



ASESORÍA JURÍDICA.  
BFV/MMS

1

APRUÉBANSE LAS GUÍAS DE SEGURIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS PARA LABORATORIOS, ELABORADAS POR EL DEPARTAMENTO LABORATORIO BIOMÉDICO NACIONAL Y DE REFERENCIA DEL INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE.

0115 \*19.01.2017

RESOLUCIÓN EXENTA N° \_\_\_\_\_/

SANTIAGO,

**VISTOS:** la Providencia Interna N° 60, de fecha 10 de enero de 2017, de la Jefa Asesoría Jurídica; la Providencia N° 009, de fecha 6 de enero de 2017, de la Jefa de Gabinete; el Memorándum N° 758, del 30 de diciembre de 2016 de la Jefa del Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia, y

**CONSIDERANDO:**

**PRIMERO:** Que conforme el inciso final del artículo 57 del Decreto con Fuerza de Ley N° 1, del año 2005, el Instituto de Salud Pública de Chile servirá de laboratorio nacional y de referencia en los campos de la microbiología, inmunología, bromatología, farmacología, imagenología, radioterapia, bancos de sangre, laboratorio clínico, contaminación ambiental y salud ocupacional y desempeñará las demás funciones que le asigna dicha ley.

**SEGUNDO:** Que en razón de lo anterior, la Sección Micobacterias del Subdepto. Enfermedades Infecciosas, pertenecientes al Depto. Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia de este Instituto ha redactado una guía de bioseguridad en el diagnóstico de tuberculosis para laboratorios, con el fin de reducir riesgos en la manipulación de muestras o cultivos, en el que se siguen las recomendaciones emanadas desde la OMS y que están incorporadas en el manual de bioseguridad en laboratorio de tuberculosis del año 2012.

**TERCERO:** Que, es necesario que esta guía sea aprobada administrativamente, y

**TENIENDO PRESENTE:** lo dispuesto en la Ley Orgánica Constitucional N° 18.575, de Bases Generales de la Administración del Estado; en la Ley N° 19.880, de Base de los procedimientos administrativos que rigen los actos de los órganos de la Administración del Estado; en los artículos 57, 59 letra a) del Decreto con Fuerza de Ley N° 1 de 2005, del Ministerio de Salud que fija el texto refundido, coordinado y sistematizado del Decreto Ley N° 2763 de 1979 y de las Leyes N° 18.933 y N° 18.469; la Resolución N° 1.600 de 2008, de la Contraloría General de la República, y las facultades que me confiere el Decreto N° 101, de 2015, del Ministerio de Salud, dicto la siguiente:

## R E S O L U C I Ó N

**1.- APRUÉBANSE** las “**LAS GUÍAS DE SEGURIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS PARA LABORATORIOS**”, elaboradas por el Depto. Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia del Instituto, el que consta de 57 páginas, las que a continuación se reproducen íntegramente:

**“GUÍA DE BIOSEGURIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS PARA LABORATORIOS.**

**AUTORES:**

*BQ. Álvaro Díaz Briceño. Sección Micobacterias. Subdepartamento Enfermedades Infecciosas. Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia. Instituto de Salud Pública de Chile.*

*T.M. Angélica Scappaticcio Bordón. Sección Micobacterias. Subdepartamento Enfermedades Infecciosas. Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia. Instituto de Salud Pública de Chile.*

**REVISORES INTERNOS:**

*TM. Fabiola Arias Muñoz. Jefe Sección Micobacterias. Subdepartamento Enfermedades Infecciosas. Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia. Instituto de Salud Pública de Chile.*

*Dr. Juan Carlos Hormazabal Opazo. Jefe Subdepartamento Enfermedades Infecciosas. Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia. Instituto de Salud Pública de Chile.*

*Dra. Verónica Ramírez Muñoz. Jefe Subdepartamento Coordinación Externa. Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia. Instituto de Salud Pública de Chile.*

**ÍNDICE DE CONTENIDOS**

RESUMEN	Pág. 3
ALCANCE	Pág. 4
INTRODUCCIÓN	Pág. 4
ABREVIATURAS	Pág. 6
 <b>DESARROLLO</b>	
1. MEDIDAS MÍNIMAS DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO DE TB.	Pág. 7
1.1 Buenas prácticas: acceso al laboratorio; EPP; procedimientos; zonas de trabajo; otras conductas seguras; equipos.	
1.2 Diseño e instalaciones del laboratorio de TB.	
1.3 Desinfectantes y limpieza de laboratorios.	
1.4 Capacitación.	
1.5 Biocustodia.	
 2. EQUIPO DE SEGURIDAD.	 Pág. 16
2.1 Gabinetes de bioseguridad.	

2.2 Centrifugas con contenedores de seguridad.

2.3 Autoclaves.

3. ELEMENTOS DE PROTECCIÓN PERSONAL (EPP).	Pág. 26
3.1 Delantales de laboratorio y batas.	
3.2 Respiradores de ultrafiltración.	
3.3 Guantes desechables.	
3.4 Otros.	
4. TRANSPORTE DE MUESTRAS.	Pág. 31
5. MANEJO DE DESECHOS BIOLÓGICOS.	Pág. 33
6. RESPUESTA A DERRAMES BIOLÓGICOS EN EL LABORATORIO DE TUBERCULOSIS.	Pág. 34
6.1 Derrame biológico fuera de GBS.	
6.2 Derrame biológico en GBS.	
6.3 Rotura de tubos con derrame de material contaminado (muestras o cepas) en la centrifuga.	
6.4 Estación de seguridad.	
6.5 Consideraciones generales para el manejo de material contaminado.	
6.6 Manipulación de recipientes de muestras con filtraciones y/o derrames.	
7. CLASIFICACIÓN DE LABORATORIOS DE TB DE ACUERDO AL RIESGO.	Pág. 37
Laboratorios de TB de bajo riesgo.	
Laboratorio de TB de riesgo moderado.	
<b>Anexo 1. EVALUACIÓN DE RIESGOS.</b>	Pág. 46
Evaluación de riesgos en los laboratorios de TB.	
Identificación de peligros.	
Determinación de los riesgos.	
Vigilancia de los riesgos y medidas de mitigación.	
Programa de salud ocupacional para los trabajadores.	
¿Cómo realizar una evaluación de riesgo de en un laboratorio de tuberculosis?	
<b>Anexo 2. DETERMINACIÓN DE LAS NECESIDADES DE VENTILACIÓN.</b>	Pág. 53
Cómo determinar la ventilación adecuada en un laboratorio de tuberculosis que utilice ventilación mecánica.	
Cómo calcular el número de intercambios de aire por hora en un laboratorio que utilice una GBS con conexiones de dedal.	
BIBLIOGRAFÍA.	Pág. 56

**RESUMEN**

El trabajo técnico en los laboratorios de tuberculosis es considerado una actividad riesgosa, debido a que la manipulación de las muestras y/o cultivos involucran procedimientos que pueden generar aerosoles que contienen bacilos infecciosos. Con el objetivo de disminuir estos riesgos, en el presente documento se presenta una serie de controles administrativos, de ingeniería, prácticas, procedimientos y equipo de protección personal, que deben ser considerados por los encargados de bioseguridad de los laboratorios de TB. La contención primaria de los aerosoles infecciosos es brindada por el gabinete de bioseguridad, equipo indispensable en los laboratorios que realizan baciloscopías y siembran cultivos de micobacterias. Por otra parte, el diseño del laboratorio y la adecuada ventilación unidireccional corresponden a medidas de contención secundaria, las que deben ser adoptadas por todos los laboratorios de tuberculosis. El resto de las medidas adoptadas para reducir el riesgo deben implementarse luego de la realización de una evaluación de riesgos, siempre a cargo del profesional que más conocimiento tenga de los peligros presentes en el laboratorio (por lo general, recae en el encargado de bioseguridad). Cabe destacar que las conclusiones derivadas de la evaluación de riesgos, son particulares para cada establecimiento, ya que dependen en última instancia de la infraestructura y epidemiología local. Este documento sigue las recomendaciones emanadas de la OMS y descritas en el manual de bioseguridad en el laboratorio de tuberculosis del año 2012.

### **ALCANCE**

El presente documento contiene los requisitos mínimos necesarios para el trabajo seguro en la red de laboratorios de TB del país, de acuerdo a las directrices emanadas del Laboratorio de Referencia Nacional de TB, correspondiente a la Sección Micobacterias en el Instituto de Salud Pública.

La estructura de la red de laboratorios se muestra en la siguiente tabla, con distintas denominaciones de acuerdo al criterio empleado para categorizarlos.

<b>Clasificación de laboratorios de acuerdo a:</b>			
<b>Nivel de complejidad*</b>	<b>Técnica desarrollada</b>	<b>Evaluación de riesgo</b>	<b>Estructura red de laboratorios*</b>
<b>I</b>	<b>Susceptibilidad e identificación</b>	<b>Alto</b>	<b>Nivel Central</b>
<b>II</b>	<b>Baciloscopía y Cultivo</b>	<b>Moderado</b>	<b>Nivel Intermedio</b>
<b>III</b>	<b>Baciloscopía</b>	<b>Bajo</b>	<b>Nivel Local</b>

\* Normas Técnicas Programa Nacional de Control de la Tuberculosis 2014 (Norma General Técnica N° 82, aprobada por resolución exenta N°434, del 26 de junio de 2014).

