PARA ESTUDIANTES (Resolución N° 269/16) ofrece guías de Trabajos Prácticos de Laboratorio y de campo, guías de resolución de problemas, material teórico, propuestas de estudios dirigidos y comprensión de textos, entre otros materiales, elaborados por el cuerpo docente de las diferentes Áreas de Integración Curricular de la Facultad. Estas producciones didácticas significan un aporte para cubrir necesidades académicas acorde al enfoque de cada asignatura o que no se encuentran habitualmente en bibliografía específica. Las mismas están disponibles en la página de la UNSL (http://www.fqbf.unsl.edu.ar/mda_guias.html) lo que facilita la accesibilidad por parte de los estudiantes, docentes y comunidad educativa en general, garantizando la calidad de la visualización y la amplia difusión del material publicado en este sitio. De igual modo, la Serie Didáctica realiza una extensión invitando a docentes y alumnos de diferentes niveles educativos a participar, crear, producir y utilizar este espacio fomentando así el vínculo entre esta Institución y la comunidad.

En nuestra opinión, es de vital importancia producir y compartir el conocimiento con los estudiantes y la sociedad. De este modo, se tiende a facilitar los procesos de enseñanza y de aprendizaje y la transmisión de una idea directriz de conducta humana y científica, fortaleciendo los vínculos entre docentes-alumnos-conocimientos y sociedad.

Dado que la presente SERIE DIDÁCTICA resulta de la participación de numerosos actores, ante los posibles errores humanos y cambios en la ciencia, ni los editores ni cualquier otra persona que haya participado en la preparación del material didáctico garantizan íntegramente que la información sea precisa o completa

Prólogo

Las normas de Seguridad Biológica buscan reducir a un nivel aceptable el riesgo que implica la manipulación de material contaminado, por ejemplo, en el estudio de microorganismos. Las bacterias, virus, parásitos, hongos y otros agentes infecciosos que pueden ser patógenos para el hombre, los animales u otras formas de vida, implican riesgos que varían según el agente infeccioso y los procedimientos utilizados.

La actitud y el modo de proceder de quienes trabajan en el Laboratorio de Microbiología determinan su propia seguridad, así como la de sus compañeros y la de la comunidad. El equipamiento y el diseño del Laboratorio de Microbiología contribuyen sólo si las personas que trabajan en él están motivadas, conocen las normas de seguridad y las aplican. Por lo tanto, de nada sirve la mejor ingeniería sanitaria, un óptimo diseño arquitectónico o la tecnología más avanzada, si el personal desconoce o no cumple las medidas establecidas para su seguridad.

La capacitación y formación es la clave de la eficacia de los programas de seguridad y debe ser facilitada a todas las personas que están expuestas a los riesgos del laboratorio: personal del laboratorio, técnico, de mantenimiento, de limpieza, etc.

Los trabajadores deben responsabilizarse de su propia seguridad y de la de sus compañeros una vez que las normas de seguridad han sido establecidas, aprobadas, escritas, estudiadas y asumidas.

En todo Laboratorio de Microbiología debe existir un Manual de Seguridad debido a que todo el personal tiene el derecho y el deber de conocer en profundidad los riesgos de su trabajo. Con esta finalidad los autores seleccionaron y compilaron el material que dio origen a este Manual de Seguridad, el cual contiene los elementos básicos de seguridad para el trabajo en los laboratorios microbiológicos de investigación y/o docencia. El objetivo principal es generar una actitud mental lógica y de control ante cualquier accidente y por sobre todas las cosas, prevenir en lo posible todos los accidentes, lo cual se logra con conciencia, responsabilidad y conocimiento.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
VÍAS DE INFECCIÓN MÁS COMUNES	4
RIESGO DE LAS TÉCNICAS MÁS COMUNES EN EL LABORATORIO	5
PRINCIPIOS DE BIOSEGURIDAD	6
1) Prácticas y Técnicas de laboratorio	6
2) Equipos de Seguridad (Barreras Primarias)	7
Gabinete de Seguridad Biológica Clase 1 (GSB 1)	7
Gabinete de Seguridad Biológica Clase 2 (GSB 2)	8
Gabinete de Seguridad Biológica Clase 3 (GSB 3)	9
Traje de presión positiva	10
Dispositivos de flujo laminar	10
Otros dispositivos	11
3) Diseño y construcción de Instalaciones (Barreras Secundarias)	12
NIVELES DE BIOSEGURIDAD	13
NIVEL DE BIOSEGURIDAD 1 (NBS-1)	13
1.a. Prácticas microbiológicas estándares	13
1.b. Prácticas Especiales	14
2. Equipos de Seguridad (Barreras Primarias)	14
3. Instalaciones de laboratorio (Barreras Secundarias)	14
NIVEL DE BIOSEGURIDAD 2 (NBS-2)	15
1.a. Prácticas microbiológicas estándares	15
1.b. Prácticas Especiales	15
2. Equipos de Seguridad (Barreras Primarias)	16
3. Instalaciones de laboratorio (Barreras Secundarias)	17
NIVEL DE BIOSEGURIDAD 3 (NBS-3)	18
1.a. Prácticas microbiológicas estándares	18
1.b. Prácticas Especiales	18
2. Equipos de Seguridad (Barreras Primarias)	20
3. Instalaciones de laboratorio (Barreras Secundarias)	21
NIVEL DE BIOSEGURIDAD 4 (NBS-4)	23
1.a. Prácticas microbiológicas estándares	23

1.b. Prácticas Especiales	24
2. Equipos de Seguridad (Barreras Primarias)	27
3- Instalaciones de laboratorio (Barreras Secundarias)	27
3.1. Laboratorio con gabinete	27
3.2. Laboratorio con requerimiento de trajes especiales de seguridad	30
REGLAMENTACIÓN INTERNACIONAL EN MATERIA DE TRANSPORTES	33
EVALUACIÓN DEL RIESGO	35
ESTUDIO EN ANIMALES	37
CRITERIOS DE NIVEL DE BIOSEGURIDAD DE LOS ANIMALES VERTEBRADOS	39
NIVEL DE BIOSEGURIDAD ANIMAL (NBSA)	41
NBSA-1	41
1.a. Prácticas estándares	41
1.b. Prácticas Especiales	43
2. Equipos de Seguridad (Barreras Primarias)	43
3. Instalaciones de laboratorio (Barreras Secundarias)	43
NBSA-2	44
1.a. Prácticas estándares	44
1.b. Prácticas Especiales	44
2. Equipos de Seguridad (Barreras Primarias)	45
3. Instalaciones de laboratorio (Barreras Secundarias)	45
NBSA-3	46
1.a. Prácticas estándares	46
1.b. Prácticas Especiales	46
2. Equipos de Seguridad (Barreras Primarias)	47
3. Instalaciones de laboratorio (Barreras Secundarias)	47
NBSA-4	49
1.a. Prácticas estándares	49
1.b. Prácticas Especiales	49
2. Equipos de Seguridad (Barreras Primarias)	50
3. Instalaciones de laboratorio (Barreras Secundarias)	50
BIBLIOGRAFÍA	51

INTRODUCCIÓN

Los laboratorios microbiológicos constituyen ambientes de trabajo especiales, que pueden presentar riesgos de enfermedades infecciosas identificables para las personas que se encuentren en o cerca de ellos. Acompañando el crecimiento de la Microbiología fue apareciendo un nuevo riesgo ocupacional: la manipulación de microorganismos de los cuales no siempre se tiene suficiente información. Si bien la legislación relacionada con la protección del trabajador industrial ha incorporado aspectos como la prevención de las infecciones ocupacionales, el examen médico periódico y la protección del ambiente de trabajo; en nuestro país las reglamentaciones y normas para el laboratorio de microbiología son escasas y generalmente, son regidas por Manuales de uso interno que se basan en Normas de Bioseguridad Internacionales.

La seguridad biológica o bioseguridad, es la aplicación del conocimiento, de las técnicas y de los equipos necesarios para prevenir la exposición del personal, del área de laboratorio y del medio ambiente a agentes potencialmente infecciosos o biopeligrosos, es decir, que la bioseguridad se ocupa de limitar los riesgos reales o potenciales que implica el manejo de microorganismos y de material biológico.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), en el Manual de Bioseguridad en el laboratorio (2005), establece cuatro grupos de microorganismos teniendo en cuenta los riesgos que pueden provocar al hombre y/o animales cuando se los manipula. A su vez, el Instituto Argentino de Normalización (IRAM) publicó en el año 2000 una clasificación de microorganismos infecciosos por grupo de riesgo para humanos y animales, y su relación con los niveles de bioseguridad según la actividad desarrollada (Norma IRAM 80059, disponible en: www.codeinep.org/IRAM-Normas/Bioseguridad)

Los principios generales de la división son:

Grupo 1: Los agentes de Nivel 1 de bioseguridad carecen de potencial conocido para infectar personas por lo que representan un riesgo mínimo tanto para quienes trabajan con ellos como para el entorno. Se utilizan en laboratorios para estudiantes principiantes de Microbiología siendo adecuado emplear sólo las técnicas estándares de laboratorio.

Grupo 2: Los agentes del Nivel 2 son los agentes buscados más frecuentes en las muestras clínicas y presentan riesgo moderado para el individuo y limitado para la comunidad debiendo los empleados vacunarse contra hepatitis B.

Grupo 3: Los agentes de Nivel 3 poseen un riesgo individual elevado, pero escaso para el entorno. Requieren control cuidadoso de los movimientos de aire, ropa protectora y guantes para el personal. Por ejemplo, manejo de muestras en las que se sospecha que contienen virus y para cultivos de *Mycobacterium tuberculosis*, los estadios filamentosos de hongos sistémicos y algunos otros microorganismos. Las personas que trabajan en el Nivel 3 almacenan sueros basales para compararlos con sueros agudos que se utilizan en casos de enfermedad sin causa aparente (ej. en infecciones por especies de *Brucella*). Todos los procedimientos se llevan a cabo bajo contención máxima utilizando ropa protectora especial en Gabinete de Seguridad Biológica clase II (GSB II) o GBS III si corresponde.

Grupo 4: Se incluyen en este grupo microorganismos extremadamente peligrosos para quien los manipula y el entorno. Incluyen ciertos virus de los grupos arbovirus, arenavirus o filovirus. Se descontaminan todos los materiales antes de abandonar las instalaciones y todos los procedimientos se realizan bajo contención máxima (ropa de protección especial, GSB III). La mayoría de estas instalaciones son laboratorios de referencia, de salud pública o de investigación.

En la **Tabla 1** se puede observar una clasificación de bacterias por grupo de riesgo para humanos y su relación con los niveles de bioseguridad según la actividad desarrollada (Norma Argentina: IRAM 80059). Además se incluyen los microorganismos que se utilizan comúnmente en el área de Microbiología UNSL. Para completar la clasificación se puede consultar una extensa y detallada clasificación de hongos, parásitos, rickettsias, virus y priones y su relación con los niveles de seguridad en Norma Argentina: IRAM 80059.

Debe recordarse que, en caso de realizar actividades que multiplican y/o diseminan el microorganismo o bien si se realizan trabajos con animales potencialmente infectados, deberá utilizarse el nivel inmediato superior.

Tabla 1. Clasificación de bacterias infectantes por grupo de riesgo para humanos y su relación con los niveles de bioseguridad según la actividad desarrollada (Norma Argentina: IRAM 80059)

Grupo de riesgo 1 (NR 1 trabajar con NBS 1).	Grupo 3 (NR 3 trabajar con NBS 2 o NBS 3 si corresponde)
<i>Bacillus cereus</i> <i>Escherichia coli</i> cepa K12 <i>Lactobacillus acidophilus</i> Virus <i>Distemper</i> canino	<i>Bacillus anthracis</i> <i>Brucella melitensis</i> , <i>B. abortus</i> , <i>B. suis</i> <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>M. bovis</i> <i>Pseudomonas pseudomallei</i>
Grupo 2 (NR 2 trabajar con NBS 2)	*Prion Encefalopatía espongiforme bovina *Prion Scrapie *Prion Encefalopatía espongiforme transmisible * <i>Coxiella burnetii</i> * <i>Rickettsia prowazekii</i> , <i>R. typhi</i> , <i>R. canada</i>
<i>Bordetella pertussis</i> <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>C. coli</i> <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Chlamydophila pneumoniae</i> <i>Clostridium botulinum</i> , <i>C. tetani</i> <i>Corynebacterium diphtheriae</i> <i>Francisella tularensis</i> <i>Legionella pneumophila</i> <i>Leptospira interrogans</i> <i>Listeria sp</i> <i>Mycobacterium leprae</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>N. meningitidis</i> <i>Pasteurella spp</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi <i>Shigella spp</i> <i>Staphylococcus spp</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Streptococcus sp</i> <i>Treponema pallidum</i> <i>Vibrio cholerae</i> , <i>V. parahaemolyticus</i> <i>Yersinia pestis</i> Virus del sarampión *Virus de la hepatitis *Retrovirus (VIH) Virus de la rabia	Grupo 4 (Nivel de riesgo 4 trabajar con Nivel de Bioseguridad 3 o nivel inmediatamente superior si corresponde) <i>Virus Junín</i> <i>arenavirus o filovirus</i> Virus Lassa Virus de la fiebre aftosa Virus Machupo <i>Virus Ebola</i> <i>Arbovirus</i>

* Dependiendo de si la actividad multiplica o disemina el microorganismo

Cada vez que se realiza una actividad de laboratorio donde se requiera la manipulación de cultivos de microorganismos que puedan alcanzar concentraciones muy elevadas y llegar a provocar una infección si no son manipulados adecuadamente, se encuentra presente un riesgo microbiológico.

La infección difiere de los demás riesgos que se presenta en el laboratorio, en que los efectos no están limitados a quien trabaja individualmente ni a sus compañeros de trabajo, sino que la infección también, puede transmitirse fuera del laboratorio a partir del operador a su familia, contactos humanos casuales, animales domésticos o de experimentación, etc. Además pueden diseminarse agentes no patógenos para los seres humanos, pero capaces de contaminar medios de cultivo, reactivos o afectar a otros seres vivos con defensas inmunológicas bajas o grupos de riesgo (niños y ancianos)

VÍAS DE INFECCIÓN MÁS COMUNES EN EL LABORATORIO

Los microorganismos pueden ingresar al organismo a través de: la boca, los pulmones, la piel (intacta o lesionada), la conjuntiva, etc.

Las vías de contaminación más frecuentes en el laboratorio se dan a través de:

- Tracto digestivo: por ingestión o transferencia de microorganismos desde manos o utensilios (lápices, bolígrafos, etc.) contaminados, por realizar transferencias con pipetas sin utilizar ningún tipo de protección
- Mucosas: nasal y conjuntiva, debido a la producción de aerosoles, manos contaminadas y salpicaduras de materiales infecciosos
- Piel-vía percutánea: por inyección, cortes o escoriaciones.
- Respiratoria: es la más importante. El 80% de las infecciones contraídas en el laboratorio son de origen aéreo, por inhalación de microorganismos transportados por aerosoles.

La importancia de la vía respiratoria radica en que con facilidad se producen pequeñas gotas y partículas. Las partículas más pequeñas (entre 1 – 4 μm) no son retenidas en el tracto respiratorio y llegan a pulmón. Los microorganismos son transportados por los aerosoles y pueden invadir el tejido pulmonar. Su infectividad depende entre otros factores, del tamaño de la dosis, la susceptibilidad individual y la virulencia del agente.