Esta Guía de Bioseguridad está dirigida al equipo de laboratorio (profesionales y técnicos) que realizan los distintos procedimientos para el diagnóstico de tuberculosis.

Con la información entregada, es responsabilidad de cada laboratorio realizar su propia evaluación de riesgos, para determinar qué medidas adicionales deben aplicarse para proteger debidamente al personal que manipula las muestras y/o cultivos.

### **INTRODUCCIÓN**

La tuberculosis es una enfermedad infectocontagiosa provocada principalmente por *Mycobacterium tuberculosis*, perteneciente al grupo de micobacterias conocido como Complejo *Mycobacterium tuberculosis*. El mecanismo de transmisión más frecuente del *M. tuberculosis* corresponde a la vía aérea, a través de la inhalación de aerosoles (partículas iguales o menores a 5  $\mu\text{m}$  también conocidos como núcleos de gotículas), generadas en el aparato respiratorio de personas con la enfermedad activa al toser, estornudar y hablar (Figura 1).

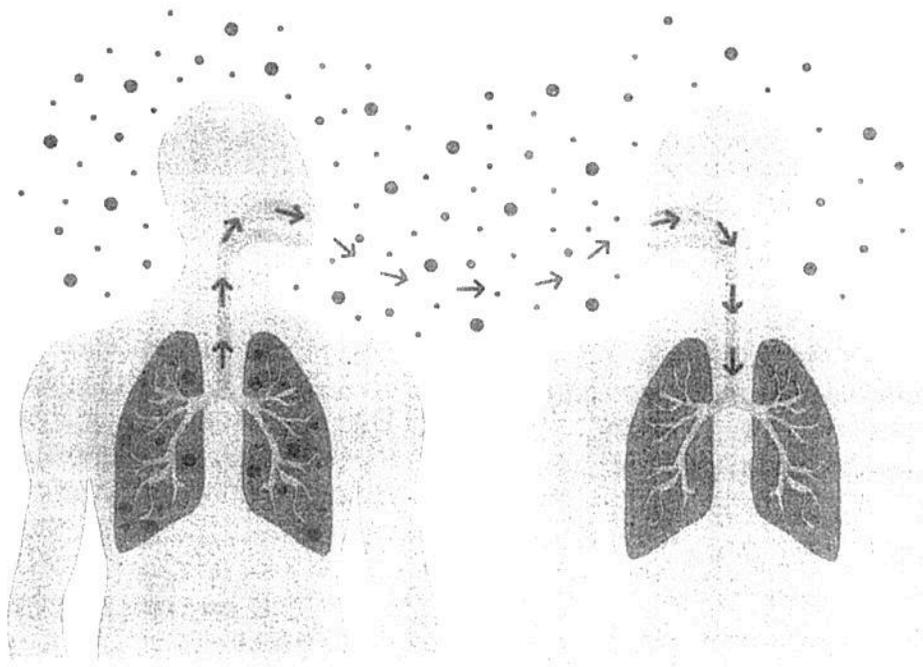


Figura 1: Esquematación de la transmisión de bacilos tuberculosos entre persona-persona. Los puntos verdes representan los aerosoles que contienen bacilos tuberculosos.

Cabe destacar que los aerosoles provenientes de pacientes enfermos no son la única fuente de infección, ya que la inhalación de partículas de polvo que contengan el agente infeccioso constituye también una fuente de infección. En habitaciones mal ventiladas, los aerosoles pueden permanecer suspendidos en el aire durante períodos prolongados, facilitando la inhalación y llegada a los alvéolos pulmonares de personas no infectadas.

En los laboratorios de TB los aerosoles se pueden generar durante la manipulación de muestras de pacientes o de cultivos positivos para bacilos tuberculosos. Todas las medidas de bioseguridad adoptadas por los laboratorios y por el personal deben tener como fin último disminuir la generación y exposición a los aerosoles infecciosos.

De acuerdo a la OMS, la bioseguridad se define como una combinación de controles administrativos, principios de contención, prácticas y procedimientos, equipo de seguridad, preparación para emergencias e instalaciones que permitan que el personal de laboratorio trabaje en condiciones de seguridad con microorganismos potencialmente infecciosos, lo que incluye prevenir la exposición involuntaria a agentes patógenos o la liberación accidental de éstos al medio ambiente. Las condiciones de seguridad mencionadas anteriormente se consiguen implementando las siguientes medidas de control (Tabla 1).

Tabla 1: Principales medidas de control para disminuir los riesgos en los laboratorios de TB.

Medidas de control	Ventajas	Desventajas
--------------------	----------	-------------

Controles de ingeniería	Eficientes, eliminan el peligro.	Costo, complejidad.
Controles administrativos	Enfoque institucional (autoridades de reglamentación).	Enfoque indirecto, abordan fundamentalmente el factor humano.
Prácticas y procedimientos	Basados en PROCET (enfoque normalizado).	Requisitos en materia de formación y supervisión.
EPP	Facilidad de uso, coste relativo.	No eliminan el peligro; si falla, se produce exposición; incómodo, limita la capacidad.

### Abreviaturas.

**CAH:** Cambios Aire Hora.

**EPP:** Equipo de protección personal.

**GBS:** gabinete de bioseguridad, también conocido como cabina de seguridad biológica.

**HEPA:** Filtro de partículas de alta eficiencia.

**IAL:** Infecciones Adquiridas en Laboratorio.

**MBV:** Material biológico valioso.

**MDR:** Multidrogorresistente. Referente a la tuberculosis provocada por cepas de *Mycobacterium tuberculosis* que son resistentes al menos a la isoniazida y la rifampicina.

**OMS:** Organización Mundial de la Salud.

**PROCET:** Programa de control y eliminación de tuberculosis.

**PPD:** Derivado proteico purificado (Prueba de tuberculina).

**TB:** tuberculosis.

**SR:** sintomático respiratorio. Paciente con tos y expectoración por más de 15 días.

**XDR:** Extremadamente-drogorresistente. Referente a la tuberculosis MR en la que el microorganismo también es resistente a una fluoroquinolona y al menos un agente inyectable de segunda línea (amikacina, kanamicina o capreomicina).

## DESARROLLO

### 1. MEDIDAS MÍNIMAS DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO DE TB.

Debido a las características particulares que presenta el *M. tuberculosis*, todos los laboratorios de TB, independiente de los procedimientos que realicen ya sea baciloscopia o cultivo, deben ejecutar una serie de conductas y medidas en bioseguridad indispensables para reducir el riesgo al mínimo. De acuerdo a la evaluación de riesgo particular de cada laboratorio, se pueden modificar o adicionar a las medidas que a continuación se describen:

#### 1.1 Buenas prácticas.

Se definen como las prácticas y procedimientos indispensables a realizar con el fin de reducir al mínimo los riesgos en los laboratorios de TB.

Primero se deben identificar los peligros conocidos y potenciales, luego se definen las prácticas y procedimientos adecuados asociados a dichos peligros permitiendo así realizar las técnicas bacteriológicas de manera correcta y segura.

En los laboratorios que manipulan muestras o cultivos que contienen *M. tuberculosis*, deben como mínimo desarrollar en sus códigos de prácticas los siguientes puntos:

✓ **Acceso al laboratorio:**

Solamente las personas autorizadas pueden hacer ingreso al laboratorio. Se debe incluir en la entrada al área técnica el símbolo internacional de peligro biológico, persona a cargo del laboratorio y teléfono de contacto para casos de emergencias, esta información también es necesaria por la biocustodia en los laboratorios de TB.

✓ **Equipo de protección personal (EPP):**

Es importante que se cuente con EPP en distintas tallas y disponibles para su uso en el área técnica. El personal debe vestir los EPP mientras trabaja en el laboratorio y utilizarlo solo en el área de trabajo. La ropa de laboratorio sucia debe almacenarse en una zona distinta a la destinada a la ropa limpia.

El uso de guantes es obligatorio al realizar tareas que requieran manipulación de esputos, sangre, líquidos corporales u otro material potencialmente infeccioso.

Para mayor detalle sobre los EPP necesarios para el trabajo seguro en los laboratorios de TB, revisar lo descrito en el capítulo 3 de la presente guía.

✓ **Procedimientos:**

Muchos de los procedimientos realizados en los laboratorios de TB involucran la realización de actividades, que tienen el potencial de generar aerosoles infecciosos (Tabla 2). Es importante que el personal los identifique y esté capacitado para la correcta ejecución de las técnicas microbiológicas, con el objetivo de reducir al mínimo la producción de aerosoles.

Tabla 2. Descripción de actividades que generan aerosoles de acuerdo al tipo de Laboratorio de TB según el riesgo.