Las partículas que poseen un tamaño menor a 10µm son denominadas aerosoles y pueden ser generados por atomización de suspensiones líquidas y/o material sólido infectado molido muy fino. Muchas técnicas de laboratorio producen aerosoles mediante burbujeo, salpicadura, espuma, quemado del ansa y dos mecanismos adicionales: vibración de alta frecuencia y fuerza centrífuga. Los aerosoles también se producen cuando se manipulan cultivos secos, liofilizados o secados con acetona (ej. cuando se destapan tubos o ampollas).

RIESGO EN LAS TÉCNICAS COMUNES DE LABORATORIO

Además de la producción de aerosoles, hay que tener en cuenta el riesgo que se genera como consecuencia de la deposición de material infectado sobre otras superficies, a partir de las cuales los microorganismos pueden ser transferidos a la piel, boca y ojos. Por ejemplo las pipetas que se preparan para conservar su esterilidad hasta ser usadas, poseen un tapón de algodón en la parte superior para prevenir la entrada de polvo y proteger, relativamente, a la propipeta.

Otro elemento comúnmente usado en el laboratorio de Microbiología es el ansa de cultivo. Mediante el flameado del ansa contaminada, se puede producir diseminación de microorganismos, particularmente cuando se trabaja con inóculos semisólidos y sólidos (ej. suspensiones de esporas, colonias de *Mycobacterium* o esputo). El mismo riesgo se corre cuando se introduce el ansa caliente en un líquido, o se hace contacto con la superficie del agar de un cultivo. A su vez, el ansa fría, una vez cargada, puede contaminar cuando se producen vibraciones o rápidos movimientos de aire que causen desprendimiento de pequeñas gotas. Por otra parte, la remoción de tapones de algodón, tapas a rosca o tapones de goma u otro tipo de tapa en tubos con caldo de cultivo, tubos de centrifuga, etc., puede crear aerosoles de varias maneras, sobre todo si los cultivos han sido agitados y hay material particulado. Hay que tener presente que los tapones de medios líquidos (sobre todos los agitados) pueden estar humedecidos con material infeccioso.

Por las razones antes descritas, se adoptan diversas medidas preventivas siendo importante la protección física del trabajador a través del uso de guardapolvo, guantes, barbijo, gafas, uso de propipeta, etc. Por otra parte las técnicas de laboratorio deben realizarse en forma cuidadosa y preferiblemente en zona aséptica con mechero encendido o dentro de cámaras de bioseguridad o utilizando flujo laminar vertical.

PRINCIPIOS DE BIOSEGURIDAD

Cada laboratorio debe adoptar o bien redactar un **manual de bioseguridad** que identifique los riesgos potenciales especificando prácticas y/o procedimientos destinadas a minimizar o eliminar las exposiciones a los mismos. Preferentemente, el responsable del laboratorio deberá estar capacitado y bien informado acerca de las técnicas de laboratorio adecuadas, procedimientos de seguridad y riesgos asociados a la manipulación de agentes infecciosos y debe ser el responsable de la conducción de los trabajos con cualquier agente o material infeccioso. Además, será responsable de brindar u organizar la capacitación adecuada del personal.

Una bioseguridad efectiva se logra cuando se lleva a cabo la contención del material infeccioso, es decir, cuando se cuenta con métodos seguros para manejar dicho material en el ambiente del laboratorio. Esta contención tiene como objetivo reducir o eliminar la exposición de quienes trabajan en laboratorios, de otras personas y del medio ambiente externo, a agentes potencialmente peligrosos.

Podemos considerar una contención primaria y una secundaria. Entendemos por **contención primaria** a la protección del personal y del medio ambiente inmediato del laboratorio de la exposición a agentes infecciosos, provista mediante buenas técnicas microbiológicas y el uso de equipos de seguridad adecuados. La **contención secundaria**, en cambio, es la requerida para lograr la protección del medio ambiente externo al laboratorio de la exposición a materiales infecciosos y se logra a través de una combinación del diseño de la instalación y prácticas operativas.

Realizando una evaluación del riesgo del trabajo a realizar con un agente específico, se determinará la combinación apropiada de los tres elementos de contención:

1. Prácticas y técnicas de laboratorio
2. Equipos de seguridad (Barreras primarias)
3. Diseño de las instalaciones del laboratorio (Barreras secundarias)

1. Prácticas y Técnicas de Laboratorio

Para que la contención sea efectiva, el elemento más importante es el cumplimiento estricto de las prácticas y técnicas microbiológicas estándares. Las personas que trabajan con agentes infecciosos o materiales potencialmente infectados deben conocer los riesgos potenciales y poseer la experticia necesaria en las prácticas y técnicas requeridas para manipular dichos materiales en forma segura.

Se debe exigir al personal que lea y cumpla las prácticas y procedimientos de bioseguridad y, cuando las prácticas estándares de laboratorio no sean suficientes, se

deberán aplicar medidas adicionales y actualizadas que deben guardar relación con los riesgos relacionados con el agente o procedimiento.

2. Equipos de Seguridad (Barreras primarias)

Los equipos de seguridad incluyen gabinetes cerrados, dispositivos especiales, etc., destinados a eliminar o minimizar las exposiciones a materiales biológicos peligrosos.

2.1. Gabinetes de seguridad biológica (GSB)

Los GSB se encuentran entre los dispositivos de contención más eficaces para proporcionar contención de salpicaduras o aerosoles infecciosos generados por diversos procedimientos microbiológicos. Existen tres clases disponibles (Clase I, II y III) que poseen diferentes características y aplicaciones. Los GSB Clase I y Clase II de frente abierto son barreras primarias que ofrecen niveles significativos de protección del personal de laboratorio y del medio ambiente cuando se los utiliza en combinación con buenas técnicas microbiológicas para microorganismos de riesgo bajo y moderado (Agentes de Nivel 1 y 2 de Bioseguridad). Tanto los GSB de Clase I como los de Clase II ofrecen niveles de contención para proteger a los investigadores y al medio ambiente inmediato contra aerosoles infecciosos que se generan dentro del gabinete. Los GSB de Clase II también protegen el material de investigación o muestra a través de una filtración especial (filtración HEPA= High Efficiency Particle Arresting) del flujo del aire en toda la superficie de trabajo (circulación laminar vertical). Los Gabinetes de Clase III ofrecen máxima protección al personal de laboratorio, a la comunidad y al medio ambiente porque todos los materiales de peligro están contenidos en un gabinete herméticamente cerrado y ventilado.

2.1.1. GSB CLASE I

(Nota: los GSB de Clase I se fabrican en forma limitada en la actualidad; muchos ya han sido reemplazados por GSB de Clase II).

El Gabinete de Seguridad Biológica de Clase I es un gabinete ventilado de presión negativa que, por lo general, funciona con un frente abierto. La totalidad del aire del gabinete se libera a través del filtro HEPA hacia el laboratorio o hacia el exterior. Los GSB de Clase I están diseñados para la investigación microbiológica con agentes de riesgo bajo y moderado y se utilizan para la contención de mezcladoras y otros equipos. Estos gabinetes resultan inadecuados para la manipulación de material de investigación vulnerable a la contaminación del aire dado que el flujo de aire no filtrado proveniente del laboratorio puede transportar sustancias contaminantes al gabinete.



Figura 1. Gabinete de Seguridad Biológica Clase I
A: abertura frontal; B: ventana de cristal;
C: filtro HEPA de salida; D: cámara de distribución del extractor (Tomado de “Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories”. CDC/NIH. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. 4ª Ed. 1999).

2.1.2. GSB CLASE II

El Gabinete de Seguridad Biológica de Clase II está diseñado con flujo de aire de entrada a una velocidad como para proteger al personal, flujo laminar vertical hacia abajo filtrado con HEPA para la protección del producto y flujo de escape filtrado con HEPA para la protección ambiental. Los GSB de Clase II se clasifican en dos tipos (A y B), según la construcción, las velocidades y los patrones del flujo del aire y los sistemas de escape.

Los Gabinetes de tipo A son aptos para investigación microbiológica en ausencia de productos químicos volátiles o tóxicos y radionucleicos, ya que el aire vuelve a circular dentro del gabinete. Los Gabinetes de tipo A pueden tener el escape orientado hacia el laboratorio o hacia el exterior a través de una conexión al sistema de escape de la construcción.

Los Gabinetes de tipo B se subdividen en B1, B2 y B3. Los gabinetes de tipo B se conectan al sistema de escape de la construcción y contienen plena presión negativa y permiten que el trabajo se realice con productos químicos o radionucleicos.

Los GSB deben evaluarse y certificarse *in situ* en el momento de la instalación dentro del laboratorio, cuando se trasladan y por lo menos una vez al año a partir de ese momento.

Las prácticas recomendadas para el uso de los GSB y su correcta colocación en el laboratorio deben cumplirse en forma estricta. El personal debe estar entrenado para el uso adecuado de los Gabinetes de Seguridad Biológica. Se ha demostrado que actividades como introducir y sacar en forma constante los brazos de la cámara de trabajo, la apertura y el cierre de puertas del laboratorio, la inadecuada colocación u operación de materiales o equipo dentro de la cámara de trabajo o el hecho de que alguien se encuentre en la cercanía del GSB mientras está en uso, generan el escape de partículas de aerosoles desde el interior del gabinete. Los Gabinetes de Clase I y II deben colocarse lejos de los lugares de circulación general.

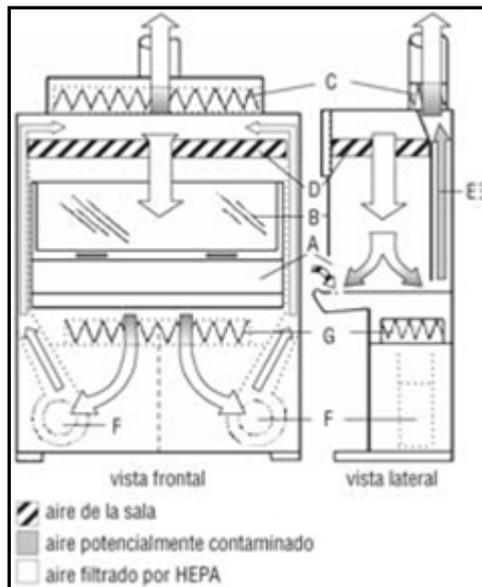


Figura 2. Gabinete de Seguridad Biológica Clase II
A: abertura frontal; B: ventana; C: filtro HEPA de salida;
D: filtro HEPA de entrada; E: cámara de distribución de salida con presión negativa; F: ventilador; G: filtro HEPA para el aire de entrada. (Tomado de "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories". CDC/NIH. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. 4ª Ed. 1999).

2.1.3. GSB CLASE III

El Gabinete de Seguridad Biológica de Clase III es un gabinete herméticamente cerrado y ventilado a prueba de gases. Ofrece el grado más elevado de protección de personal y del ambiente contra los aerosoles infecciosos, así como también la protección de materiales de investigación contra los contaminantes microbiológicos. Los Gabinetes de Clase III son los más aptos para trabajar con agentes peligrosos que requieren contención de Bioseguridad de Nivel 3 o 4.

Todas las operaciones en el área de trabajo del gabinete se realizan con guantes de goma o trajes protectores. El Gabinete de Clase III funciona bajo presión negativa. El suministro de aire se realiza a través del filtrado HEPA y el gas de escape del gabinete se filtra a través de dos filtros HEPA en serie o una filtración HEPA seguida por una incineración antes de la descarga fuera del recinto. Todas las partes del equipo requeridas por la actividad del laboratorio, tales como los incubadores, los refrigeradores y los centrifugadores, deben constituir una parte integral del sistema del gabinete. El Gabinete de Clase III debe ser conectado a autoclaves de doble puerta y/o a un tanque de productos químicos utilizado para esterilizar o desinfectar los materiales que salen del gabinete y para permitir que nuevos materiales ingresen al mismo.

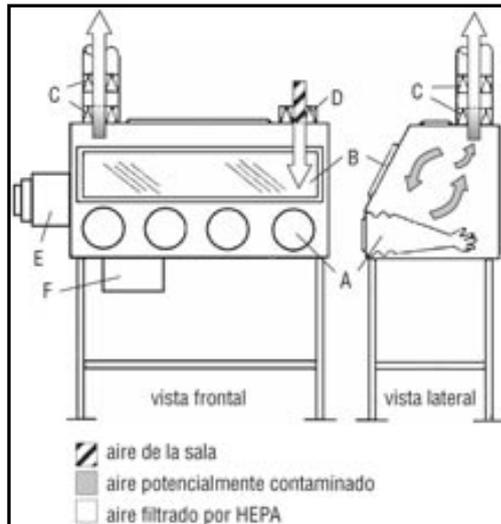


Figura 3. Esquema de una cámara de seguridad biológica clase III (cámara de guantes).

A: orificios para guantes del largo de un brazo;

B: ventana; C: dobles filtros HEPA de salida;

D: filtro HEPA de entrada; E: autoclave de doble puerta o caja de paso; F: tanque de inmersión química.

La salida del aire de la cámara debe estar conectada a un sistema independiente de extracción de aire del edificio.

(Tomado de "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories". CDC/NIH. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. 4ª Ed. 1999).

2.2. Traje del personal de presión positiva

Estos trajes proporcionan una protección equivalente a la de los GSB III y son utilizados cuando se trabaja con Agentes de Bioseguridad de Nivel 3 o 4 en el "área de los trajes" y cuando utiliza GSB de Clase I o II. El traje del personal se mantiene bajo presión positiva con un sistema protector para evitar cualquier escape. Con este sistema de contención, el personal está aislado de los materiales de trabajo. El ingreso al área de los trajes se hace a través de una cámara estanca equipada con puertas herméticas y se utiliza una ducha química para descontaminar las superficies del traje cuando el personal se aleja del lugar. El aire de escape que proviene del traje se filtra a través de dos unidades de filtros HEPA instaladas en serie. La totalidad del área debe tener presión negativa. Como sucede con los GSB de Clase III, los guantes del traje del personal constituyen el componente más vulnerable del sistema ya que están sujetos a perforaciones.

2.3. Dispositivos de flujo laminar:

Las mesas de laboratorio de flujo laminar se utilizan en instalaciones clínicas, farmacéuticas y de laboratorio para la protección del producto. No deben utilizarse para manipular materiales tóxicos, infecciosos, radioactivos o sensibles dado que el personal trabaja en el escape inmediato de la mesa. Las mesas de laboratorio de flujo laminar vertical pueden resultar útiles para ciertas manipulaciones de materiales limpios (por ejemplo, placas de agar) pero no deben ser utilizadas cuando se trabaja con materiales infecciosos.

2.4. Otros dispositivos:

Otro ejemplo de barrera primaria son los **tubos de centrífuga** de seguridad que poseen tapa a rosca. De este modo se previene la liberación de aerosoles durante el centrifugado y/o cuando se realiza la apertura de la tapa inmediatamente luego de centrifugar.

Los equipos de seguridad también incluyen los elementos de protección personal, tales como guantes, delantales, cobertores de zapatos, botas, respiradores, máscaras faciales, anteojos de seguridad (antiparras). Los equipos de protección personal se utilizan en general en combinación con GSB y otros dispositivos que contengan los agentes o materiales que se manipulan.