Tipo de laboratorio	Actividades que generan aerosoles
<p>Bajo riesgo (realizan baciloscopía y ensayos moleculares de muestra directa)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Apertura de envases que contienen muestras.</li> <li>● Preparación del extendido (batido).</li> <li>● Centrifugación de las muestras.</li> <li>● Eliminación de sobrenadante.</li> <li>● Trasvase de muestras.</li> <li>● Rotura de envases.</li> </ul>
<p>Moderado riesgo (realizan baciloscopías, ensayos moleculares de muestra directa y cultivos)</p>	<p>Todas las anteriormente descritas más las que se indican a continuación:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Agitación mecánica de tubos con muestras.</li> <li>● Destape de tubos recién agitados o centrifugados.</li> <li>● Maceración de tejidos.</li> <li>● Siembra de muestras.</li> <li>● Ejecución de frotis de colonias.</li> <li>● Rotura de tubos con desarrollo de colonias.</li> </ul>

La documentación debe situarse lejos del área de procesamiento de muestras, para ser retirada al momento que se requiera.

Todos los accidentes, derrames, y potenciales eventos a exposición a *M. tuberculosis* deben ser comunicados al jefe del laboratorio y/o al encargado de bioseguridad. Debe existir un registro de incidentes en el que se detalle los eventos ocurridos, además de actas de mejora donde se indique las medidas correctivas inmediatas y a largo plazo adoptadas por el laboratorio. Con esta información se decide qué medidas preventivas adoptar, las que deben incluir la elaboración de un procedimiento para estandarizar las acciones a realizar frente a derrames, difundir esta información a todo el personal del laboratorio. Por último, se debe planificar realizar una capacitación práctica del procedimiento, realizando una simulación de exposición accidental a *M. tuberculosis* por lo menos una vez al año a todo el personal del laboratorio.

✓ **Zonas de trabajo:**

Se deben identificar en los laboratorios de TB zonas “funcionalmente limpias” y “potencialmente contaminadas”, de acuerdo a la ausencia o presencia de material infeccioso, respectivamente. La zona “limpia” incluye el área administrativa, lectura de baciloscopías y de preparación de reactivos y materiales; la zona “potencialmente contaminada” contiene el área de procesamiento y almacenamiento de muestras. Ambas zonas deben estar físicamente separadas.

✓ **Otras conductas seguras en el laboratorio:**

A continuación se indican conductas mínimas de seguridad para el trabajo en el laboratorio, adicionales a las indicadas en los puntos anteriores.

❖ Lavado de manos: el personal debe lavarse las manos después de cualquier exposición a material infeccioso (incidente de contaminación, manipulación de muestras o cultivos, realización de procedimientos microbiológicos), y siempre antes de abandonar las áreas técnicas del laboratorio.

❖ El lavado de manos debe ser prolijo, frotándolas bien durante al menos 15 segundos con agua y jabón, luego enjuagarlas en agua limpia y secarlas con una toalla limpia de papel desechable. Se recomiendan los grifos automáticos o los que no requieran el uso directo de las manos; de no contar con ellos, se utilizará una toalla de papel para cerrar el grifo.

❖ Se recomienda el uso de propipetas electrónicas o manuales.

❖ Está prohibido comer, beber, fumar, utilizar cosméticos y manipular lentes de contacto en el interior de los laboratorios.

❖ Está prohibido almacenar alimentos en el laboratorio.

❖ No está recomendado el uso de teléfonos celulares o cualquier otro dispositivo electrónico de uso personal en las áreas de procedimientos técnicos.

✓ **Equipos:**

Los equipos destinados al trabajo con muestras o cultivos que contienen *M. Tuberculosis* deben cumplir al menos con los siguientes requisitos:

❖ Debe estar diseñado, construido e instalado para facilitar el manejo sencillo, su mantenimiento, limpieza, descontaminación y pruebas de certificación.

❖ Debe estar fabricado con materiales lisos, sin bordes cortantes ni partes móviles sin protección.

❖ Debe estar construido de un material impermeable a líquidos y resistente a la corrosión, ya que es necesario descontaminar en caso de que ocurra un derrame.

❖ Tener un diseño tal que impida o limite el contacto entre el operador y el material infeccioso.

*Es importante destacar, que dentro de los equipos imprescindibles, el gabinete de bioseguridad (GBS) proporciona la **contención primaria** de los aerosoles infecciosos generados en ciertos procedimientos técnicos, y su uso se debe recomendar luego de realizar una evaluación de riesgos en los laboratorios.*

## **1.2 DISEÑO E INSTALACIONES DEL LABORATORIO DE TB.**

*El correcto diseño de la planta física contribuye a la protección del personal de laboratorio del M. tuberculosis, y actúa como barrera de protección de la comunidad frente a los aerosoles infecciosos generados en el laboratorio.*

*La separación de las distintas áreas y el sistema de ventilación del laboratorio son **medidas de contención secundaria**.*

*A continuación se indican los estándares mínimos de diseño para todo laboratorio de TB:*

- ❖ Ventilación adecuada y flujo de aire unidireccional, desde zonas “limpias” a las “potencialmente contaminadas”. Se consigue mediante ventilación natural, mecánica e híbrida o mixta. El aire debe ser eliminado hacia el exterior del edificio, asegurando su evacuación lejos de la circulación de personas y de tomas de aire.*
- ❖ Disponibilidad de espacio de trabajo amplio que asegure condiciones de seguridad y que facilite la limpieza y mantenimiento. Es recomendable diseñar los espacios teniendo en cuenta futuras ampliaciones de las áreas de trabajo, y adquisición de nuevo equipamiento.*
- ❖ Paredes y cielos lisos y fáciles de descontaminar. El suelo, además de lo mencionado anteriormente, debe ser antideslizante.*
- ❖ Las superficies de trabajo deben ser lisas y resistentes al agua y a los desinfectantes empleados de manera rutinaria.*
- ❖ El área de recepción de muestras o el espacio destinado para ello, debe ser exclusivo para dicha actividad, permitiendo acondicionar las muestras sin riesgo de vaciamiento.*
- ❖ Iluminación adecuada (LUX 500-700 de acuerdo al Decreto Supremo N° 594. “Reglamento sobre Condiciones Sanitarias y Ambientales Básicas en los Lugares de Trabajo) que evite reflejos y brillos.*
- ❖ Destinar espacio suficiente para almacenamiento de material de uso inmediato y a largo plazo.*
- ❖ Destinar un área del laboratorio para la preparación, manipulación y almacenamiento en condiciones de seguridad de ácidos, tinciones y solventes.*
- ❖ Disponer un lavamanos y jabón líquido cerca de las salidas. Contemplar también la instalación de un dispensador de toallas de papel.*
- ❖ Es preferible que las puertas de laboratorio cuenten con un cristal y cumplan con la normativa de incendios (cierre automático con brazos hidráulicos).*
- ❖ Contar con suministro eléctrico fiable y adecuado. Contar con sistemas de respaldo eléctrico frente a cortes del suministro para los equipos críticos (GBS, autoclave, y otros dependiendo del trabajo realizado en cada laboratorio).*
- ❖ Debe existir un lugar fuera de las zonas de trabajo, para guardar ropa de calle y objetos personales.*
- ❖ Disponer de espacios para comer y descansar fuera de las zonas de trabajo. Esto tiene por objetivo evitar el estrés generado por el trabajo en los laboratorios de TB aporta a la realización de un trabajo más eficiente y consciente por parte del personal.*

### 1.3 DESINFECTANTES Y LIMPIEZA DE LABORATORIOS

#### 1.3.1 Desinfección de laboratorios

Si bien los desinfectantes tienen acción bactericida en condiciones especiales (pH, tiempo, temperatura, concentración), en el laboratorio solo sirven para reducir la carga bacteriana y descontaminar superficies.

Actualmente, se recomienda utilizar como desinfectantes las soluciones de hipoclorito (0,5 y 2%) y alcohol 70% en los laboratorios de TB.

#### ❖ **Hipoclorito de sodio.**

Es un germicida químico, de acción rápida y amplio espectro. Se utiliza como desinfectante de uso general y para descontaminar superficies de trabajo posterior al trabajo con muestras de TB. Se deben emplear soluciones madre de hipoclorito de concentración conocida (como referencia, el cloro comercial contiene aproximadamente 5% o 50 g/L). Para su preparación y manipulación siempre se debe emplear guantes y solo se debe diluir con agua.

A continuación se presenta la fórmula para el cálculo del volumen necesario de hipoclorito de sodio de la solución madre a diluir, para esto es necesario conocer el % de hipoclorito de sodio de la solución original y la concentración final que se va a preparar:

$$V (\text{necesario}) = \frac{V (\text{final}) \times \% \text{ cloro activo requerido}}{\% \text{ cloro activo preparado original}}$$

Ejemplo:

Se puede tener una solución madre de hipoclorito de sodio 10% y se necesita preparar 250 ml de una solución de hipoclorito de sodio 0,5%, si se aplica la fórmula:

$$V (\text{mL}) = \frac{250 \text{ mL} \times 0,5\%}{10\%} = 12,5 \text{ mL}$$

Se requiere 12,5 mL de la solución original de hipoclorito de sodio 10% y se completa con 237,5 mL de agua destilada para el volumen final de 250 mL.

Las concentraciones y usos recomendados en los laboratorios de TB son:

- ❖ Solución 0.5% (5g/L) se recomienda para la desinfección diaria de superficies y desinfección semanal de pisos (acción efectiva, pero de corta duración).
- ❖ Solución 2% (20 g/L) se recomienda para manejo de derrames de muestras.
- ❖ Solución al 5% cuando el derrame implica cultivos líquidos o sólidos positivas para M. Tuberculosis.

Consideraciones generales:

- ❖ El hipoclorito de sodio debe ser preparado diariamente. La solución no utilizada durante el día se elimina en el desagüe.
- ❖ Ubicar envases con hipoclorito de sodio en cada zona y/o sala donde se manipulen muestras (recepción de muestras, área técnica y en cada GBS si es que se utiliza en el laboratorio)

❖ *Las soluciones con hipoclorito de sodio son alcalinas, y altamente corrosivas de metales, por lo que se debe emplear con precaución sobre superficies de acero inoxidable (como en el interior de los GBS). Se recomienda retirar las trazas de hipoclorito de sodio con una solución de alcohol 70%.*

❖ *No autoclavar soluciones de hipoclorito.*

❖ *Nunca mezcle ni almacene soluciones de cloro con productos de limpieza que contengan amonio, cloruro de amonio o ácido fosfórico. La combinación de estos productos químicos podría resultar en la liberación de cloro gaseoso que es tóxico y puede causar náuseas, irritación de los ojos, dolor de cabeza, lagrimeo y dificultad para respirar. Estos síntomas pueden durar varias horas.*

❖ **Alcohol.**

*Se utiliza en concentración 70 % V/V, diluido en agua destilada. Posee acción bactericida sobre bacterias ambientales. Se recomienda su uso para desinfección de equipos como refrigeradores, centrifugas y microscopios, previa limpieza de polvo o grasa.*

*Se advierte no utilizar alcoholes o soluciones solo a base de alcohol para desinfectar superficies de trabajo. Estas se evaporan rápidamente, lo que reduce sustancialmente el tiempo de contacto con los microorganismos, disminuyendo su acción bactericida. El alcohol tiene la ventaja de no dejar residuos en las superficies empleadas, por lo que se recomienda su uso luego de la descontaminación con hipoclorito en superficies metálicas.*

❖ **Micobactericida comercial.**

*Se recomienda el uso de soluciones micobactericidas comerciales certificadas en su acción bactericida. Al usarlos, seguir las indicaciones dadas por el fabricante.*

❖ **Fenol 5%.**

*El uso de esta solución se recomienda solo en accidentes, que impliquen derrame biológica en el laboratorio (reactivo cáustico y tóxico).*

❖ **Ácido peracético 2%.**

*Provee una acción rápida contra todos los microorganismos. Su gran ventaja es que no genera productos de descomposición nocivos, mejora la eliminación de material orgánico y no deja residuos.*

*Las soluciones de trabajo a una concentración al 2% son estables durante las 48 horas desde su preparación.*

### **1.3.2 Limpieza y desinfección de pisos del laboratorio.**

*Se debe asear diariamente los pisos del laboratorio, utilizando el procedimiento descrito a continuación:*

*Preparar un balde con solución detergente neutra y otro con agua limpia (2 baldes en total). Impregnar un paño con solución detergente neutra y fregar 4 a 5 veces por tramos de 10 m<sup>2</sup>, luego enjuagar con agua limpia. Por la distribución que en general tienen los laboratorios, con salida a un sólo pasillo común, se recomienda iniciar la limpieza con un flujo unidireccional desde las áreas “funcionalmente limpias” hacia las áreas “potencialmente sucias”*

## **1.4 CAPACITACIÓN**

*La formación continua del personal acerca de las medidas de seguridad es primordial en todo laboratorio. El personal preocupado por la seguridad (propia y del resto), y bien informado en la manera de reconocer y combatir los peligros inherentes a los procedimientos realizados, es clave*

para prevenir las infecciones adquiridas, los incidentes y accidentes en el laboratorio. La capacitación, tanto del personal interno como externo al laboratorio, es responsabilidad del jefe del laboratorio o a quien designe, y debe incluir la revisión del código de prácticas y los procedimientos incorporados en el manual de seguridad.

El encargado de laboratorio debe evaluar las competencias técnicas del personal que realiza los diferentes procedimientos. También se debe entregar información sobre la manera correcta de desechar y descontaminar debidamente el material infeccioso.

Otro punto importante que se debe tener en cuenta es la capacitación al personal de aseo externo al laboratorio que deberá recibir una capacitación especial que considere los siguientes puntos:

- ❖ Factores de riesgo y prevención de la TB.
- ❖ Mecanismos de transmisión de la TB.
- ❖ Uso de EPP
- ❖ Sistema de aseo.
- ❖ Buenas prácticas de trabajo
- ❖ Respuesta frente incidentes/accidentes

### 1.5 BIOCUSTODIA.

En el presente documento se presentan diversas medidas destinadas a reducir al mínimo el riesgo de exposición del personal que trabaja en los laboratorios de TB, tales como el uso de prácticas microbiológicas correctas, los equipos de contención necesarios para el trabajo bioseguro, el diseño y mantenimiento de la planta física, por nombrar algunos. Del mismo modo, desde el punto de vista de salud pública, el riesgo para la comunidad y el medio ambiente también se reduce al mínimo con el uso de estas prácticas.

A pesar de lo anterior, durante la última década diversos eventos relacionados con el bioterrorismo hacen necesario adoptar medidas por parte de los laboratorios para proteger sus dependencias y los materiales que contienen, sobre todo en aquellos recintos que manipulan agentes biológicos patógenos de alto riesgo, como el caso de *M. tuberculosis*.

De acuerdo a la OMS, la biocustodia en el laboratorio (del inglés biosecurity) se define como "la protección, control y responsabilidad asociada a materiales biológicos valiosos (MBV) dentro de los laboratorios, para prevenir el acceso no autorizado, pérdida, robo, mala utilización, desviación o liberación intencional", por lo que la implementación de medidas de bioseguridad ya incluyen algunos aspectos básicos de biocustodia. De aquí en adelante, se establece que el MBV presente en los laboratorios de TB corresponde a muestras de pacientes SR con síntomas de TB o confirmados para la enfermedad (laboratorios de bajo riesgo), y a los cultivos positivos (sólidos o líquidos) derivados de las muestras indicadas anteriormente (laboratorios de riesgo moderado).

Un programa de biocustodia debe apoyarse en un programa sólido de bioseguridad, ya que todas las precauciones involucradas con la protección de los materiales biológicos deben formar parte de la rutina de trabajo en el laboratorio, del mismo modo que las técnicas asépticas y otras prácticas microbiológicas seguras (Manual de bioseguridad 3° ed OMS).

En palabras simples, las diferencias entre los enfoques de bioseguridad y biocustodia se pueden simplificar en el siguiente enunciado:

La bioseguridad protege a las personas de los microorganismos.  
La biocustodia protege a los microorganismos de las personas.

La inapropiada gestión del biorriesgo que derive en exposición del personal de laboratorio y medio ambiente a peligros relacionados con bioseguridad-biocustodia, representan una amenaza a la comunidad y a la salud pública. Las consecuencias derivadas de un quiebre en la biocustodia en los laboratorios de TB de riesgo moderado deben ser evaluadas de acuerdo al impacto que generan en la sociedad (Tabla 3)

Tabla 3: Principales consecuencias derivadas de fallas en el programa de biocustodia.