Delantales de laboratorio: Los delantales, guardapolvo o chaqueta es una necesidad para quien trabaja en el laboratorio. Los utilizados en el laboratorio de microbiología deberán abotonarse preferentemente, hasta arriba. Los delantales de manga larga y abertura trasera protegen mejor que los de abertura frontal. No deben usarse fuera de las zonas del laboratorio.

Gafas y viseras de seguridad: Las gafas de seguridad está disponibles en gran variedad y su elección 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 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.

Mascarillas respiratorias: Cuando se realizan procedimientos de alto riesgo (NSB 3) es necesaria la protección respiratoria. El tipo de mascarilla respiratoria elegida 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 mascarilla adecuado. Para que la protección sea máxima, las mascarillas respiratorias deben ajustarse al rostro de cada trabajador y probarse previamente. Los respiradores autónomos con suministro de aire integrado proporcionan protección completa. Las mascarillas de tipo quirúrgico están diseñadas exclusivamente para proteger a los pacientes y no ofrecen protección respiratoria a los trabajadores.

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. También pueden usarse guantes reutilizables, pero hay que lavarlos, retirarlos, limpiarlos y desinfectarlos adecuadamente. Después de manipular material infeccioso o trabajar en un GSB y antes de abandonar el laboratorio es preciso retirar los guantes y lavarse las manos correctamente. Los guantes desechables usados deben eliminarse junto con los residuos de laboratorio infectados. Se han notificado casos de reacciones alérgicas como dermatitis e hipersensibilidad inmediata después de usar guantes de látex, particularmente los que llevan polvo. Deberá disponerse en el laboratorio de alternativas a ese tipo de guantes.

3. Diseño y Construcción de Instalaciones (Barreras Secundarias)

La distribución de los ambientes de laboratorio debe ser diseñada según un esquema que contribuya a la protección de quienes trabajan en el laboratorio, pero además proporcionen una barrera para proteger a las personas que se encuentran fuera del laboratorio. Este diseño se hará teniendo en cuenta el riesgo de transmisión de los agentes específicos. Por ejemplo, los riesgos de exposición de la mayor parte del trabajo en instalaciones del nivel de Bioseguridad 1 y 2 serán el contacto directo con los agentes o exposiciones a contactos inadvertidos a través de áreas de trabajo contaminadas. Las barreras secundarias en estos laboratorios pueden incluir la separación del área de trabajo del laboratorio del acceso al público, la disponibilidad de un sistema de descontaminación (por ejemplo, autoclave) e instalaciones para el lavado de manos. Cuando el riesgo de infección por exposición a un aerosol infeccioso está presente, quizás sea necesario implementar un mayor nivel de contención y barreras secundarias adicionales para evitar el escape de los agentes infecciosos hacia el medio ambiente. Dichas barreras secundarias pueden incluir sistemas de ventilación especializados para asegurar el flujo de aire direccional, sistemas de tratamiento de aire para descontaminar o eliminar agentes del aire de escape, zonas de acceso controladas, esclusas de aire en las puertas de acceso al laboratorio o edificios o módulos separados para aislar al laboratorio. Las esclusas de aire son dispositivos que permiten el paso de gases y objetos entre una habitación a presión y su entorno reduciendo el cambio de presión y la pérdida de aire. La esclusa consiste en una pequeña cámara con dos puertas herméticas en serie que no se abren simultáneamente.

NIVELES DE BIOSEGURIDAD

La diferente combinación de prácticas y técnicas de laboratorio, equipos de seguridad e instalaciones de laboratorio da origen a cuatro niveles de bioseguridad (NBS) apropiados para trabajar con cada uno de los cuatro grupos de microorganismos, teniendo en cuenta las vías de transmisión de los agentes infecciosos y la actividad particular del laboratorio. Los NBS para los diferentes organismos representan aquellas condiciones bajo las cuales el agente puede comúnmente manipularse en forma segura.

NIVEL DE BIOSEGURIDAD 1 (NBS-1)

El **NBS-1** es adecuado para trabajos que involucran agentes bien caracterizados que no producen enfermedad en humanos adultos sanos, y que representan un riesgo potencial mínimo para el personal del laboratorio y el medio ambiente. El laboratorio no está necesariamente separado del tránsito general en el edificio. El trabajo se realiza generalmente sobre mesas de trabajo utilizando prácticas microbiológicas estándares. No es necesario el uso de equipos de contención especiales y en general no se los utiliza. El personal de laboratorio posee una capacitación específica acerca de los procedimientos que se realizan en el laboratorio y es supervisado por un responsable con capacitación general en microbiología o una ciencia relacionada. Las siguientes prácticas estándares y especiales, equipos de seguridad e instalaciones se aplican a los agentes asignados al NBS-1:

1. a. Prácticas Microbiológicas Estándares

1. El acceso al laboratorio será restringido según criterio del responsable o cuando se estén llevando trabajos con cultivos patógenos.
2. Las personas deben lavarse las manos luego de manipular materiales viables, luego de quitarse los guantes y antes de retirarse del laboratorio.
3. No está permitido comer, beber, fumar, manipular lentes de contacto, maquillarse o almacenar alimentos para uso humano en áreas de trabajo. Las personas que usan lentes de contacto en laboratorios deben también utilizar antiparras o un protector facial. Los alimentos se almacenan fuera del área de trabajo en gabinetes o refrigeradores designados y utilizados con este único fin.
4. Está prohibido pipetear con la boca; se deben utilizar dispositivos mecánicos o propipetas.
5. Se establecerán reglas para el manejo seguro de objetos cortantes o punzantes.

6. Todos los procedimientos se llevarán a cabo con precaución a fin de minimizar la generación de salpicaduras o aerosoles.

7. Las superficies de trabajo se descontaminarán como mínimo una vez por día y luego de todo derrame de material viable.

8. Todos los desechos (cultivos, material inoculado, etc.) se descontaminarán antes de ser descartados mediante un método de descontaminación aprobado como por ejemplo autoclave. Los materiales que se deben descontaminar fuera del laboratorio serán colocados en un recipiente resistente y cerrado para su transporte desde el laboratorio. Los materiales que se deben descontaminar fuera del laboratorio se embalarán de conformidad con las normas locales aplicables antes de retirarlos del establecimiento.

9. Cuando se encuentren presentes agentes infecciosos se debe colocar una señal de advertencia de riesgo biológico en la entrada del laboratorio que debe incluir el nombre del agente en uso y el nombre y número de teléfono del investigador.

10. Se debe considerar un programa de control de roedores e insectos.

1. b. Prácticas Especiales: Ninguna.

2. Equipos de Seguridad (Barreras Primarias)

1. En general, no se requieren dispositivos o equipos de contención o equipamientos especiales, como gabinetes de seguridad biológica para las manipulaciones de agentes asignados al NBS 1.

2. Se recomienda el uso de delantales o uniformes de laboratorio a fin de evitar que la ropa de calle se pueda contaminar o ensuciar.

3. Se deben usar guantes si existen lastimaduras en las manos o si la piel presenta alguna erupción.

4. Se debe utilizar protección ocular para los procedimientos en los que se puedan producir salpicaduras de microorganismos u otros materiales peligrosos.

3. Instalaciones del Laboratorio (Barreras Secundarias)

1. Los laboratorios deben tener puertas para el control de acceso.

2. Cada laboratorio debe incluir una pileta para el lavado de manos.

3. El laboratorio debe diseñarse de modo tal que su limpieza sea sencilla. Las alfombras no son adecuadas para los laboratorios.

4. Las superficies de las mesas de trabajo deben ser impermeables al agua y resistentes al calor moderado y a solventes orgánicos, ácidos, álcalis y productos químicos utilizados para descontaminar la superficie de trabajo y equipos.

5. Los muebles de laboratorio deben tener la capacidad de soportar cargas y usos previstos. Los espacios entre las mesas de trabajo, gabinetes y equipos deben ser accesibles para su limpieza.

6. Si el laboratorio tiene ventanas que se abren hacia el exterior, deben estar provistas de mosquiteros.

7. La iluminación es adecuada para todas las actividades, evitando los reflejos y el brillo que puedan molestar la visión.

NIVEL DE BIOSEGURIDAD 2 (NBS-2)

Es similar al NBS-1 y adecuado para trabajos que involucren agentes de riesgo potencialmente moderado para el personal y el medio ambiente.

1. a. Prácticas Microbiológicas Estándares

Idem NSB-1

1. b. Prácticas Especiales

1. El acceso al laboratorio deberá ser restringido cuando se estén realizando trabajos con agentes infecciosos. En general, no se permitirá dentro del laboratorio la presencia de personas que tienen un mayor riesgo de adquirir la infección o para quienes la infección pueda tener graves consecuencias, por ejemplo, las personas inmunodeprimidas.

2. Se deberán reglamentar los casos especiales de las personas puedan entrar al laboratorio.

3. Se debe colocar una señal de advertencia de riesgo biológico en la entrada del laboratorio cuando se estén manipulando agentes peligrosos. La información adecuada que debe colocarse incluye el agente o agentes que se están utilizando, el nivel de bioseguridad, las inmunizaciones requeridas, el nombre del investigador y su número de teléfono, todo equipo de protección que deba utilizarse en el laboratorio y todos los procedimientos requeridos para retirarse del laboratorio.

4. El personal del laboratorio debe someterse a las inmunizaciones o a los análisis de los agentes manejados o potencialmente presentes (por ejemplo, vacuna contra la Hepatitis B, evaluación cutánea de tuberculosis).

5. Se deben respetar los procedimientos de seguridad operativos estándares o del manual de bioseguridad adoptado por el laboratorio.

6. Se debe garantizar que el personal de laboratorio y de apoyo reciba la capacitación adecuada sobre los posibles riesgos asociados con el trabajo en cuestión, las precauciones necesarias para evitar exposiciones y los procedimientos de evaluación de exposición.

7. Se debe siempre tener un alto grado de precaución con los artículos punzantes o cortantes contaminados, incluyendo las agujas y jeringas, portaobjetos para microscopio, pipetas, tubos capilares y escalpelos. El material de vidrio debe ser sustituido por material plástico, en la medida de lo posible. 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 ubicados en un lugar conveniente. Los objetos punzantes o cortantes no descartables se deben colocar en recipientes de paredes duras para su transporte al área de procesamiento para su descontaminación, preferentemente en autoclave. No se deben manipular directamente con las manos los artículos de vidrio rotos, sino que deben retirarse por medios mecánicos como un cepillo y pala, pinzas o fórceps.

8. Los cultivos, tejidos, fluidos corporales, o desechos potencialmente infecciosos se colocarán en recipientes con tapa para evitar filtraciones durante la recolección, manejo, procesamiento, almacenamiento, transporte o envío.

9. Los equipos y las superficies de trabajo se deben descontaminar regularmente con un desinfectante efectivo después de trabajar con el agente infeccioso, y especialmente cuando se producen derrames o salpicaduras por materiales infecciosos. Se deben descontaminar los equipos antes de enviarlos para su reparación o mantenimiento o embalarlos para transporte de conformidad con las reglamentaciones locales de aplicación antes de retirarlos de las instalaciones.

10. Se deben informar de inmediato derrames y accidentes que deriven en exposiciones evidentes a los materiales infecciosos y en lo posible se guardarán registros escritos.

11. No se permite la presencia en el laboratorio de animales que no se estén utilizando en el trabajo que se está realizando.

2. Equipo de Seguridad (Barreras Primarias)

1. Se utilizan GSB mantenidos de manera adecuada, preferentemente de Clase II, u otros equipos de protección personal o dispositivos de contención física adecuados cuando se realicen procedimientos que puedan generar aerosoles o salpicaduras infecciosas (centrifugado, pulverizado, mezclado, agitación, sonicación, apertura de recipientes de materiales infecciosos, etc).

2. Se utiliza protección facial (anteojos, máscaras u otra protección) para las probables salpicaduras o aerosoles de materiales infecciosos u otros materiales peligrosos cuando se deben manipular los microorganismos fuera del GSB.

3. Se debe usar delantal, batas cortas o uniformes de laboratorio de protección adecuados para el laboratorio durante la permanencia en el mismo. Se debe retirar y dejar esta ropa de protección en el laboratorio antes de dirigirse a otras áreas (por ejemplo, cafetería, biblioteca, oficinas administrativas). La institución desechará toda la ropa de protección en el laboratorio o se ocupa de lavarla; el personal no debe llevarla a su casa.

4. Se debe usar guantes cuando es posible que las manos entren en contacto con materiales infecciosos, superficies o equipos contaminados. Puede ser apropiado el uso de dos pares de guantes. Los guantes se descartarán cuando estén manifiestamente contaminados, y se retirarán cuando se complete el trabajo con los materiales infecciosos o cuando esté comprometida la integridad del guante. Los guantes descartables no se deben lavar, ni volver a usar; no se debe utilizar guantes para tocar superficies "limpias" (teclados, teléfonos, picaportes, etc.), y no se deben usar fuera del laboratorio. Se debe contar con alternativas a los guantes de látex empolvados. Se deben higienizar las manos después de retirarse los guantes.

3. Instalaciones del Laboratorio (Barreras secundarias)

1. Proveer puertas con llave para las instalaciones que contengan agentes restringidos.

2. Considerar la ubicación de nuevos laboratorios lejos de las áreas públicas.

3. Cada laboratorio debe poseer un lavatorio para el lavado de manos. Se recomiendan los lavatorios controlados con los pies, las rodillas o los que operan automáticamente.

4. El laboratorio debe ser diseñado para que pueda limpiarse fácilmente. Es inadecuado el uso de alfombras y felpudos en los laboratorios.

5. Las superficies de las mesas de trabajo deben ser impermeables al agua y resistentes al calor moderado y a los solventes orgánicos, ácidos, álcalis y sustancias químicas empleadas para descontaminar las superficies y equipos de trabajo.

6. Los espacios entre las mesas de trabajo, gabinetes y equipos deben ser accesibles para su limpieza. Las sillas y otros muebles utilizados en el trabajo de laboratorio deben estar cubiertos por otro material que no sea tela que se pueda limpiar fácilmente.

7. Instalar GSB 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. Los GSB deben colocarse lejos de las puertas, de las ventanas que se pueden abrir, de las áreas del laboratorio de mucho tránsito y de otros equipos potencialmente interruptores a los fines de mantener los parámetros del flujo de aire adecuados.

8. Se debe disponer de un dispositivo para el lavado de ojos.
9. La iluminación es adecuada para todas las actividades, evitando los reflejos y el brillo que puedan molestar la visión.
10. No existen requisitos de ventilación específicos. Sin embargo, la planificación de nuevas instalaciones debe considerar los sistemas de ventilación mecánica que ofrezcan flujo de aire hacia el interior sin la recirculación a espacios fuera del laboratorio. Si el laboratorio tiene ventanas que se abren al exterior, deben colocarse mosquiteros.

NIVEL DE BIOSEGURIDAD 3 (NBS-3)

El **NBS-3** se aplica a las instalaciones clínicas, de diagnóstico, enseñanza, investigación o producción en las que se llevan a cabo trabajos con agentes indígenas o exóticos que puedan producir una enfermedad grave o potencialmente letal como resultado de la exposición por vía de inhalación. El personal de laboratorio debe recibir instrucción específica en el manejo de agentes patógenos y potencialmente letales, y ser supervisado por científicos competentes con experiencia en el trabajo con estos agentes.