Ámbito	Impactos
Salud de la población	Enfermedad y/o muerte.
Económico	Costo de tratamiento Vigilancia médica Estudio de contactos
Seguridad de los MBV	Rediseñar el sistema de gestión del biorriesgo
Reputación del laboratorio / Institución	Disminuye la confianza de las personas frente al sistema de salud pública.
Percepción del público	Sensación de inseguridad, desprotección

El programa de biocustodia en el laboratorio de riesgo bajo y moderado debe gestionar los biorriesgos identificados, que corresponden principalmente a muestras de pacientes SR y cultivos de *M. tuberculosis*, respectivamente. Debe tomar en cuenta el tipo de trabajo que realiza el laboratorio y las condiciones locales y geográficas, por lo que se adaptan a la realidad particular de cada instalación. A continuación se indican ciertos puntos a tener en cuenta al momento de desarrollar el plan de biocustodia del laboratorio de TB:

- **Equipamiento de laboratorio:** No todos los equipos de laboratorio tienen las características para ser empleados en la fabricación de armas biológicas. En los laboratorios de TB, se debe tener especial cuidado con las incubadoras y equipos diseminadores de aerosoles (como vortex o centrífugas). Todo el personal del laboratorio es responsable de tomar precauciones contra hurtos o mal uso de equipos en las dependencias.
- **Biocustodia física:** se refiere al control que existe en los laboratorios para registrar la entrada de personal autorizado y no autorizado y controlar la salida de MBV y de equipamiento. La biocustodia física se puede lograr utilizando personal de seguridad y accesos controlados física o electrónicamente de acuerdo a lo indicado en el capítulo 3. El acceso al interior del laboratorio debe contener la señal de advertencia de peligro biológico además de impedir la libre entrada a las dependencias al usar sistemas de cierre magnético con uso de credenciales, clave numérica o huellas digitales, o simplemente cerrando con pestillo la cerradura. En cualquier caso, el personal debe estar pendiente del tráfico de público externo a través del acceso al laboratorio.
- **Gestión del personal:** debe definir los roles, responsabilidades y autoridades del personal de laboratorio encargado de la manipulación, uso, almacenamiento, transporte y/o transferencia de muestras/cultivos de pacientes diagnosticados con TB. Así mismo, se debe documentar el entrenamiento, experiencia, competencia e idoneidad de quienes tienen acceso al MBV. La designación de reemplazos entre el personal técnico, administrativo, profesional y auxiliar que tengan roles críticos en mantener la seguridad de las muestras es vital para el caso de ausentarse uno de ellos. Finalmente, se recomienda

desarrollar procedimientos dirigidos a gestionar el ingreso de visitantes, estudiantes, proveedores, personal de mantenimiento y aseo, entre otros.

- *Seguridad de la información: tiene como objetivo mantener niveles de confidencialidad apropiados en el sistema utilizado para almacenar la información sensible, y limitar acceso por parte de individuos que necesiten estos datos. Ejemplos de información sensible incluyen los planes de seguridad del laboratorio, inventarios y ubicación de los MBV. Es importante destacar que mientras mayor es el riesgo en el laboratorio de TB mayor debe ser la protección de la información almacenada en el sistema de seguridad empleado.*

*Las medidas indicadas en el presente capítulo, deben ser establecidas y mantenidas mediante evaluaciones periódicas de los biorriesgos y amenazas asociadas a la manipulación de material con micobacterias, mediante una revisión y actualización periódica de todos los procedimientos y acciones propuestas. Finalmente, durante la capacitación para el personal nuevo en los laboratorios de TB en normas de bioseguridad, también se debe incluir la materia de bioprotección expuesta en la presente guía.*

## **2. EQUIPOS DE SEGURIDAD**

*Los equipos de seguridad pueden utilizarse para eliminar o reducir al mínimo algunos riesgos en los laboratorios de TB, aunque hay que tener presente que estos equipos por si solos no ofrecen garantías de protección a menos que el operador sea competente y utilice las técnicas microbiológicas apropiadas.*

*Además es imprescindible que estos equipos sean verificados periódicamente para certificar que siguen funcionando de manera adecuada y segura.*

### **2.1 Gabinetes de bioseguridad**

*Ciertos procedimientos de laboratorio pueden generar aerosoles formados por núcleos de gotículas, sin que lo advierta el técnico de laboratorio debido a su pequeño tamaño. Esto puede dar lugar a la inhalación de microorganismos infecciosos o a la contaminación cruzada de superficies de trabajo o materiales.*

*Los GBS están diseñados para proteger a las personas y el entorno de los agentes infecciosos y, atendiendo a su clasificación, ofrecen distintos grados de protección frente a la contaminación de muestras y cultivos.*

*Los GBS deben seleccionarse de acuerdo al tipo de protección que sea necesaria: si es para el producto o contra el riesgo de infección del personal.*

*Realizar la selección del equipo correcto, instalación, uso apropiado y certificación anual del funcionamiento son procesos complejos por lo que se recomienda que sean realizados por profesionales competentes, con experiencia y que estén familiarizados con todos los aspectos del equipamiento.*

*Además estos equipos deben ir conectados a un suministro eléctrico de emergencia para asegurar que el personal disponga de tiempo suficiente para completar los procedimientos en caso de corte de energía eléctrica.*

*El filtro HEPA que se encuentra en el sistema de aire de salida de un GBS captura de manera eficaz los organismos infecciosos y asegura que de la cámara solo se evacua aire libre de microorganismos y un filtro HEPA montado en un GBS por encima de la superficie del trabajo protege de la contaminación cruzada y a los materiales que se encuentran sobre ella. A menudo esto se denomina protección del producto.*

Los GBS deben ser certificados cuando se instalan, siempre que sean trasladados y después de toda reparación o cambio de filtro; también requieren de un mantenimiento periódico (anual) para garantizar su funcionamiento apropiado. Retrasar el mantenimiento o utilizar personal no competente para llevar a cabo esta actividad puede poner en riesgo a los trabajadores del laboratorio.

Hay tres clases de GBS: I, II y III (de acuerdo a las normas AS/NZS 2252.1:1994, AS/NZS 2252.2:1994, y NSF/ANSI 49–2008).

Según la norma NSF/ANSI 49–2008, los GBS de clase II se clasifican en: A1, A2, B1, B2; esta diferenciación es de acuerdo a las variaciones en los flujos de aire, las velocidades, la ubicación del filtro HEPA en la cámara, las tasas de ventilación y los métodos de evacuación del aire.

Una GBS de clase II ofrece protección al personal, al ambiente y al producto; en los modelos de tipo A2 todos los conductos contaminados se encuentran a presión negativa o están rodeados de conductos de presión negativa (véase la figura 2).

Los GBS de clase II tipo A1 no son la opción más adecuada porque los conductos pueden contaminarse y las cámaras de distribución del extractor tienen presión positiva respecto de la sala.

Los GBS de la clase II tipos B1 y B2 deben estar conectados con el exterior por conductos rígidos; esto significa que el sistema de evacuación de aire del edificio debe ajustarse exactamente a los requisitos de flujo de aire especificados por el fabricante en relación con el volumen y con la presión estática. La certificación, la operación y el mantenimiento de estos tipos de GBS son por consiguiente más complejos, de modo que estas cámaras no se recomiendan en los laboratorios de tuberculosis.

Cuando se necesite adquirir un nuevo GBS para laboratorios de TB que realizan cultivo y/o baciloscopia, se recomienda optar por los GBS clase II tipo A2 con ventana móvil.

Los GBS deben llevar filtros HEPA que cumplan las normas internacionales pertinentes. (Por ejemplo, las normas europeas EN12469 o estadounidenses NSF/ANSI Standard 49 – 2008). El filtro HEPA elimina al menos el 99,97% de las partículas de 0,3-micras, que incluyen todas las bacterias, virus, esporas y partículas o gotitas que contienen estos organismos.

### **2.1.1 Gabinete de Bioseguridad de clase II tipo A2**

Esta es la clase de gabinete más recomendada para el trabajo en los laboratorios de la red. Los GBS clase II difieren de los de clase I en que sobre la superficie de trabajo solo circula aire estéril (que ha pasado por un filtro HEPA).

La Figura 2 muestra un esquema de los flujos de aire de un GBS de clase II tipo A2. Un ventilador interno succiona aire de la sala hacia el interior de la cámara por la abertura frontal y a continuación hacia la rejilla frontal. La velocidad de entrada de este aire debe ser de al menos 0,38 m/s en el plano de la abertura frontal. Después de atravesar la rejilla, el aire de entrada es conducido hacia arriba y a través de un filtro HEPA antes de pasar en sentido descendente por encima de la superficie del trabajo.

Al circular en sentido descendente a unos 6-18 cm sobre la superficie de trabajo, el aire se divide y aproximadamente la mitad del volumen atraviesa la rejilla de salida frontal y la otra mitad atraviesa la rejilla de salida trasera.

Las partículas de aerosol generadas en la superficie de trabajo son inmediatamente captadas por esta corriente de aire descendente y salen por la rejilla de evacuación delantera o trasera, lográndose la máxima protección del producto. A continuación el aire se evacua a través de la cámara de distribución posterior hacia el espacio comprendido entre el filtro de suministro y de evacuación situados en la parte superior de la cámara.

Debido al tamaño relativo de esos filtros, el 60%-70% del aire vuelve a circular a través del filtro HEPA de suministro y regresa a la zona de trabajo; el 30%-40% restante atraviesa el filtro de evacuación hacia la sala o el exterior.

El aire de salida de una cámara de este tipo puede reciclarse en la sala o evacuarse al exterior del edificio por medio de un acoplador de tipo dedal conectado a un conducto dedicado exclusivamente a este fin (Figura 3); No debe eliminarse por medio del sistema de evacuación de aire del edificio y debe situarse lejos de la circulación de personas.