Todos los procedimientos que involucren la manipulación de materiales infecciosos se deben realizar dentro de GSB u otros dispositivos de contención física o por personal que lleve ropa y equipo protector adecuado. El laboratorio deberá tener características de diseño e ingeniería especiales. Sin embargo, se reconoce que algunas instalaciones existentes pueden no presentar todas las características recomendadas para el NBS-3 (por ejemplo, zona de acceso con doble puerta y penetraciones selladas). En esta circunstancia, se puede lograr un nivel de seguridad aceptable para la práctica de procedimientos de rutina (por ejemplo, procedimientos diagnósticos que involucren la propagación de un agente para su identificación, tipificación y ensayos de sensibilidad) en una instalación NBS-2, siempre que se cumplan rigurosamente con las Prácticas Microbiológicas Estándares, las Prácticas Especiales y los Equipos de Seguridad de NBS-3 recomendados.

1.a. Prácticas Microbiológicas Estándares

Idem NSB-1 y 2.

1.b. Prácticas Especiales

1. Las puertas del laboratorio deben mantenerse cerradas cuando se estén practicando experimentos.

2. El acceso al laboratorio será restringido. No se permitirá el ingreso al laboratorio o a las salas de animales a las personas que corren riesgo de contraer infecciones o para quienes una infección podría tener consecuencias graves. Por ejemplo, las personas con compromiso inmunológico, niños y mujeres embarazadas.

3. Serán establecidas políticas y procedimientos por medio de los cuales sólo podrán ingresar al laboratorio o salas de animales las personas que han sido advertidas sobre los riesgos biológicos posibles, que cumplan con los requisitos de ingreso específicos (por ejemplo, inmunizaciones) y que cumplan con los procedimientos de entrada y salida.

4. Se debe colocar un cartel de bio-riesgo, incorporando el símbolo universal en la puerta de acceso a todos los laboratorios y salas de animales, cuando se encuentren presentes agentes infecciosos o animales infectados en el laboratorio o módulo de contención. La señal de advertencia de bio-riesgo debe contener información sobre el agente infeccioso en uso, nombre y el número de teléfono de la persona responsable y requisitos especiales necesarios para poder ingresar al laboratorio (por ejemplo, inmunizaciones, respiradores u otras medidas de protección personal).

5. El personal del laboratorio debe someterse a las inmunizaciones o a los análisis de los agentes manejados o potencialmente presentes (por ejemplo, vacuna contra la Hepatitis B, evaluación cutánea de tuberculosis y a estudios periódicos según las recomendaciones para el agente que se está manipulando).

6. El laboratorio adoptará un manual de bioseguridad específico e incorporará precauciones de bioseguridad en los procedimientos de operación estándar. Se advertirá al personal sobre los riesgos especiales y se le exigirá que lea y siga las instrucciones de las prácticas y procedimientos.

7. El personal del laboratorio y de asistencia o soporte debe recibir la capacitación apropiada sobre los posibles riesgos asociados con el trabajo en cuestión, las precauciones necesarias para evitar exposiciones y los procedimientos de evaluación de la exposición.

8. Antes de trabajar con organismos en el NBS-3, todo el personal deberá demostrar pericia en las prácticas y técnicas microbiológicas estándares, y en las prácticas y operaciones específicas del laboratorio.

9. Se debe siempre tener un alto grado de precaución con los artículos punzantes o cortantes contaminados, incluyendo las agujas y jeringas, portaobjetos, pipetas y tubos capilares (Idem NSB II)

10. Toda manipulación abierta de materiales infecciosos se practicará en GSB u otros dispositivos de contención física dentro del módulo de contención. No se deben realizar trabajos en recipientes abiertos sobre la mesa de trabajo. La limpieza se facilitará usando toallas de papel con base de plástico sobre las superficies de trabajo no perforadas dentro de los gabinetes de seguridad biológica.

11. Se deben descontaminar los equipos de laboratorio y las superficies de trabajo de manera rutinaria con un desinfectante efectivo, después de finalizar el trabajo con materiales infecciosos. Los derrames de materiales infecciosos son descontaminados, contenidos y limpiados por personal profesional idóneo u otros con instrucción adecuada y equipados para trabajar con el material infeccioso concentrado.

12. Se colocarán los cultivos, tejidos, especímenes de fluidos corporales o desechos en un recipiente a prueba de filtraciones durante la recolección, manejo, procesamiento, almacenamiento, transporte o envío.

13. Se descontaminarán todos los materiales de desecho potencialmente contaminados (por ejemplo, guantes, ropa de laboratorio, etc.) antes de desecharlos o reutilizarlos.

14. Los derrames o accidentes que representen una exposición manifiesta o potencial a los materiales infecciosos deben informarse de inmediato. Se realizará la evaluación, el control y tratamiento médico necesario y se guardarán registros escritos.

15. No se permitirá la presencia de animales o plantas no relacionadas con el trabajo practicado en el laboratorio.

2. Equipos de Seguridad (Barreras Primarias)

1. El personal que ingrese al laboratorio debe usar delantales envolventes o con la delantera lisa o trajes de limpieza o mamelucos. No se debe usar la ropa de protección fuera del laboratorio. La ropa no descartable se debe descontaminar antes de lavar. Se debe cambiar la ropa cuando se encuentre manifiestamente contaminada.

2. Se debe usar guantes cuando se manipulen materiales infecciosos, animales infectados y equipos contaminados.

3. Se recomienda el cambio frecuente de guantes acompañado del lavado de las manos. No se deben volver a usar los guantes descartables.

4. Todas las manipulaciones de materiales infecciosos, necropsia de animales infectados, recolección de tejidos o líquidos de los animales infectados o cosecha de huevos embrionados, etc. se deben realizar en GSB Clase II o Clase III.

5. Cuando no se pueda practicar un procedimiento o proceso dentro de un gabinete de seguridad biológica, se utilizarán las combinaciones adecuadas de equipos de protección personal (por ejemplo, respiradores, máscaras faciales) y dispositivos de contención física (por ejemplo, cubetas de seguridad para centrifugas o rotores sellados).

6. Se colocarán protectores faciales y de respiración dentro de las salas con animales infectados.

3. Instalaciones de Laboratorio (Barreras Secundarias)

1. El laboratorio estará separado de otras áreas abiertas al flujo de tráfico irrestricto dentro del edificio, y el acceso al laboratorio será restringido. El pasaje a través de una serie de puertas que se cierran automáticamente es el requisito básico de ingreso al laboratorio desde los corredores de acceso. Las puertas se pueden cerrar con llave y se puede incluir un vestuario en el camino.

2. Cada sala de laboratorio deberá contener un lavatorio de manos. El lavatorio se operará automáticamente o sin manos y estará ubicado cerca de la puerta de salida.

3. Las superficies interiores de paredes, pisos y cielorrasos de las áreas donde se manipulan agentes de NBS-3 deben permitir la limpieza y descontaminación. Si existen bordes, deben sellarse. Las paredes, cielorrasos y pisos deben ser lisos, impermeables a los líquidos y resistentes a las sustancias químicas y desinfectantes normalmente utilizados en el laboratorio. Los pisos deben ser antideslizantes, pueden utilizarse cobertores de pisos acanalados.

4. Las superficies de las mesas de trabajo deben ser impermeables al agua y resistentes al calor moderado y a los solventes orgánicos, ácidos, álcalis y sustancias químicas empleadas para descontaminar las superficies y equipos de trabajo.

5. Los espacios entre las mesas de trabajo, gabinetes y equipos deben ser accesibles para su limpieza. Las sillas y otros muebles utilizados en el trabajo de laboratorio deben estar cubiertos por otro material que no sea tela que se pueda limpiar fácilmente

6. Se deben cerrar y sellar todas las ventanas en el laboratorio.

7. Se contará con un método de descontaminación de los desechos de laboratorio en las instalaciones y se utilizará, preferentemente, dentro del laboratorio (por ejemplo, autoclave, desinfección química u otro método de descontaminación aprobado). Se deben considerar los métodos de descontaminación de los equipos. Si se transportan los desechos fuera del laboratorio, se deben sellar de manera adecuada y no transportarlos por los corredores públicos.

8. Es necesario que se coloquen los GSB lejos de las puertas, de las rejillas de ventilación de la sala y de las áreas de laboratorio muy transitadas.

9. Se proveerá un sistema de ventilación de aire escape por conductos. Este sistema crea un flujo de aire direccional que toma el aire para el laboratorio de áreas "limpias" y lo elimina en áreas "contaminadas". El aire de escape no se recircula a ninguna otra parte del edificio. El aire viciado debe dispersarse lejos de las áreas ocupadas y de las entradas de aire o se debe filtrar con filtros absolutos de elevada eficiencia (HEPA: High Efficiency Particulate Air). El personal del laboratorio debe verificar que la dirección del flujo de aire (en el laboratorio) sea la adecuada. Se recomienda la colocación de un dispositivo de monitoreo visual que

indique y confirme el flujo de aire direccional hacia adentro en la entrada del laboratorio. Se debe considerar la instalación de un sistema de control HVAC (calefacción, ventilación y aire acondicionado) para evitar la presurización positiva constante del laboratorio. Se debe considerar la instalación de alarmas audibles para notificar al personal las fallas del sistema HVAC.

10. El aire de escape viciado por HEPA desde un gabinete de seguridad biológica Clase II puede recircularse en el laboratorio si se controla y certifica el gabinete por lo menos una vez por año. Cuando se tenga que descargar el aire viciado de los gabinetes de seguridad Clase II al exterior a través de un sistema de aire de escape, se deben conectar los gabinetes de tal forma que se evite interferir con el equilibrio de aire de los gabinetes o el sistema de escape del edificio (por ejemplo, un espacio de aire entre el gabinete de escape y el conducto de escape). Cuando se utilicen GSB Clase III, deben estar directamente conectados con el sistema de escape. Si se conectan GSB Clase III al sistema de alimentación o suministro, debe realizarse de manera tal que se evite la presurización positiva de los gabinetes.

11. Las centrifugas de flujo continuo u otros equipos que puedan producir aerosoles deben estar contenidos en dispositivos que liberen el aire a través de filtros HEPA, antes de descargarlo al laboratorio. Estos sistemas HEPA se deben controlar por lo menos una vez por año. De manera opcional, se puede ventilar el escape de dichos equipos al exterior si se dispersa lejos de las áreas ocupadas y de las entradas de aire.

12. Se protegen las líneas de vacío con trampas de desinfectante líquido y filtros HEPA o equivalentes. Se deben reemplazar los filtros según sea necesario. Una alternativa es usar bombas de vacío portátiles (también adecuadamente protegidas con trampas y filtros).

13. Se dispone de una estación para lavado de ojos dentro del laboratorio.

14. La iluminación es adecuada para todas las actividades, evitando los reflejos y el brillo que molestan la visión.

15. El diseño y los procedimientos operativos del establecimiento del NBS-3 deben estar documentados. Se debe hacer una prueba para verificar si se ha cumplido con el diseño y con los parámetros operativos del establecimiento antes de comenzar a operar. Luego se deberá hacer una reevaluación del establecimiento, por lo menos una vez al año, sobre la base de estos procedimientos, según hayan sido modificados por la experiencia operativa.

16. Se deberá considerar la inclusión de protección ambiental adicional (por ejemplo: duchas para el personal, filtración HEPA de aire de escape, contención de otros servicios entubados y la provisión de descontaminación de efluentes), si así lo recomienda el informe resumido del agente, según se determine por la evaluación del riesgo, las condiciones del lugar, u otras normas locales aplicables.

NIVEL DE BIOSEGURIDAD 4 (NBS-4)

El NBS-4 debe aplicarse para trabajar con agentes peligrosos y exóticos que posean un riesgo individual alto de producir infecciones de laboratorio transmitidas por aerosoles y enfermedades mortales. Los agentes que tienen una relación antigénica cercana o idéntica a los agentes del NBS-4 se manipularán en este nivel hasta que se obtengan datos suficientes, ya sea para confirmar la continuación del trabajo en este nivel o para trabajar con ellos en un nivel más bajo. Los miembros del personal de laboratorio deben poseer una capacitación específica y completa para manipular agentes infecciosos extremadamente peligrosos y conocer las funciones de contención primaria y secundaria de las prácticas estándares y especiales, los equipos de contención y las características de diseño del laboratorio. Este personal será supervisado por científicos competentes que posean capacitación y experiencia para trabajar con estos agentes. El acceso al laboratorio será controlado estrictamente por el director del laboratorio. El establecimiento debe ubicarse en un edificio separado o en un área controlada dentro de un edificio, la cual estará totalmente aislada de todas las demás áreas del edificio. Se preparará o adoptará un manual de operaciones específico para el establecimiento.

Dentro de las áreas de trabajo del establecimiento, todas las actividades se restringirán a los GSB Clase III o GSB Clase II utilizados con trajes de personal presurizado con presión positiva y de una sola pieza ventilados por aire externo. El laboratorio de Nivel de Bioseguridad 4 debe tener características especiales de ingeniería y diseño para evitar la diseminación de los microorganismos en el medio ambiente.

Las prácticas de seguridad estándar y las instalaciones especiales para agentes correspondientes al Nivel de Bioseguridad 4 son las siguientes:

1.a. Prácticas Microbiológicas Estándares

1. El director del laboratorio limitará el acceso al mismo cuando se estén realizando los experimentos.
2. Se instituirán políticas para la manipulación segura de objetos punzantes o cortantes.
3. Todos los procedimientos se llevarán a cabo con cuidado para minimizar la generación de aerosoles.
4. Las superficies de trabajo se descontaminarán por lo menos una vez al día y después de producirse cualquier derrame de material viable.

5. Todos los desechos se descontaminarán antes de ser desechados utilizando un método aprobado, como el de autoclave.
6. Se aplicará un programa de control de insectos y roedores.

1.b. Prácticas Especiales

1. Sólo debe autorizarse el ingreso a las personas cuya presencia en el establecimiento o salas individuales de laboratorio se requiere a los fines del programa o por razones de mantenimiento. Las personas inmunodeprimidas pueden correr riesgo de contraer infecciones, por lo tanto, no se les permitirá el ingreso al laboratorio ni a las salas de animales a las personas que pueden correr un mayor riesgo de contraer una infección, niños y mujeres embarazadas. El supervisor tiene la responsabilidad final de evaluar cada circunstancia en particular y de determinar quién puede ingresar o trabajar en el laboratorio. El acceso al establecimiento estará limitado por medio de puertas seguras y cerradas. El acceso lo administrará el director del laboratorio, el funcionario de control de bioriesgo u otra persona responsable de la seguridad física del establecimiento. Antes de ingresar, se notificará a las personas los posibles bioriesgos y se les comunicarán las medidas de seguridad adecuadas que deben tomar. Las personas autorizadas deben cumplir con las instrucciones y con todos los demás procedimientos aplicables de entrada y salida. Se establecerán protocolos prácticos y efectivos para situaciones de emergencia.

2. Cuando haya materiales infecciosos o animales infectados en el laboratorio o en las salas de animales, se colocará en todas las puertas de acceso, carteles de advertencia de riesgo, en los que se incluya el símbolo universal de bioriesgo. El cartel deberá indicar el agente, mencionar el nombre del director del laboratorio o el de la o las personas responsables, y señalar los requisitos especiales para ingresar a esa área (por ejemplo, el uso de inmunizaciones o respiradores).