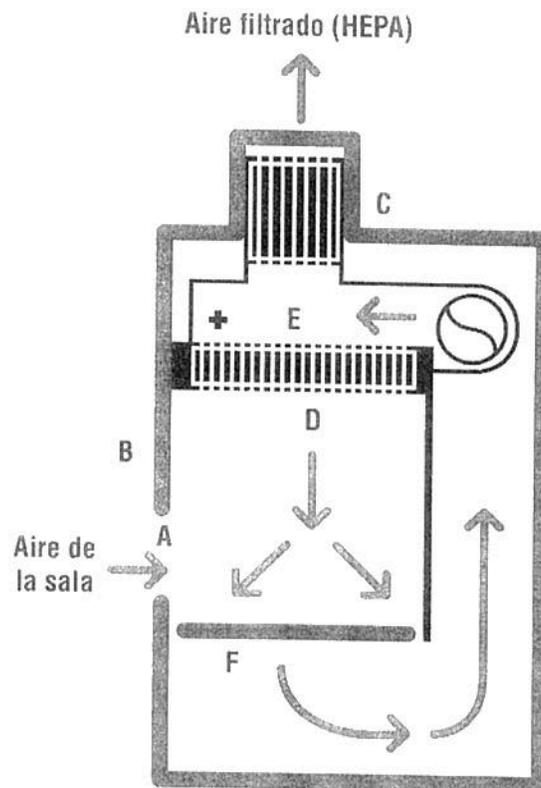


Figura 2. Esquema de un GBS de clase II tipo A2. A. Abertura frontal; B. Ventana; C. Filtro HEPA de salida; D. Filtro HEPA de entrada; E. cámara de distribución con presión positiva; F. cámara de distribución con presión negativa.

### 2.1.2 Acoplador tipo dedal

Este tipo de conexiones se pueden utilizar en los GBS de clase II tipo A2 que necesiten una conexión al exterior (Figura 3). Un acoplador tipo dedal se ajusta a la salida de aire de la cámara, tomando el aire expulsado de ésta hacia los conductos que llevan al exterior. Se deja una pequeña abertura, de aproximadamente 5 cm de ancho, entre el acoplador y la salida de aire de la cámara, lo que permite succionar el aire de la sala hacia el sistema de evacuación de aire. La capacidad del sistema de evacuación de aire debe ser suficiente para captar aire procedente tanto de la sala como de la cámara.

Este acoplador debe ser extraíble o estar diseñado de tal manera que permita realizar las pruebas de funcionamiento de la cámara. En general, el rendimiento de una cámara conectada mediante este acoplador no se ve muy afectado por las fluctuaciones en la corriente de aire del edificio.

Una ventaja de utilizar una conexión en dedal es que el GBS no necesita ajuste alguno y la presión en la sala se mantendrá prácticamente constante y que en caso de corte eléctrico, el aire que vuelve a la sala en la que existe una presión menor pasará casi exclusivamente a través de la entrada del acoplador en dedal, y no arrastrará bacterias del filtro HEPA. La instalación de una válvula que impida el retroceso en el conducto asegura que el aire que entra lo hará por la entrada de aire limpio.

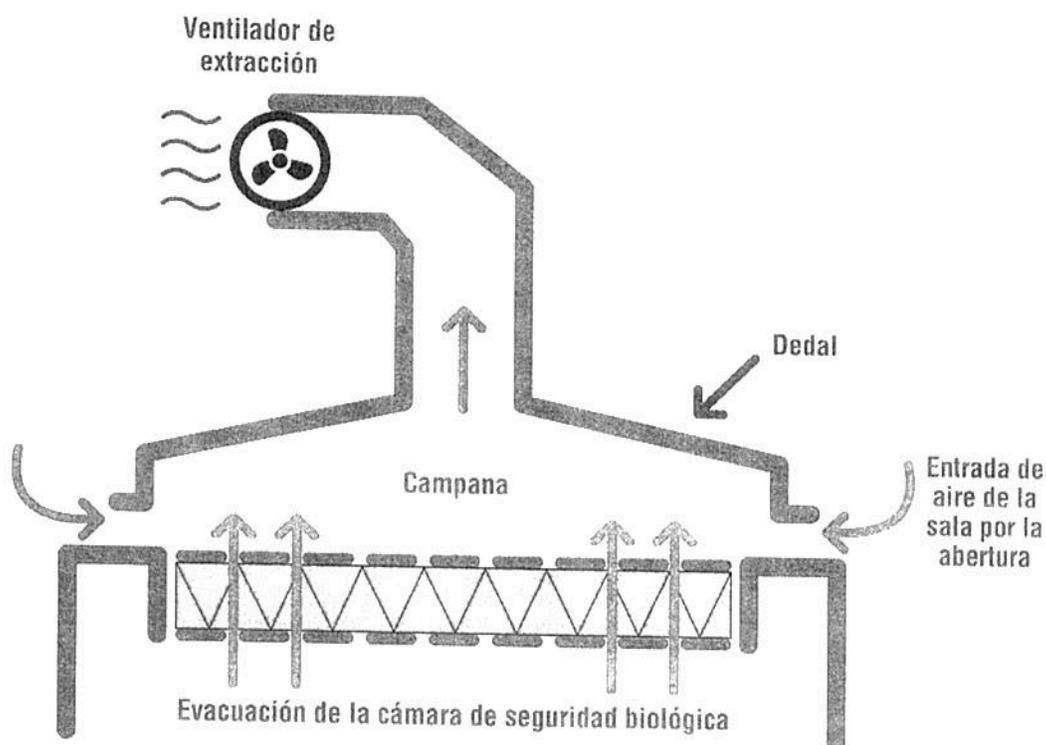


Figura 3. Esquema de una conexión en dedal en una GBS de clase II tipo A2 conectada directamente con el exterior del laboratorio

### 2.1.3 Dónde instalar el GBS en el laboratorio de TB

La ubicación de estos equipos es un factor importante a considerar, ya que la integridad del flujo direccional de aire es frágil y puede verse alterado fácilmente por las corrientes de aire que generan las personas al caminar en las proximidades del equipo, por ventanas abiertas o equipos que generan turbulencias o por la apertura y el cierre de puertas del área. En condiciones ideales, los GBS deben situarse de acuerdo con las recomendaciones del fabricante en un lugar alejado del tránsito y de posibles corrientes de aire.

También considerar para la instalación, siempre que sea posible, un espacio de 30 cm a cada lado del GBS incluyendo la parte trasera para permitir el acceso en caso de mantenimiento. Además se debe dejar un espacio de 30-35 cm por encima del GBS para medir con exactitud la velocidad del aire a través del filtro de salida y para facilitar el cambio del filtro de salida.

### 2.1.4 Operadores del GBS

Los efectos protectores del GBS pueden verse gravemente disminuidos, cuando un GBS no se utiliza correctamente, generando incluso un mayor riesgo para los trabajadores del laboratorio. Por lo tanto deben estar disponibles para el personal protocolos y procedimientos estandarizados escritos así como un manual de bioseguridad. Se debe asegurar que los operadores hayan leído y comprendido los protocolos, así como haber recibido una capacitación adecuada y adquirido las competencias necesarias para el uso del equipo. Los operadores deben ser supervisados para asegurar que siguen prácticas de trabajo establecidas en las instrucciones antes de que realicen pruebas rutinarias en las cámaras.

#### Como usar el GBS.

A continuación se indican los pasos a seguir para el correcto uso del GBS:

1. Encender el equipo.
2. Desinfectar la superficie de trabajo y paredes internas con papel absorbente impregnado en alcohol 70%.
3. Disponer el material dentro del GBS (el mínimo necesario).
4. Dar tiempo a la purga de 5 minutos antes de comenzar a trabajar.
5. El operador debe utilizar los EPP.
6. Posicionar los brazos dentro del GBS.
7. Ejecutar movimientos lentos con los brazos.
8. No bloquear las rejillas frontal y trasera del GBS.
9. Al terminar, desinfectar la superficie con hipoclorito de sodio 0.5% y luego retirar los residuos con alcohol 70°.
10. Retirar todos los materiales utilizados.
11. Dejar el GBS encendido por 15 minutos.
12. Apagar el GBS.
13. Registrar el uso diario.