3. El director del laboratorio es el responsable de asegurar que, antes de trabajar con organismos en el NBS-4, todo el personal demuestre una gran habilidad para implementar las prácticas y técnicas microbiológicas estándares y las prácticas y operaciones especiales específicas del laboratorio. Esto podría incluir experiencia anterior en la manipulación de patógenos humanos o cultivos de células o un programa específico de capacitación instrumentado por el director del laboratorio o por otro científico competente con gran habilidad para estas prácticas y técnicas microbiológicas seguras únicas.

4. El personal del laboratorio recibirá inmunizaciones disponibles para los agentes manipulados o que posiblemente puedan estar potencialmente presentes en el laboratorio.

5. Se tomarán y almacenarán muestras de suero de base para todo el personal del laboratorio y demás personal de riesgo. La decisión de implementar un programa de control

serológico tiene en cuenta la disponibilidad de métodos para la evaluación de anticuerpos a los agentes en cuestión. El programa incluye disposiciones para la prueba de las muestras de suero en cada intervalo de recolección y la comunicación de los resultados a los participantes.

6. Se debe preparar o adoptar un manual de bioseguridad y notificar al personal acerca de los riesgos especiales e indicar que lea y cumpla las instrucciones sobre prácticas y procedimientos señaladas en el manual.

7. El personal de laboratorio y de mantenimiento recibirá capacitación adecuada sobre los posibles riesgos asociados con el trabajo en cuestión, las precauciones necesarias para evitar las exposiciones y la exposición a procedimientos de evaluación. También recibirán actualizaciones anuales o capacitación adicional, según resulte necesario para los cambios de procedimientos.

8. El personal debe ingresar y salir del laboratorio sólo después de realizar el cambio de ropa o de pasar por las duchas. Los miembros del personal deben tomar una ducha descontaminante cada vez que salen del laboratorio. El personal utilizará las esclusas de aire para ingresar o salir del laboratorio sólo en caso de emergencia.

9. El personal se quitará la ropa en la sala externa de cambio de ropa y la dejará allí. A todo el personal que ingrese al laboratorio se le suministrará ropa completa de laboratorio, incluyendo ropa interior, pantalones y camisas o mamelucos, zapatos y guantes, y el personal debe usar esa ropa. Cuando sale del laboratorio y antes de pasar al área de duchas, el personal se quitará su ropa de laboratorio en la sala interna de cambio de ropa. La ropa sucia se inactivará por autoclave antes de lavarla.

10. Los insumos y materiales necesarios son introducidos por medio del autoclave de doble puerta, cámara de fumigación o esclusa de aire, la cual es adecuadamente descontaminada entre un uso y otro. Después de cerrar las puertas externas, el personal dentro del establecimiento recupera los materiales abriendo las puertas internas del autoclave, cámara de fumigación o esclusa de aire. Estas puertas se cierran después de traer los materiales al laboratorio.

11. Siempre se debe tener mucha precaución con los instrumentos filosos contaminados, incluyendo las agujas y las jeringas, portaobjetos, pipetas y tubos capilares. El uso de agujas y jeringas y demás instrumentos filosos en el laboratorio estará restringido sólo para los casos en que no quede otra alternativa, siempre que sea posible, los materiales de vidrio deberán ser reemplazados por envases de plástico. Las agujas descartables usadas no deben ser dobladas, cortadas, rotas, recubiertas, retiradas de las jeringas descartables ni manipuladas de otra manera con la mano antes de ser desechadas. En cambio, deberán ser cuidadosamente ubicadas en recipientes resistentes de paredes rígidas a las pinchaduras, ubicados donde resulte conveniente para el desecho de objetos cortantes o punzantes. Los

objetos cortantes o punzantes que no sean descartables deberán ser ubicados en un recipiente con paredes resistentes para su transporte al área de procesamiento para la descontaminación, preferentemente por autoclave. Los envases de vidrio rotos no deben ser manipulados directamente con la mano, sino que deben ser retirados por medios mecánicos como un cepillo y pala, pinzas o fórceps. Los recipientes que tengan agujas contaminadas, equipos filosos y vidrios rotos deben ser descontaminados antes de ser desechados, de acuerdo con las normas locales.

12. Los materiales biológicos que deban retirarse del GSB Clase III o del laboratorio de NBS-4 en estado viable o intacto serán transferidos a un recipiente primario sellado e irrompible y luego encerrados en un recipiente secundario sellado e irrompible. Esto se retira del establecimiento por medio de un tanque de inmersión desinfectante, cámara de fumigación o esclusa de aire diseñada para este fin.

13. No se retirará ningún material del laboratorio de NBS-4, salvo los materiales biológicos que deban permanecer en estado viable o intacto, a menos que hayan sido pasados por el autoclave o descontaminados antes de sacarlos del laboratorio. Los equipos o los materiales que puedan dañarse por las altas temperaturas o por el vapor pueden ser descontaminados por métodos gaseosos o de vapor en una esclusa o cámara de aire diseñada para ese fin.

14. Los equipos de laboratorio serán descontaminados rutinariamente después de finalizado el trabajo con materiales infecciosos, y especialmente después de derrames o salpicaduras directas o de otra contaminación con materiales infecciosos. Los equipos serán descontaminados antes de ser enviados para su reparación o mantenimiento.

15. Miembros profesionales adecuados del personal u otras personas debidamente capacitadas y equipadas para trabajar con material infeccioso concentrado limpiarán los derrames de materiales infecciosos. Se desarrollará un procedimiento para derrames y se colocará un instructivo del mismo en el laboratorio.

16. Se establecerá un sistema para informar accidentes y exposiciones de laboratorio y ausentismo del personal, así como también para el control médico de enfermedades potenciales asociadas al laboratorio. Se llevarán registros escritos. Un accesorio esencial para este sistema de control de informes es la disponibilidad de un establecimiento para cuarentena, aislamiento y atención médica del personal que puedan contraer enfermedades potenciales en el laboratorio.

17. No se permitirá en el establecimiento, materiales no relacionados con el experimento que se esté realizando (por ejemplo, plantas, animales y ropa).

2. Equipos de Seguridad (Barreras Primarias)

Todos los procedimientos realizados dentro del establecimiento se llevarán a cabo en el GSB Clase III o Clase II utilizados conjuntamente con trajes presurizados de presión positiva de una pieza.

3. Instalaciones de Laboratorio (Barreras Secundarias)

Existen dos modelos para los laboratorios de NBS-4:

3.1. Laboratorio con Gabinete (toda manipulación del agente es realizada en un GSB Clase III)

3.2. Laboratorio en el que se requiere el uso de trajes especiales de seguridad (el personal utiliza un traje de protección). Los laboratorios de NBS-4 pueden estar basados en uno de estos modelos o en la combinación de ambos en el mismo establecimiento. Si se utiliza una combinación, cada tipo debe cumplir todos los requerimientos necesarios.

3. 1. Laboratorio con Gabinete

1. El establecimiento de NBS-4 consiste en un edificio separado o en una zona claramente demarcada y aislada dentro de un edificio. Para acceder a las salas del establecimiento se deberá asegurar el pasaje a través de un mínimo de dos puertas antes de ingresar a las salas donde se encuentra el GSB Clase III (sala de gabinete). Posee una sala exterior y una interior de cambio de ropa separado por duchas a disposición del personal que ingresa y sale de la sala de gabinete. En la barrera de contención debe haber un autoclave con doble puerta, un tanque de inmersión, una cámara de fumigación o una antesala ventilada para la descontaminación que se debe realizar antes del pasaje de los materiales, insumos o equipos que no ingresan a la sala de gabinete a través de la sala de cambio de ropa.

2. Antes de comenzar con el trabajo de laboratorio, se realizarán inspecciones diarias de todos los parámetros de contención (por ejemplo, flujo de aire direccional) y sistemas mantenedores de vida para asegurar que el laboratorio esté operando de acuerdo con sus parámetros operativos.

3. Las paredes, pisos y cielorrasos de la sala de gabinete y de la sala interior de cambio de ropa son construidos de manera que formen un caparazón interno sellado, que facilite la fumigación e impidan la entrada y salida de animales e insectos. Los pisos deben estar totalmente sellados y abovedados. Las superficies internas de este caparazón serán resistentes a los líquidos y químicos para facilitar la limpieza y descontaminación del área. Todas las penetraciones en estas estructuras y superficies están selladas. Las aberturas

alrededor de las puertas que abren hacia adentro de la sala de gabinete y de la sala interior de cambio de ropa son mínimas y pueden ser selladas para facilitar la descontaminación. Los desagües del piso de la sala de gabinete se conectan directamente al sistema de descontaminación de desecho de líquidos. Las ventilaciones de las cloacas y demás líneas de servicios contienen filtros HEPA.

4. La parte superior de las mesas poseen superficies sin costura o superficies selladas, que son impermeables al agua y resistentes al calor moderado y a los solventes orgánicos, ácidos, álcalis y químicos, utilizados para descontaminar las superficies de trabajo y equipos.

5. Los muebles de laboratorio son de construcción abierta simple, capaces de soportar cargas y usos anticipados. Los espacios entre las mesas de trabajo, gabinetes y equipos son accesibles para la limpieza y descontaminación. Las sillas y demás muebles utilizados en el trabajo de laboratorio deben estar cubiertos con un material que no sea tela y que pueda ser fácilmente descontaminado.

6. Cerca de la puerta de la sala de gabinete y en la sala exterior e interior de cambio de ropa debe haber un lavatorio para manos operado automáticamente o de manos libres.

7. Si se tiene un sistema de vacío central, no se debe utilizar para áreas fuera del gabinete. Lo más cerca posible de cada punto de uso o grifo de servicio se deben colocar filtros HEPA en línea. Los filtros se instalan para permitir la descontaminación y reemplazo en el lugar. Los demás servicios de líquidos y gases a la sala de gabinete son protegidos por dispositivos que evitan el reflujo.

8. Si hay fuentes de agua, serán operadas en forma automática o con el pie y estarán ubicadas en los pasillos de los compartimentos fuera del laboratorio. El servicio de agua hacia la fuente está aislado del sistema de distribución que suministra agua a las áreas de laboratorio y está equipado con prevención de reflujo.

9. Las puertas de acceso al laboratorio se cierran solas y tienen cerrojo.

10. Las ventanas son resistentes a las roturas y están selladas.

11. Se dispone de autoclaves de doble puerta, para descontaminar los materiales que salen tanto de los GSB Clase III o de la sala gabinete. Las autoclaves que abren fuera de la barrera de contención, deben estar sellados a la pared de la barrera de contención. Las puertas del autoclave son controladas en forma automática de manera que la puerta externa sólo puede ser abierta después que ha terminado el ciclo de "esterilización" del autoclave.

12. Se proporcionan tanques de inmersión de pase directo, cámaras de fumigación u otros métodos equivalentes de descontaminación de manera que los materiales y equipos que no puedan ser descontaminados en el autoclave puedan ser retirados en forma segura del o de los GSB Clase III y de la sala de gabinete.

13. Las emanaciones de líquidos provenientes del lado sucio de la sala interna de cambio de ropa (incluyendo los baños) y los lavatorios de la sala de gabinete, drenajes del piso (en caso de utilizarse), cámaras de autoclave y demás fuentes dentro de la sala de gabinete son descontaminados por medio de un método probado, preferentemente tratamiento con calor, antes de ser descargados a los líquidos efluentes. Los efluentes de las duchas y lavatorios del lado limpio pueden ser descargados a la cañería sanitaria sin tratamiento alguno. El proceso utilizado para la descontaminación de desechos líquidos debe ser física y biológicamente convalidado.

14. Este tipo de instalación posee un sistema de ventilación no recirculante especial. Los componentes de suministro y escape del sistema están equilibrados para asegurar un flujo de aire direccional desde el área de menor riesgo a las áreas de mayor riesgo potencial. El flujo de aire de presión diferencial/direccional entre las áreas adyacentes está controlado y equipado con una alarma para indicar cualquier mal funcionamiento del sistema. En la entrada de la sala de cambio de ropa limpia hay un dispositivo de control de presión visual adecuado que indica y confirma la presión diferencial de la sala de gabinete. Se controla el flujo de aire en los componentes de suministro y escape, y el sistema de control HVAC está diseñado para evitar la presurización positiva constante en el laboratorio. El Gabinete Clase III debe estar conectado directamente al sistema de escape. Si el Gabinete Clase III está conectado al sistema de suministro, está conectado de manera tal que evita la presurización positiva del gabinete.

15. El aire de suministro y el aire de escape proveniente de la sala de gabinete, de la sala interior de cambio de ropa y de la antesala pasa a través de filtros HEPA. Los filtros HEPA están ubicados lo más cerca posible de la fuente para minimizar la longitud de las tuberías potencialmente contaminadas. Todos los filtros HEPA deben ser probados y certificados todos los años. El uso de pre-filtros HEPA certificados puede ser una ventaja. La vida útil de los filtros HEPA de escape puede extenderse a través del prefiltrado adecuado del aire de suministrado.

16. El diseño y procedimientos operativos del establecimiento de NBS-4 deben estar documentados. Se debe probar el establecimiento para verificar que se ha cumplido con el diseño y los parámetros operativos antes de la operación. El establecimiento deberá ser verificado nuevamente todos los años, basándose en estos procedimientos con sus modificaciones hechas sobre la base de la experiencia operativa.

17. Se deben proporcionar sistemas de comunicación adecuados entre el laboratorio y el exterior (por ejemplo, micrófonos, computadora).

3. 2. Laboratorio en el que se requiere el uso de trajes especiales de seguridad

1. El establecimiento de NBS-4 consiste en un edificio separado o en una zona claramente demarcada y aislada dentro de un edificio. Las salas del establecimiento están dispuestas para asegurar el pasaje a través de las áreas de cambio de ropa y descontaminación antes de ingresar a la o las salas donde se realiza el trabajo con agentes BSL-4 (área con trajes). Hay una sala exterior y una interior de cambio de ropa separado por duchas a disposición del personal que ingresa y sale de la sala de trajes especiales de seguridad. En el establecimiento se mantiene un área de trajes especialmente diseñado para proporcionar protección al personal equivalente a la protección dada por los GSB Clase III. El personal que ingresa en esta área usa un traje de una sola pieza de presión positiva que es ventilado por un sistema mantenedor de vida (compresores de aire de respiración, alarmas y tanques de aire de respiración de respaldo para casos de emergencia) protegido por filtración HEPA. El ingreso a esta área es a través de una esclusa de aire equipada con puertas herméticas. Hay una ducha química para descontaminar la superficie del traje antes de que el empleado del laboratorio salga del área. La presión del aire dentro del traje es positiva respecto del laboratorio circundante. La presión del aire dentro del área de trajes es menor que la de cualquier otra área adyacente. Hay sistemas de comunicación e iluminación de emergencia.

2. Antes de comenzar el trabajo de laboratorio se realiza una inspección diaria de todos los parámetros de contención (por ejemplo, flujo de aire direccional, duchas químicas) y de los sistemas mantenedores de vida para asegurar que el laboratorio está operando de acuerdo con sus parámetros operativos.