*\*No está recomendado el uso de los mecheros en el interior del GBS, ya que el aire caliente altera el flujo de aire en el interior del equipo, además de dañar los filtros HEPA. Se recomienda usar mecheros especiales para GBS o placas calefactoras para secar los frotis preparados.*

*\*\* No se recomienda el uso de luz UV en los GBS utilizados en los laboratorios de TB.*

#### **2.1.5 Orden de distribución para el material dentro del GBS**

*La rejilla de entrada frontal del GBS de clase II no debe estar bloqueada con papeles, instrumentos u otros objetos.*

*Se recomienda que el procesamiento de la muestra se realicen sobre una sabanilla absorbente, dispuesta de modo que recoja todas las salpicaduras y derrames que podrían ocurrir producto de la actividad técnica. Todos los materiales deben colocarse lo más adentro posible del GBS, es decir, hacia el borde posterior de la superficie de trabajo, sin bloquear la rejilla posterior.*

*Los equipos que puedan generar aerosoles (como agitadores vortex y centrifugas) deben situarse hacia el fondo de la cámara.*

*Los artículos voluminosos y los recipientes de desecho, deben colocarse a un lado del interior del GBS. El trabajo debe proceder desde las zonas limpias hacia las zonas contaminadas sobre la superficie del trabajo. Nunca deben introducirse documentos dentro del GBS. La cámara no debe sobrecargarse porque la sobrecarga puede influir en la eficiencia del flujo de aire (véase la figura 4).*

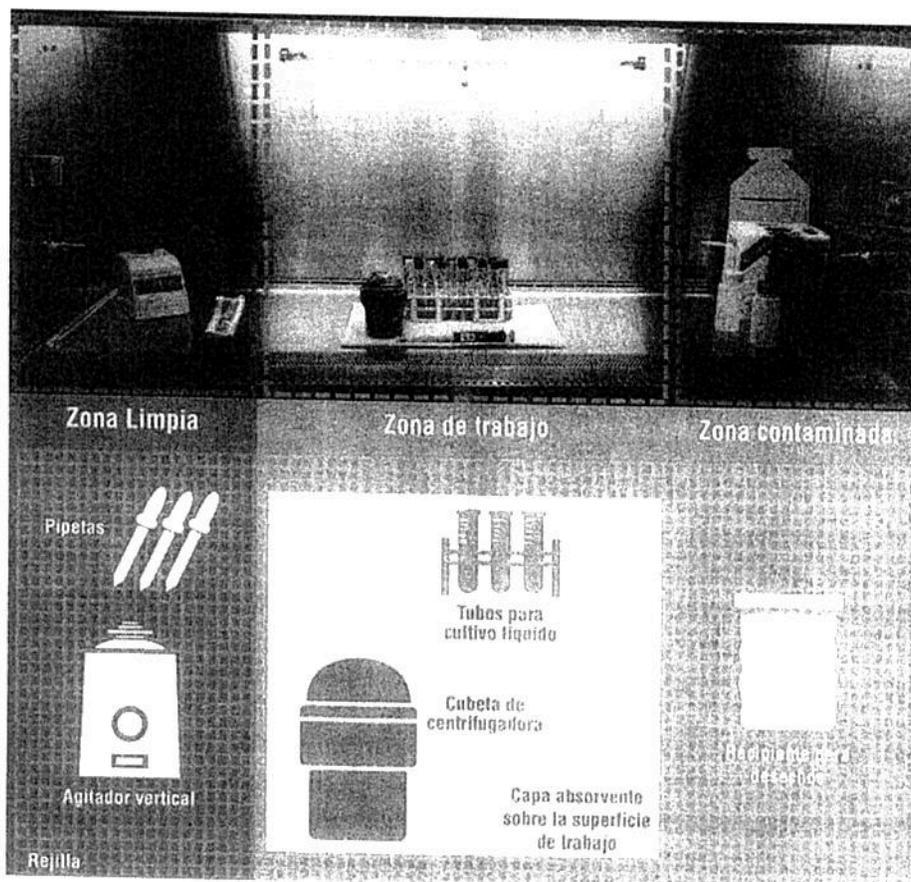


Figura 4. Organización recomendada para trabajar en el GBS clase II A2. El material limpio se ubica a la izquierda (zona limpia); las muestras se inoculan en el centro (zona de trabajo); las soluciones desinfectantes, las pipetas contaminadas y otro material de destinado al recipiente para desechos se ubica en la parte derecha (zona contaminada). Esta disposición puede invertirse para las personas zurdas.

#### 2.1.6 Verificación de parámetros de seguridad

El funcionamiento y la integridad de cada GBS deben estar certificados de acuerdo a las normas de funcionamiento nacionales o internacionales en el momento de la instalación, después de una reubicación en el laboratorio, y de forma periódica (al menos una vez al año) por técnicos calificados y de acuerdo con las especificaciones del fabricante.

Parámetros a medir para evaluar la eficacia de la contención de un GBS:

- Pruebas de la integridad de la cámara.
- Pruebas de la integridad de los filtros HEPA.
- Evaluaciones del perfil de velocidad del flujo de aire descendente.
- La velocidad del aire en la apertura de la cámara.
- La presión negativa y la tasa de ventilación.
- Las características del flujo de aire y las alarmas e interruptores de interbloqueo.
- La velocidad del aire que pasa por la abertura central hacia el interior de un GBS debe ajustarse a las especificaciones del fabricante.
- También pueden realizarse pruebas facultativas de la instalación eléctrica, la intensidad de la iluminación, la luz ultravioleta y el nivel de ruido y vibración.

Para efectuar estas pruebas se requiere personal competente y equipos de medición certificados; se recomienda que las realice un profesional experimentado. Este profesional debe estar familiarizado y capacitado en todos los aspectos de las GBS.

### **2.1.7 Cambios de filtro del GBS**

El GBS debe descontaminarse minuciosamente antes de cambiar los filtros HEPA y antes de trasladarlo a otro lugar; la descontaminación debe incluir los espacios de las cámaras de distribución y los filtros.

Se recomienda ver la norma NSF/ANSI 49 – 2008 para consultar los procedimientos y detalles de la descontaminación para cambios de filtros. La descontaminación debe ser realizada por un profesional calificado.

### **2.1.8 Alarmas**

El GBS puede venir equipado con uno de los dos tipos de alarma que se describen a continuación:

- ❖ Las alarmas de abertura solo se encuentran en los GBS que tienen ventana de cristal corredera; suenan cuando el operador ha ubicado la ventana en una posición incorrecta. Cuando suena la alarma, la ventana debe reubicarse en la posición correcta.

- ❖ Las alarmas de flujo de aire señalan perturbaciones de las características normales del flujo de aire en el GBS. Esta alarma advierte de un peligro inmediato para el operador o para el producto. Cuando suene esta alarma, se interrumpirá inmediatamente el trabajo y se avisará al director del laboratorio. Los manuales de instrucciones del fabricante dan más detalles sobre la forma de atender este tipo de alarma.

La capacitación en el uso de las GBS incluirá información sobre la respuesta necesaria ante este tipo de alarma.

### **2.1.9 Limpieza y desinfección**

Las superficies interiores del GBS deben descontaminarse antes y después de cada uso. Las superficies de trabajo y las paredes interiores se limpiarán con un desinfectante que inactiva los microorganismos que pudieran encontrarse en el interior.

Al final del día, la descontaminación final de superficies se realizará pasando una material absorbente con desinfectante (hipoclorito de sodio 0,5%) por la superficie de trabajo y por las paredes laterales, la parte trasera y el interior del cristal.

Se recomienda realizar una segunda limpieza con alcohol 70% cuando se emplee un desinfectante corrosivo como el hipoclorito de sodio.

### **2.2 Centrífugas con contenedores de seguridad**

Durante el proceso de centrifugado de muestras líquidas (muestras extrapulmonares principalmente), es altamente probable que se produzcan aerosoles, de modo que el personal debe trabajar con precaución cuando maneje este equipo. Con el objetivo de contener los aerosoles infecciosos, las muestras deben ser cargadas en contenedores de seguridad con tapa, tal como se ilustra en la figura 5A.

La acción de cargar/descargar los contenedores de seguridad con muestras para diagnóstico de TB, debe ser realizada en el interior de un GBS.

Para el procesamiento de estas muestras, además se recomienda que la centrifuga sea refrigerada, y los contenedores en formato oscilante (Figura 5).

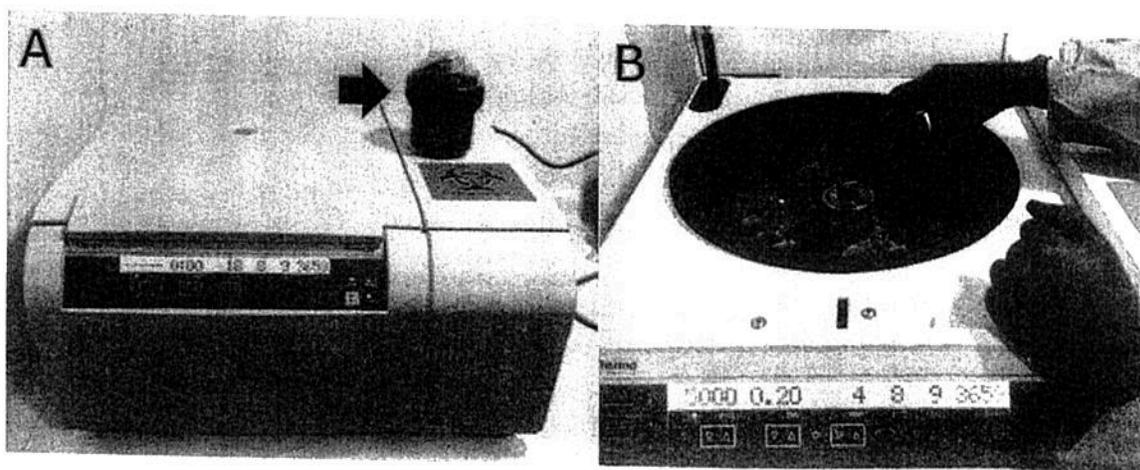


Figura 5: Centrifuga refrigerada con contenedores de seguridad. A. En la flecha se muestra el contenedor de seguridad. B. Carga del contenedor de seguridad en el rotor del equipo.