3. En la barrera de contención hay un autoclave de doble puerta para la descontaminación de los materiales de desecho que deben ser retirados del área de trajes. La puerta del autoclave, que se abre hacia el área externa del área de trajes, está sellada y es controlada en forma automática de manera que la puerta exterior pueda ser abierta sólo después del ciclo de "esterilización" por autoclave. Hay un tanque de inmersión, una cámara de fumigación o una esclusa de aire ventilada para la descontaminación a realizarse antes del pasaje de materiales, insumos o equipos que no son ingresados al área de trajes a través de la sala de cambio de ropa. Estos dispositivos también pueden ser utilizados para la remoción segura de materiales, insumos o equipos del laboratorio, que no puedan ser descontaminados por autoclave.

4. Las paredes, pisos y cielorrasos de la sala de trajes especiales de seguridad están contruidos de manera que forman un caparazón interno sellado que facilita la fumigación e impide la entrada y salida de animales e insectos. Las superficies internas de este caparazón son resistentes a los líquidos y químicos para facilitar la limpieza y descontaminación del área. Todas las penetraciones en estas estructuras y superficies

están selladas. Los desagües del piso de la sala de trajes especiales de seguridad contienen trampas llenas con un desinfectante químico de demostrada eficacia contra el agente objeto y están conectados directamente al sistema de descontaminación de desecho de líquidos. Las ventilaciones de las cloacas y demás líneas de servicios contienen filtros HEPA.

5. Los accesorios internos del establecimiento en el área de trajes, tal como luces, tubos de aire y cañerías de servicios, están dispuestos de manera tal de minimizar las superficies horizontales.

6. La parte superior de las mesas de trabajo tiene superficies sin costura que son impermeables al agua y resistentes al calor moderado y a los solventes orgánicos, ácidos, álcalis y químicos utilizados para descontaminar las superficies de trabajo y los equipos.

7. Los muebles de laboratorio son de construcción abierta simple, capaces de soportar cargas y usos anticipados. Se prefieren los materiales no porosos. Los espacios entre las mesas de trabajo, gabinetes y equipos son accesibles a la limpieza y descontaminación. Las sillas y demás muebles utilizados en el trabajo de laboratorio deben estar cubiertos con un material que no sea tela y que pueda ser fácilmente descontaminado.

8. En el área de trajes hay un lavatorio para manos operado automáticamente o con manos libres; también debería considerarse la inclusión de lavatorios en las salas interna y externa de cambio de ropa, basándose en la evaluación del riesgo.

9. Si hay un sistema de vacío central, no está destinado a las áreas fuera de la sala de trajes especiales de seguridad. Lo más cerca posible de cada punto de uso o grifo de servicio se colocan filtros HEPA en línea. Los filtros se instalan para permitir la descontaminación y reemplazo en el lugar. Los demás servicios de líquidos y gases a la sala de trajes son protegidos por dispositivos que evitan el refluo.

10. Las puertas de acceso al laboratorio se cierran solas y tienen cerrojo. Las puertas internas y externas que dan a la ducha química y las puertas internas y externas que dan a las esclusas de aire están bloqueadas para evitar que ambas puertas se abran al mismo tiempo.

11. Las ventanas son resistentes a las roturas y están selladas.

12. Los efluentes líquidos provenientes de los lavatorios, drenajes del piso (en caso de utilizarse), cámaras de autoclave y demás fuentes dentro de la barrera de contención son descontaminados por medio de un método probado, preferentemente tratamiento con calor, antes de ser descargados a los desagües sanitarios. Los efluentes de las duchas y de los baños pueden ser descargados a la cañería sanitaria sin tratamiento alguno. El proceso utilizado para la descontaminación de desechos líquidos debe ser física y biológicamente validado.

13. Hay un sistema de ventilación exclusivo. Los componentes de suministro y escape del sistema están equilibrados para asegurar al flujo de aire direccional desde el área de menor riesgo al o a las áreas de mayor riesgo potencial. Se exige el uso de ventiladores de escape redundante. El flujo de aire de presión diferencial/direccional entre las áreas adyacentes está controlado y equipado con una alarma para indicar cualquier desperfecto en el funcionamiento del sistema. En la entrada de la sala de cambio de ropa limpia debe haber un dispositivo de control de presión visual adecuado que indique y confirme la presión diferencial del área de trajes. Se controla el flujo de aire en los componentes de suministro y escape y hay un sistema de control HVAC instalado para evitar la presurización positiva del laboratorio.

14. El aire de suministro y el aire de escape provenientes del área de trajes, de la ducha de descontaminación y de la esclusa de aire de descontaminación están protegidos por el pasaje a través de filtros HEPA. El aire de escape proveniente del área de trajes, de la ducha de descontaminación y de la esclusa de aire de descontaminación son tratados por pasaje a través de dos filtros HEPA en serie antes de la descarga hacia el exterior. El aire se descarga de los espacios ocupados y tomas de aire. Los filtros HEPA están ubicados lo más cerca posible de la fuente para minimizar la longitud de las tuberías potencialmente contaminadas. Todos los filtros HEPA deben ser probados y certificados todos los años. Las carcasas de los filtros HEPA están diseñadas para permitir la descontaminación in situ del filtro antes de retirarlo. Como alternativa, el filtro puede ser removido en un recipiente primario, estanco al gas, sellado para la posterior descontaminación y/o destrucción por incineración. El diseño de la carcasa del filtro HEPA debe facilitar la validación de la instalación del filtro. El uso de pre -filtros HEPA certificados puede ser una ventaja. La vida útil de los filtros HEPA de escape puede extenderse a través del prefiltrado adecuado del aire de suministro.

15. La ubicación de los puntos de suministro y escape debe ser tal que minimice el espacio de aire muerto en la sala de trajes especiales de seguridad.

16. El aire de escape tratado de los GSB Clase III, ubicado en un establecimiento donde quienes trabajan en el laboratorio usan un traje de presión positiva, puede ser descargado al ambiente de la sala o al exterior a través del sistema de escape de aire del establecimiento. Si el escape tratado es descargado al exterior a través del sistema de escape del establecimiento, estará conectado a este sistema de manera tal de evitar cualquier interferencia con el equilibrio del aire de los gabinetes o del sistema de escape del establecimiento.

17. El diseño y procedimientos operativos del establecimiento de NBS-4 deben estar documentados. Se debe probar el establecimiento para verificar que se ha cumplido con el diseño y parámetros operativos antes de la operación. El establecimiento deberá ser

verificado nuevamente todos los años, basándose en estos procedimientos con sus modificaciones hechas sobre la base de la experiencia operativa.

18. Se deben proporcionar sistemas de comunicación adecuados entre el laboratorio y el exterior.

REGLAMENTACIÓN INTERNACIONAL EN MATERIA DE TRANSPORTES

Todo material microbiológico se considera potencialmente patógeno y su traslado debe adecuarse a las normas vigentes de cada país o en su defecto a las normas internacionales. El sistema de embalaje/envasado triple, que es el preferible para el transporte de sustancias infecciosas y potencialmente infecciosas, 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. En algunos textos reglamentarios se incluyen límites en relación con el volumen o el peso de las sustancias infecciosas envasadas.

El embalaje/envase externo protege el embalaje/envase secundario de los daños físicos durante el transporte. Los formularios de datos relativos a la muestra, las cartas y demás material informativo que permitan identificarla o describirla, así como identificar al remitente y al destinatario, junto con toda la demás documentación exigida, también se incluirán de acuerdo con la reglamentación vigente.

Para los fines de su transporte, se entiende por sustancias infecciosas las sustancias respecto de las cuales se sabe o se cree fundadamente que contienen agentes patógenos. Los agentes patógenos son microorganismos (tales como bacterias, virus, rickettsias, parásitos y hongos) y otros agentes tales como priones, que pueden causar enfermedades en los animales o en los seres humanos. Las sustancias infecciosas se dividen en dos categorías.

-Sustancia infecciosa de categoría A: sustancia infecciosa que se transporta en una forma que, al exponerse a ella, es capaz de causar una incapacidad permanente, poner en peligro la vida o constituir una enfermedad mortal para seres humanos o animales previamente sanos (Guía sobre la reglamentación relativa al Transporte de sustancias infecciosas 2007–2008. OMS (Figura 4A).

Disponible en http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/who_cds_epr_2007).

-Sustancia infecciosa de categoría B: sustancia infecciosa que no cumple los criterios para su inclusión en la categoría A (Figura 4B)



Figura 4 A. Embalaje/envasado y etiquetado de sustancias infecciosas de la categoría A (Tomado de: Guía sobre la reglamentación relativa al Transporte de sustancias infecciosas 2007– 2008- OMS)

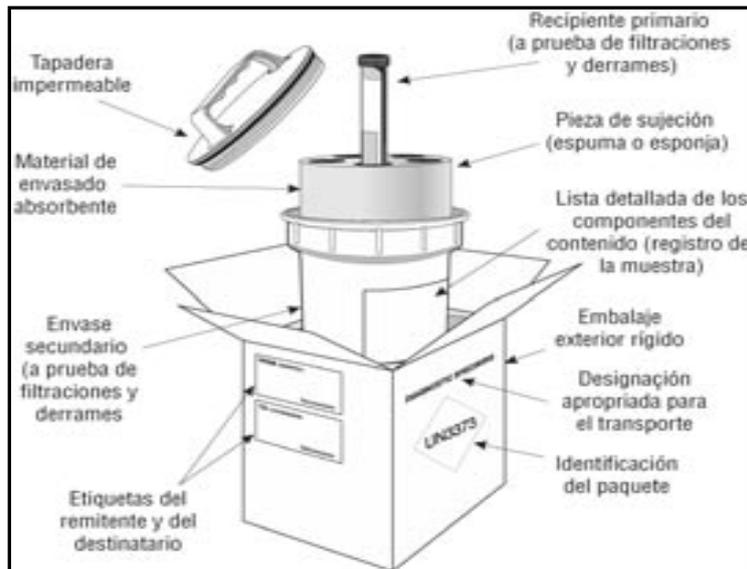


Figura 4 B. Embalaje/envasado y etiquetado de sustancias infecciosas de la categoría B. (Tomado de: Guía sobre la reglamentación relativa al Transporte de sustancias infecciosas 2007– 2008- OMS)

EVALUACIÓN DEL RIESGO

“Riesgo” implica la probabilidad de que ocurra un daño, lesión o enfermedad. En el contexto de los laboratorios microbiológicos y biomédicos, la evaluación del riesgo se concentra principalmente en la prevención de infecciones de laboratorio. Cuando se trate de actividades de laboratorio que involucren material infeccioso o potencialmente infeccioso, la determinación del riesgo ayuda a asignar los niveles de bioseguridad (instalaciones, equipo y prácticas) que reducen al mínimo el riesgo de exposición del trabajador o del ambiente a un agente.

La evaluación del riesgo puede ser cualitativa o cuantitativa. Ante la presencia de materiales peligrosos conocidos (por ejemplo, niveles residuales de formaldehído una vez descontaminado el laboratorio), se puede realizar una determinación cuantitativa. Sin embargo, en muchos de los casos, los datos cuantitativos pueden ser incompletos o hasta no existir (por ejemplo, la investigación de un agente desconocido o recepción de una muestra no etiquetada). El director del laboratorio o quien se encuentre a cargo de la investigación será el responsable de evaluar el riesgo con el fin de establecer el nivel de bioseguridad para el trabajo. Al realizar una evaluación del riesgo cualitativa, en primer lugar, se deben identificar y explorar todos los factores de riesgo. En algunos casos, se debe recurrir a otras fuentes de información, por ej: datos de expertos en la materia como por ejemplo las *Guías sobre Bioseguridad de la OMS (WHO Biosafety Guidelines)*. Siempre es aconsejable tomar precauciones universales.

Los factores de interés en la evaluación del riesgo incluyen:

1. La *patogenicidad* del agente infeccioso o la sospecha de que puede ser infeccioso, incluyendo la incidencia y la gravedad de la enfermedad. Cuanto más grave sea la enfermedad que potencialmente se pueda contraer, mayor será el riesgo. Por ejemplo, *Staphylococcus aureus* rara vez provoca una enfermedad grave o que revista riesgo de muerte dentro del ambiente del laboratorio y es relegada a un NBS-2. Los virus como el Ebola, Marburg y fiebre Lassa, que producen enfermedades con altas tasas de mortalidad y para los cuales no existen ni vacunas ni tratamiento, son manipulados en un NBS-4. No obstante, la gravedad de la enfermedad debe ser mitigada por otros factores. Los trabajos con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) y el de la Hepatitis B también se realizan en un NBS-2, si bien pueden causar una enfermedad potencialmente letal. Pero no se transmiten por vía de aerosoles, la incidencia de la infección adquirida en laboratorio es extremadamente baja para el VIH y existe una vacuna efectiva para la Hepatitis B.

2. Es posible que la *ruta de transmisión* (por ejemplo, parenteral, por aire o por ingestión) de agentes recientemente aislados no se haya establecido de manera definitiva. Los agentes que pueden transmitirse por aire son los que han originado la mayoría de las

infecciones de laboratorio. Es aconsejable, al planificar un trabajo con un agente relativamente no caracterizado y cuyo modo de transmisión no sea cierto, considerar la posibilidad de que se transmita por aerosol. Cuanto mayor sea el potencial, mayor será el riesgo.

3. La *estabilidad del agente* es una consideración que involucra no sólo la infección por aerosol (por ejemplo, de bacterias que forman esporas), sino también la habilidad del agente para sobrevivir durante largo tiempo en el ambiente. Se deben tener en consideración factores tales como la desecación, la exposición a la luz solar o a luz ultravioleta o la exposición a desinfectantes químicos.

4. La *dosis infecciosa* del agente representa otro de los factores a considerar. La dosis que origine la infección puede variar de una a miles de unidades. La compleja naturaleza de la interacción de los microorganismos y del hospedador presenta un desafío significativo aún para el más sano e inmune de los empleados del laboratorio, y puede generar un serio riesgo a aquéllos que posean una menor resistencia.

5. El *estado inmune* del personal de laboratorio está directamente relacionado a su susceptibilidad a la enfermedad al trabajar con un agente infeccioso.

6. La *concentración* (número de organismos infecciosos por unidad de volumen) es importante en el proceso de evaluación del riesgo. Tal determinación incluirá la consideración del ambiente que contenga el organismo (por ejemplo, tejido sólido, sangre viscosa, esputo o un medio líquido) y la actividad planificada en el laboratorio (por ejemplo, la amplificación del agente, sonicación o centrifugación). También es de importancia el volumen del material concentrado que se está manipulando. En la mayoría de los casos, los factores de riesgo aumentan a medida que aumenta el volumen de los microorganismos de alta titulación, ya que se requerirá una manipulación adicional de los materiales

7. El *origen* del material potencialmente infeccioso también representa un elemento crítico al determinar el riesgo. "Origen" puede referirse a la ubicación geográfica (por ejemplo, dentro o fuera del país), al hospedador (por ejemplo, ser humano o animal infectado o no infectado) o a la naturaleza de la fuente (zoonótica potencial o asociada con el brote de una enfermedad). Desde otra perspectiva, este factor también abarca el potencial de los agentes para poner en peligro al ganado o aves de granja americanas.

8. La *disponibilidad de datos surgidos de estudios con animales*, en ausencia de datos humanos, puede brindar información de utilidad al evaluar el riesgo. La información relacionada con la patogenicidad, infectividad y con la ruta de transmisión en animales puede brindar pautas valiosas. Sin embargo, siempre hay que tomar recaudos al trasladar los datos sobre infectividad de una especie de animal a otra especie.

9. Otro de los factores esenciales a ser considerados es *la disponibilidad de una profilaxis eficaz* o la intervención terapéutica. La forma de profilaxis más usual consiste en la

inmunización con una vacuna eficaz. La evaluación del riesgo incluye determinar si existe una inmunización efectiva disponible. En algunos casos, la inmunización puede afectar el nivel de bioseguridad (por ejemplo, el virus Junín de NBS-4 puede ser manipulado en un NBS-3 por personal inmunizado). La inmunización también puede ser pasiva (por ejemplo, el uso de inmunoglobulina en suero en exposición a VHB). Si bien es importante, la inmunización sólo sirve como un paso adicional de protección más allá de los controles técnicos, de las prácticas y procedimientos correctos y del uso de equipo de protección personal. Ocasionalmente, la inmunización o la intervención terapéutica (antibióticos o terapia antiviral) pueden ser de particular importancia en las condiciones del ambiente. La oferta de inmunizaciones forma parte de la administración del riesgo.

10. La *supervisión médica* garantiza que las medidas de seguridad que se han tomado realmente produzcan los resultados de salud esperados. La supervisión médica es parte de la evaluación del riesgo. Puede incluir bancos de suero, el monitoreo de la salud del empleado y la participación en las medidas post-exposición.

11. La determinación del riesgo también debe incluir una evaluación de *la experiencia y del nivel de capacitación del personal* que se encuentra expuesto al riesgo, por ejemplo, las personas que trabajan en el laboratorio y el personal de mantenimiento, el personal de limpieza y el personal encargado del cuidado de los animales (remítase a la Sección III). Puede ser necesaria la planificación de instrucción adicional para garantizar la seguridad de las personas que trabajan en cada uno de los niveles de bioseguridad.

Los agentes infecciosos cuyo riesgo se evalúa generalmente quedan contenidos en las siguientes categorías: materiales que contienen agentes infecciosos conocidos, materiales que contienen agentes infecciosos desconocidos, materiales que contienen moléculas de ADN recombinante y materiales que pueden contener o no agentes infecciosos desconocidos.

ESTUDIOS EN ANIMALES

El empleo de animales en estudios microbiológicos ha aportado al conocimiento de los mecanismos patogénicos de numerosos microorganismos, de la respuesta inmune que genera el animal frente a la infección, y en el estudio de cepas atenuadas y preparaciones derivadas de los microorganismos que han permitido el desarrollo de vacunas. De este modo, los estudios microbiológicos en animales han contribuido a mejorar la salud humana y animal.

Es de destacar que el empleo de animales de laboratorio con fines experimentales en general implica la obligación moral de adoptar todas las medidas necesarias para

asegurar el bienestar de los animales, evitar o minimizar todo dolor, estrés o sufrimiento innecesario. Estas medidas incluyen un alojamiento cómodo, higiénico y de dimensiones suficientes, y proporcionar agua y comida de buena calidad y en cantidad suficiente. Al final del experimento habrá que sacrificar los animales con el procedimiento menos cruel posible.

Si bien en nuestro país existe la ley nacional 14346/54, que describe, en su artículo 3, penas por actos de crueldad en los animales de laboratorio, no existe una ley específica para el uso de animales destinados a estudios científicos o diagnósticos. A pesar de la falta de legislación, numerosas instituciones educativas y de investigación, incluyendo la Universidad Nacional de San Luis, han constituido comités llamados Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) con el propósito de asegurar el cumplimiento de normas internacionales en los diversos procedimientos experimentales de la institución que emplean animales de laboratorio.

Los estudios en animales pueden presentar diferentes tipos de riesgos físicos, ambientales y biológicos. Los riesgos específicos que se presentan en los estudios microbiológicos en animales varían de acuerdo con:

- a) las especies animales empleada como reservorio,
- b) el agente infeccioso utilizado,
- c) la naturaleza de la actividad de investigación a realizar,
- d) la susceptibilidad del usuario que realiza estas actividades,
- e) la instalación de mantenimiento del animal durante el estudio microbiológico ya sea con agentes patógenos humanos o zoonóticos.

El conocimiento de estos factores, ayuda en la selección de las medidas de bioseguridad adecuadas:

- a) El empleo de animales obtenidos de criaderos confiables y que certifiquen el patrón sanitario de los animales, reduce el potencial de que los animales porten agentes infecciosos. Un período de cuarentena adecuado para la realización de pruebas de diagnóstico y el tratamiento adecuado, cuando sea posible, ayuda a prevenir las infecciones en los animales y su transmisión a los técnicos del laboratorio.
- b) Se deberá conocer en profundidad el agente infeccioso con el que se trabaja.
- c) El microorganismo deberá ser manipulado por personal experimentado.
- d) La susceptibilidad del usuario dependerá de su estado inmunológico.

- e) Teniendo en cuenta el potencial riesgo de exposición al agente infeccioso durante el estudio en animales, los mismos deberán alojarse en un local separado o aislarlo de las partes públicas del laboratorio.

Para la evaluación del riesgo también deben considerarse las vías de transmisión de la infección por el animal. Los animales pueden transmitir microorganismos por vías naturales como son la diseminación respiratoria, por orina, saliva, heces o lesiones en piel. Las personas que manipulan animales tienen un mayor riesgo de exposición a los aerosoles, mordeduras y rasguños de los animales. Las formas de transmisión del microorganismo desde los animales también pueden producirse en forma artificial al realizarse una biopsia, la obtención o manipulación de las muestras de sangre, tejidos o fluidos corpóreos, durante la necropsia, o a través del instrumental quirúrgico contaminado.

Al igual que los laboratorios, los lugares de mantenimiento de animales de laboratorio pueden clasificarse en cuatro niveles de bioseguridad, que dependen de la evaluación del riesgo y al grupo de riesgo al que pertenecen los microorganismos investigados.

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

1. La vía normal de transmisión.
2. Los volúmenes y las concentraciones que van a manejarse.
3. La vía de inoculación.
4. La vía de excreción de los agentes.

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

1. El grado de agresividad de los animales.
2. Sus endoparásitos y ectoparásitos naturales.
3. Las zoonosis a las que son susceptibles.
4. La posible diseminación de alérgenos.

CRITERIOS DE NIVEL DE BIOSEGURIDAD DE LOS ANIMALES VERTEBRADOS

Cuando se utilizan animales experimentales, la institución debe proveer las instalaciones, el personal y las prácticas que aseguren de manera razonable los niveles adecuados de calidad ambiental y seguridad. Las instalaciones para los animales de laboratorio son simplemente una clase de laboratorio.

Como principio general, los NBS (instalaciones, prácticas y requisitos operativos) son comparables a aquellos recomendados para trabajar con agentes infecciosos *in vitro*. Sin embargo, como se indicó previamente, es necesario recordar que la sala para animales puede presentar algunos riesgos particulares debido a que las características de los animales, ya que los mismos pueden generar aerosoles, pueden morder o rasguñar, y pueden sufrir una enfermedad zoonótica.

Las recomendaciones presuponen que las instalaciones de los laboratorios para animales, las prácticas operativas y la calidad de la atención de los animales cumplen con los estándares y reglamentaciones de la *Guía para la Atención y Uso de Animales de Laboratorio*, y que han sido seleccionadas las especies de animales adecuadas para los experimentos. Además, la institución debería contar con un plan de seguridad y de salud ocupacional. Idealmente, las instalaciones utilizadas en los estudios de enfermedades infecciosas deberían estar separadas físicamente de otras actividades como la producción y cuarentena de animales, los laboratorios clínicos, y especialmente de las instalaciones en donde se atiende a pacientes. Debería considerarse en los planos el flujo de tráfico que minimice el riesgo de contaminación cruzada, por ejemplo utilizar la distribución desde una “sala limpia a una sucia”.

Como en el caso de los laboratorios, los requisitos relativos a las características de diseño, el equipo y las precauciones son cada vez más estrictos a medida que aumenta el nivel de bioseguridad. Las recomendaciones describen cuatro combinaciones de prácticas, equipo de seguridad e instalaciones para experimentos con animales infectados con agentes que provocan, o pueden provocar infecciones en los seres humanos. Estas cuatro combinaciones, designadas Niveles de Bioseguridad Animal (NBSA), ofrecen mayores niveles de protección al personal y al medio ambiente, y se recomiendan como estándares mínimos para las actividades que involucren a animales de laboratorio infectados. Los investigadores sin experiencia en la realización de estos tipos de experimentos deben recurrir a profesionales con experiencia para el diseño de sus experimentos. Esos requisitos se resumen en la **Tabla 2**. Las recomendaciones son acumulativas; es decir, cada nivel incorpora los requisitos de los niveles inferiores.

Tabla 2. Niveles de contención para los estudios microbiológicos en animales: resumen de los procedimientos y equipo de seguridad.

Grupos de Riesgo	Niveles de Contención	Procedimientos de Laboratorio y Equipo de Seguridad
1	NBSA-1	Acceso restringido, ropa y guantes protectores
2	NBSA-2	Procedimientos del NBSA-1 más señales de advertencia del riesgo. Cabinas de seguridad biológica (CSB) de clase I o II para las actividades que producen aerosoles. Descontaminación de desechos y jaulas antes del lavado.
3	NBSA-3	Procedimientos del NBSA-2, más acceso controlado. CSB y ropa protectora especial para todas las actividades.
4	NBSA-4	Procedimientos del NBSA-3, más acceso estrictamente restringido. Muda de ropa antes de entrar. CSB de clase III o trajes de presión positiva. Ducha a la salida. Autoclavado de todos los desechos antes de su salida de las instalaciones.

A continuación, se describen en detalle las prácticas e instalaciones necesarias para trabajar con animales infectados con agentes asignados a los NBS 1-4 correspondientes.

NIVELES DE BIOSEGURIDAD ANIMAL (NBSA)

Cada uno de los NBSA 1-4 describen las prácticas estándares y especiales aplicables, los equipos de seguridad y las instalaciones para trabajar con animales infectados con agentes asignados a los NBS 1-4, respectivamente.

Nivel de Bioseguridad Animal-1 (NBSA-1)

Se trabaja con agentes bien caracterizados que no generan enfermedad en seres humanos adultos sanos. **Riesgo:** mínimo

1.a. Prácticas Estándares

1. El director es quien establecerá políticas, procedimientos y protocolos para situaciones de emergencia. Cada proyecto está sujeto a la pre-aprobación de un

- Comité Institucional para la Atención y Uso de Animales y de un Comité Institucional de Riesgo Biológico. Toda práctica especial se aprueba en este momento.
2. Sólo pueden ingresar a las instalaciones quienes tengan autorización. Antes de ingresar, se les advertirá a las personas sobre los riesgos biológicos (RB) potenciales y se les indicará las medidas de seguridad adecuadas.
 3. Se instituirá un programa de control médico apropiado.
 4. Se preparará y adoptará un manual de seguridad.
 5. No se permiten en las salas para animales: comer, beber, fumar, manipular lentes de contacto, maquillarse y almacenar alimentos para consumo humano.
 6. Se necesitan técnicas microbiológicas apropiadas. Todos los procedimientos se llevan a cabo con mucho cuidado para minimizar la creación de aerosoles o salpicaduras.
 7. Se descontaminan las superficies de trabajo después de utilizarlas y siempre que se produzca el derrame de cualquier material viable.
 8. Se transportan todos los desechos de los de animales (incluyendo tejidos, cuerpos muertos y lechos de viruta contaminado) desde la sala en recipientes cubiertos a prueba de filtraciones, para su disposición adecuada en conformidad con los requisitos institucionales y locales aplicables. Se recomienda la incineración.
 9. Se deben instituir políticas para el manejo seguro de objetos cortantes o punzantes.
 10. El personal debe higienizarse las manos después de manipular cultivos y animales, después de retirarse los guantes y antes de salir de las instalaciones para animales.
 11. Se debe colocar una señal de advertencia de RB en la entrada a la sala de animales cuando se encuentren presentes agentes infecciosos (Figura 4). La señal de advertencia de RB debe además identificar al agente o agentes infecciosos en uso, enumerar el nombre y el número de teléfono de la o las personas responsables e indica los requisitos especiales necesarios para poder ingresar a la sala para animales (por ejemplo, la necesidad de inmunizaciones y respiradores).
 12. Se encontrará en vigencia un programa de control de insectos y roedores.



Figura 5. Símbolo de riesgo biológico en sala de animales.

1.b. Prácticas Especiales: ninguna

2. Equipo de seguridad (Barreras Primarias)

Usar delantales dentro de las instalaciones, los que deben permanecer en la sala de animales. No se utilizarán los delantales o uniformes fuera de las instalaciones.

3. Instalaciones de laboratorio (Barreras Secundarias)

1. Las instalaciones para animales deben estar separadas de otras áreas abiertas al tráfico irrestricto de personal dentro del edificio.
2. Las puertas externas de las instalaciones se deben cerrar y trabar automáticamente. Las puertas de las salas para animales abren hacia adentro, se cierran automáticamente y deben mantenerse cerradas cuando se encuentren presentes animales para experimentos. Las puertas internas del cubículo pueden abrirse hacia afuera o deslizarse de manera horizontal o vertical.
3. Las instalaciones para animales se deberán diseñar, construir y mantener para facilitar la limpieza. Las superficies interiores (paredes, pisos y cielorrasos) deben ser resistentes al agua.
4. Los accesorios del interior de las instalaciones, como accesorios de iluminación, conductos de aire y tuberías de servicios, deben instalarse "a desnivel" para minimizar las áreas de superficie horizontal.
5. No se recomiendan las ventanas. Toda ventana debe ser resistente a roturas. En la medida de lo posible, las ventanas deben estar selladas. Si las instalaciones para animales tienen ventanas que se abren, deben colocarse mosquiteros.
6. Si se colocan drenajes en el piso, las trampas siempre tienen que tener agua y/o un desinfectante apropiado.
7. No debe recircularse el aire de escape. Se recomienda que las salas para animales mantengan una presión negativa en comparación con los corredores adyacentes.
8. Debe haber un lavatorio o pileta para manos en las instalaciones.
9. Las jaulas deben lavarse manualmente o en una lavadora de jaulas. La lavadora de jaulas mecánica debe dar un enjuague final a una temperatura de por lo menos 80°C.
10. La iluminación debe ser adecuada para todas las actividades, evitando el reflejo y brillo que pueden molestar la vista.

Nivel de Bioseguridad Animal-2 (NBSA-2)

Se trabaja con agentes que se asocian con la enfermedad humana **Riesgo:** de ingestión, exposición percutánea y mucosas.

1.a. Prácticas Estándares

Idem a NBSA-1 y además:

1. El acceso a la sala para animales estará limitado al menor número de individuos.
2. Todo el personal debe someterse a las inmunizaciones o a los análisis de los agentes manejados o potencialmente presentes (por ejemplo, vacuna contra la Hepatitis B, evaluación cutánea de TB). Cuando sea apropiado, se implementará un sistema de control de sueros.
3. Se recogerán, etiquetarán, transportarán y procesarán todas las muestras infecciosas a los fines de contener y evitar la transmisión de agentes. Se desinfectará la superficie externa del recipiente antes de transportar el material. Se recomienda someter a los contenidos al procedimiento de autoclave antes de la incineración.
4. Se instituirá políticas para el manejo seguro de objetos cortantes o punzantes:
 - a. Se restringirá el uso de agujas y jeringas y otros instrumentos punzantes en las instalaciones de animales sólo para cuando no haya otra alternativa, como inyección parenteral, extracción de sangre o aspiración de fluidos de los animales de laboratorio.
 - b. Se deberán utilizar jeringas que re-enfundan las agujas, sistemas sin agujas, y otros dispositivos seguros cuando sea conveniente.
 - c. Se deberán reemplazar los instrumentos de vidrio por instrumentos de plástico siempre que sea posible.

1.b. Prácticas Especiales

1. El personal recibirá información adecuada sobre los riesgos potenciales y capacitación adicional. Se guardará registro de las actividades de capacitación. No se autorizará la entrada a personas con mayor riesgo.
2. Sólo se permitirá la presencia en la sala de los animales utilizados para los experimentos.

3. Se deberán descontaminar correctamente todos los equipos antes de retirarlos de la sala.
4. Se deberán informar de inmediato al director de la institución los derrames y accidentes. Se ofrecerá la evaluación, el control y tratamiento médico necesario y se guardarán registros escritos.

2. Equipo de seguridad (Barreras Primarias)

Idem a NBSA-1 y además:

1. Se utilizarán **gabinetes de seguridad biológica (GSB)**, otros dispositivos de contención física y/o **equipo de protección personal** (por ejemplo, respiradores, máscaras faciales) cuando se lleven a cabo procedimientos con un alto potencial de generación de aerosoles. Estos incluyen la necropsia de animales infectados, recolección de tejidos o fluidos de los animales infectados o huevos, o la inoculación intranasal de animales.
2. Cuando sea necesario, se alojarán los animales en **equipos de contención primaria de bioseguridad** adecuados para la especie animal. Las jaulas con filtros en la parte superior (Figura 5) deben manipularse siempre en gabinetes de biocontención animal, adecuadamente diseñados, recomendados para roedores.

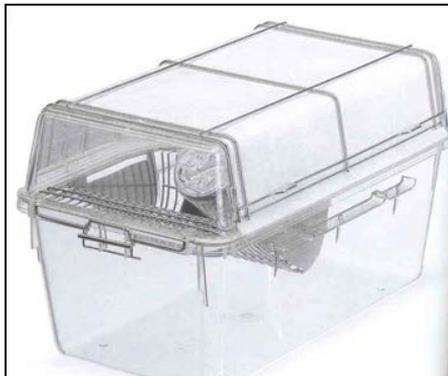


Figura 6. Jaula con filtro en la parte superior (Tomada de "Bioseguridad en Bioterios de Experimentación. Riesgo Biológico y niveles de protección Parte II, Equipamientos de Seguridad, Edificación y Recintos (Instalaciones), Autor: Med. Vet. Joel Majerowicz <http://www.bioterios.com>)

3. Instalaciones de laboratorio (Barreras Secundarias)

Idem a NBSA-1 y además:

Disponer de un autoclave en las instalaciones de animales para descontaminar los desechos infecciosos.

Nivel de Bioseguridad Animal-3 (NBSA-3)

Se trabaja con agentes autóctonos o exóticos. **Riesgo:** Potencial de transmisión por aerosoles y posibilidad de provocar enfermedades graves o potencialmente letales.

1.a. Prácticas Estándares

Idem a NBSA-2 y además:

1. La evaluación del personal autorizado para el ingreso debe realizarla un médico ocupacional.
2. Se debe preparar o adoptar un manual de bioseguridad. Se le advertirá al personal sobre los riesgos especiales y se le exigirá que lea y siga las instrucciones sobre prácticas y procedimientos.
3. Se le ofrecerá al personal de soporte y de laboratorio de atención de animales, instrucción adecuada sobre los riesgos potenciales asociados con el trabajo en cuestión, las precauciones necesarias para evitar exposiciones y los procedimientos de evaluación de la exposición. El personal recibirá actualizaciones anuales y/o capacitación adicional, según sea necesario, conforme a las modificaciones en las políticas y procedimientos. Se guardará registro de todas las actividades de capacitación ofrecidas.

1.b. Prácticas Especiales

1. Las jaulas se deben someter al proceso de autoclave o ser cuidadosamente descontaminadas antes de retirar el lecho de viruta y antes de limpiarlas y lavarlas. Se debe descontaminar el equipo conforme a las normas locales antes de ser embalado para transporte o para su reparación o mantenimiento.
2. Se debe desarrollar y anunciar un procedimiento para derrames. Solamente el personal capacitado y equipado para trabajar con materiales infecciosos puede limpiar los derrames. Se debe informar de inmediato al director del establecimiento los derrames y accidentes que deriven en exposiciones evidentes a los materiales infecciosos. Se ofrecerá evaluación, control y tratamiento médico según sea necesario y se guardarán registros escritos.

3. Se debe someter al proceso de autoclave todos los desechos de las salas para animales antes de la incineración u otro tratamiento terminal adecuado.
4. No se permitirá la presencia de materiales no relacionados con el experimento (por ejemplo, plantas, animales) en la sala para animales.

2. Equipos de seguridad (Barreras Primarias)

1. El personal que ingrese a la sala para animales debe usar uniformes o trajes de limpieza. Se debe usar delantales envolventes o con la delantera lisa. No son adecuados los ambos con botones en la parte delantera. Se debe sacar y dejar los delantales en la sala para animales. Antes de dejar las instalaciones de animales, el personal se debe sacar los uniformes y trajes de limpieza, ubicarlos en el lugar adecuado y descontaminarlos antes de lavarlos o desecharlos.

2. El equipo de protección del personal utilizado se basa en la **evaluación de riesgo**: a) Se debe usar **equipo de protección** personal para todas las actividades que **impliquen la manipulación** de material **infeccioso o animales infectados**, b) Los guantes que use el personal cuando manipule animales infectados, se deben retirar asépticamente y **se someterán al proceso de autoclave** con otros desechos de la sala para animales **antes de ser desechados**, c) el personal que ingrese a la sala para animales debe usar **protección adecuada para el rostro/ojos y de respiración** (por ejemplo, respiradores y máscaras de rostro). Quedan a disposición **botas, cobertores de zapatos u otro calzado protector** para su utilización cuando sea indicado.

Se puede reducir el riesgo de aerosoles infecciosos de animales infectados o de sus lechos de viruta si se alojan los animales en sistemas de jaulas de contención. Se deben utilizar GSB y otros dispositivos de contención física cuando se llevan a cabo procedimientos con un alto potencial de crear aerosoles.

3. Instalaciones de laboratorio (Barreras Secundarias)

1. Las instalaciones para animales se **encontrarán separadas** de otras áreas abiertas y al tráfico de personal irrestricto dentro del edificio.
2. El acceso a las instalaciones estará restringido por puertas que cierren y traben automáticamente. El ingreso a la sala para animales se realizará vía una entrada de doble puerta que incluye un vestuario con duchas. Las puertas de las salas para animales deben abrirse hacia adentro y cerrarse automáticamente. Las puertas del cubículo dentro de la sala de animales pueden abrir hacia afuera o deslizarse de manera horizontal o vertical.

3. Las instalaciones para animales se deben diseñar, construir y mantener para facilitar la limpieza. Las superficies interiores (paredes, pisos y cielorrasos) deben ser resistentes al agua. Las penetraciones en las superficies de los pisos, paredes y cielorrasos estarán selladas y las aberturas que rodean a los conductos y los espacios entre las puertas y los marcos pueden sellarse para facilitar la descontaminación.
4. Se colocará un lavatorio de manos **operado automáticamente o de manos libres** en cada sala de animales cerca de la puerta de salida. La trampa del lavatorio se llenará con un desinfectante adecuado después de cada uso.
5. Los accesorios de interior de las instalaciones, como accesorios de iluminación, conductos de aire y tuberías de servicios, serán colocados de forma de minimizar las áreas de superficie horizontal.
6. Todas las ventanas deben ser resistentes a roturas. En la medida de lo posible, se debe sellar las ventanas. Si las instalaciones tienen ventanas que se pueden abrir, deben colocarse mosquiteros.
7. Si existen drenajes en el piso, tienen que tener siempre un desinfectante adecuado.
8. El aire de escape no se debe recircular a ninguna otra parte del edificio. El aire de escape debe dispersarse fuera de las áreas ocupadas y de las entradas de aire o se debe filtrar con filtros HEPA. Se recomienda la colocación de un dispositivo de monitoreo visual que indique y confirme que se provea el flujo de aire direccional hacia adentro en la entrada de la sala para animales. Se debe considerar la instalación de un sistema de control HVAC para evitar la presurización positiva sostenida de las áreas de animales. Se debe considerar la instalación de alarmas audibles para notificar al personal las fallas del sistema HVAC.
9. El aire de escape filtrado por HEPA desde un GSB Clase II puede recircularse en la sala para animales si se controla y certifica el gabinete por lo menos una vez por mes.
10. Las jaulas se deben lavar en una lavadora de jaulas (80°C).
11. Debe estar a disposición un autoclave en las salas para animales donde exista riesgo biológico, para descontaminar los desechos infecciosos antes de trasladarlos a otras áreas de las instalaciones.
12. Si se ofrece un servicio de vacío (por ejemplo, central o local), cada conexión del servicio debe contar con trampas de desinfectante líquido y un filtro HEPA en línea, ubicados tan cerca como sea posible de cada punto de uso o grifo de servicio. Se instalarán los filtros para permitir la descontaminación en el lugar y su reemplazo.
13. La iluminación debe ser adecuada para todas las actividades, evitando reflejos y brillos que puedan molestar la vista.
14. Se debe documentar los procedimientos operativos y el diseño de las instalaciones de Nivel 3 de Bioseguridad completos.

15. Se debe considerar la utilización de protecciones ambientales adicionales (por ejemplo, duchas para el personal, filtros HEPA para el aire de escape, contención de otros servicios entubados y la provisión de descontaminación de efluentes)

Nivel de Bioseguridad Animal-4 (NBSA-4)

Se trabaja con agentes peligrosos o exóticos. **Riesgo:** Alto riesgo de producir una enfermedad que ponga en riesgo la vida, la transmisión por aerosol y agentes relacionados con riesgos de transmisión desconocidos.

1.a. Prácticas Estándares

Idem a NBSA-3 y además:

El personal asignado al trabajo con animales infectados debe trabajar de a dos. Basándose en la evaluación de riesgo, se debe instituir el uso de jaulas de sujeción, el trabajo con animales anestesiados solamente u otros procedimientos para reducir la posible exposición del trabajador.

1.b. Prácticas Especiales

1. Se pondrán en efecto medidas adicionales para controlar el acceso (por ejemplo, una guardia de 24 horas y un sistema de control de entrada y salida). El personal podrá ingresar y salir de las instalaciones solamente a través de los vestuarios y duchas. El personal se duchará cada vez que se retira de las instalaciones. El personal no deberá ingresar o salir de las instalaciones a través de los cierres herméticos, salvo en una emergencia.

2. En una operación de GSB Clase III, el personal se sacará la ropa en el vestuario exterior y permanece allí. Se le entregará al personal que ingresa al establecimiento un juego completo de ropa de laboratorio, incluyendo la ropa interior, pantalones y camisas o trajes de una pieza, calzado y guantes. Se esterilizará la ropa sucia en un autoclave.

3. Se requerirá un cambio de ropa completo.

4. Los suministros y materiales se ingresarán al establecimiento vía un autoclave de doble puerta o una cámara de fumigación. Después de asegurar la puerta exterior, el personal dentro de las instalaciones abrirá la puerta interior para retirar los materiales. Las puertas del autoclave y de la cámara de fumigación estarán interconectadas como para evitar la apertura de la puerta exterior salvo que se haya operado el autoclave a través de un “ciclo de esterilización” o que se haya descontaminado la cámara de fumigación.

5. Se establecerá un sistema para informar accidentes, incidentes, exposiciones y ausentismo de los empleados, y para el control médico de las enfermedades de laboratorio potenciales. Un accesorio esencial de dicho sistema de informe/control es la disponibilidad de instalaciones de cuarentena, aislamiento o atención médica de las personas con una enfermedad de laboratorio potencial o conocida.

6. Se deben analizar las muestras de suero recolectadas a intervalos y comunicar los resultados a los participantes.

2. Equipos de seguridad (Barreras Primarias)

1. Los animales de laboratorio infectados con agentes del Nivel 4 de Bioseguridad deben alojarse dentro de un GSB Clase III en un Laboratorio de NBS-4. Se le exige a todo el personal que vista uniformes de una pieza con presión positiva ventilados. Los animales infectados deberán colocarse en un sistema de contención parcial (como jaulas abiertas ubicadas en recintos ventilados, con paredes y fondo sólidos cubiertas con tapas con filtros y que se abran en campanas de flujo laminar u otros sistemas de contención primarios).

2. Se deberá considerar el empleo de material descartable que no necesite limpieza, incluyendo las jaulas de los animales. Los materiales descartables deben someterse al proceso de autoclave a la salida de las instalaciones y luego incinerarse.

3. Instalaciones de laboratorio (Barreras secundarias)

Las áreas de animales NBS-4 pueden incluirse como una parte integral de los Laboratorios Aptos de NBS-4.

BIBLIOGRAFÍA

- Ballester D, Beer L, Botto L, Casimiro AM, Cerdá N., Latapié L, Valdez I, Glaser R. 2005. Niveles de riesgo y condiciones de bioseguridad en el laboratorio clínico. Asociación Argentina de Microbiología. Buenos Aires, Argentina.
- Basualdo JA, Coto CE y de Torres, RA. 2006. Microbiología Biomédica. Ed. Atlante. Segunda Edición.
- Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld A, Trevino E. Bayley-Scott. 2004. Seguridad en el laboratorio. Diagnostico Microbiológico. Capítulo 2. 11ª Edición. Editorial Médica Panamericana.
- Guía sobre la reglamentación relativa al Transporte de sustancias infecciosas 2007–2008. OMS. Disponible en http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/who_cds_epr_2007
- National Research Council. 1997. *Occupational health and safety in the care and use of research animals*. Washington, DC, National Academy Press.
- Norma Argentina IRAM 80059. Clasificación de microorganismos infectantes por grupo de riesgo para humanos y animales, y su relación con los niveles de bioseguridad según la actividad desarrollada. Principios Generales. 2000. 1ª Edición.
- Organización Mundial de la Salud (OMS) 2005. Manual de Bioseguridad en el Laboratorio. 3ª Edición. Ginebra.
- Richmond JY & McKinney RW. 2000. Primary containment for biohazards: selection, installation and use of biological safety cabinets, 2ª Ed. Washington, DC, United States Department of Health and Human Services/Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.
- Richmond JY & McKinney RW. Eds. 1999. CDC - Bioseguridad en laboratorios de microbiología y biomedicina (Ministerio de Salud Subsecretaria de Programas de Prevención y Promoción Programa de Vigilancia de la Salud y Control de Enfermedades Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud)

- Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. CDC/NIH. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service (4^a Ed.). Washington; 1999.
- Mahon, Conni and Manuselis, George. Textbook of Diagnostic Microbiology. 2^o edition. USA: W.B. Saunders Company; 2000.