### 2.3 Autoclaves

EL autoclave a vapor saturado a presión es el equipo más eficiente para esterilizar material de vidrio, reactivos y descontaminar cultivos de micobacterias (material biológico).

Estos equipos deben ubicarse fuera del área técnica pues pueden ser ruidosos además de emitir vapor y calor.

Los autoclaves que se destinan a la descontaminación de material infeccioso deben tener una válvula de salida de aire con un filtro bacteriano. Este filtro estéril debe estar formado de un cartucho con una membrana con poros de  $0,2 \mu\text{m}$  alojado en un receptáculo resistente a la presión y debe ser fácil de cambiar. El filtro se esteriliza automáticamente en cada proceso de esterilización. En todo momento se seguirán las instrucciones del fabricante en cuanto al manejo y la limpieza del autoclave.

Es recomendable contar con una autoclave en todos los laboratorios donde se realicen cultivos de *M. tuberculosis*, y situarlo preferiblemente cercano al área técnica.

Los servicios externos para el manejo de residuos biológicos pueden ser contratados, y procesar todo el material biológico producto de las actividades técnicas del laboratorio de tuberculosis, esto incluye los contenedores primarios y todo el material que ha estado en contacto con la muestra directa de paciente. Material que será bien etiquetado y depositado en los contenedores correspondientes, garantizando un almacenaje y transporte seguro. Sin embargo, los laboratorios que realicen cultivos, líquidos o sólidos, y que estos cultivos resulten positivos para *M. tuberculosis*, lo recomendable es que estos sean sometidos a un proceso de descontaminación *in situ*, en consideración a la carga microbiológica y además la resistencia que podría estar asociada al aislamiento en particular. Por lo anterior una medida de bioseguridad importante en los laboratorios de tuberculosis que realizan cultivos es contar con algoritmos claros de trabajo que apunten a cultivar las mínimas muestras necesarias del paciente ya conocidos y estudiados.

### 3. Elementos de protección personal (EPP)

La vestimenta y uso de EPP puede actuar como barrera para reducir al mínimo el riesgo de exposición a aerosoles, salpicaduras e inoculación accidentales por parte del personal, se deben seleccionar dependiendo de las características del trabajo que se realiza. Durante el trabajo en el laboratorio, el personal debe portar la ropa protectora. Antes de abandonar el laboratorio, tendrán que quitarse las prendas protectoras y hacer un lavado prolijo de manos.

A continuación se presentan los tipos de EPP utilizados en los laboratorios de TB.

**3.1 Delantales de laboratorio y batas :** están diseñadas para proteger la ropa de calle del riesgo de contaminación. Los delantales de abertura frontal y manga larga se recomiendan solamente para actividades en las que hay bajo riesgo de infección por *M. tuberculosis*, por ejemplo durante la lectura de baciloscopías y para el trabajo en las áreas del laboratorio libres de muestras o cultivos de TB (áreas limpias).

En las áreas de trabajo microbiológico es recomendable el uso de batas de abertura trasera de tela resistente desechable, con manga larga y puño elástico (longitud mínima 3 mm), el borde inferior de la bata deberá quedar por debajo de la altura del puesto de trabajo, ya sea al trabajar de pie o sentado.

El uso de la bata al interior del área técnica es obligatorio.

El uso de las batas se puede extender hasta 1 semana, siempre y cuando no exista riesgo de contaminación, o se encuentre dañada. Respecto a su uso en el trabajo en el GBS, se recomienda complementar una segunda capa, pechera plástica con mangas de apertura trasera; el objetivo es que solamente se exponga la pechera plástica al material infeccioso manipulado al interior del GBS, lo que permite continuar utilizando la bata durante el tiempo indicado anteriormente. El uso de la pechera plástica con mangas se limita solo al trabajo diario en el GBS.

Además, debe existir una zona de vestuario dentro del laboratorio en la que el personal pueda almacenar las batas. Como último punto, es importante recordar que deben disponerse batas de reserva en caso de contaminación o daño.

**3.2 Respiradores de ultrafiltración:** Las mascarillas de ultrafiltración, también conocidas como respiradores, se utilizan para evitar el riesgo de inhalación de aerosoles infecciosos. De acuerdo a indicaciones de la OMS, normalmente no se requiere de mascarillas de ultrafiltración para el trabajo en el laboratorio de TB, sin embargo, pueden ser recomendadas luego de una evaluación de riesgos si es que se manipula cultivos positivos. La mascarilla de ultrafiltración N95 (Norma EE.UU. NIOSH N95) es la recomendada para el trabajo con cultivos de TB; son ligeras y desechables, cubren la nariz y la boca, filtrando el 94-95% de las partículas  $\geq 0,3-0,4 \mu\text{m}$ . El personal que porte mascarillas N95 debe ser instruido y capacitado en su correcto uso, y estar informado de sus limitaciones. En general, a pesar de los distintos modelos de mascarillas N95, las instrucciones para su postura son comunes a todos. A continuación en la Figura 6 se ilustra la correcta postura y ajuste de una mascarilla N95 en formato plegable:

- A. Sujetar el respirador con la mano en forma de copa.
- B. Abrir el respirador de ultrafiltración completamente, teniendo precaución de no dañar la integridad del material.
- C. Ubicar la parte inferior del respirador de ultrafiltración bajo la barbilla y acomodar la parte superior sobre el tabique nasal; sosteniendo la parte inferior, tirar la cinta superior por sobre la cabeza y ubicarla en la parte posterior alta de la cabeza.

- D. Repetir la operación con la cinta inferior, ubicándola en la parte superior del cuello, por debajo de las orejas; ajustar bien los bordes del respirador/mascarilla de ultrafiltración con la zona de la barbilla y sobre la nariz.
- E. Ubicar las puntas de los dedos de ambas manos en la parte superior de la pieza nasal metálica; con ambas manos moldear el área nasal a la forma de su nariz (siempre utilizar ambas manos).
- F. Para revisar el sello facial del respirador/mascarilla de ultrafiltración, cubrir el panel frontal con una o ambas manos; luego, proceder a respirar, si percibe una fuga de aire, ajuste la pieza nasal metálica o el contorno del respirador/mascarilla de ultrafiltración, dependiendo del área de la fuga de aire. Repetir la operación hasta lograr un buen sello.

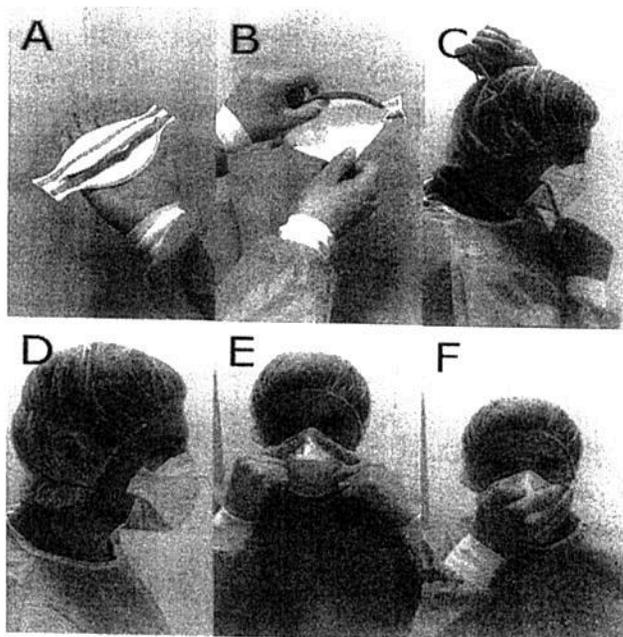


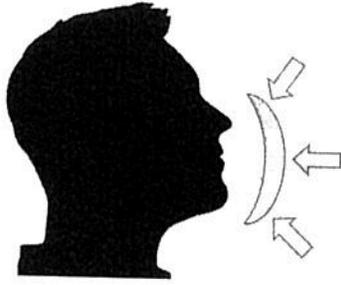
Figura 6: Instrucciones de postura y ajuste de las mascarillas de ultrafiltración.

Cada vez que se use una mascarilla, debe ser inspeccionada por el usuario para comprobar que no hay orificios además de los correspondientes a las grapas, y descartar daños de cualquier tipo. En caso de detectar algún daño, debe ser desechada inmediatamente.

Las mascarillas N95 no deben ser utilizados por personal que tenga vello en la cara, ya que no se asegura el correcto sellado del equipo en el rostro del operador. Una vez puesto, el usuario no debe tocar la parte frontal.

Para retirar la mascarilla, el personal se quita los guantes de procedimiento y lava concienzudamente sus manos. luego proceder a retirarla, solamente manipulando las bandas, no tocar la parte frontal de la mascarilla, ya que podría estar contaminada. Es importante destacar que **las mascarillas quirúrgicas no son respiradores**, no ofrecen protección para el trabajo con aerosoles infecciosos, por lo que no deben emplearse para el trabajo de rutina en los laboratorios de TB (Tabla 4).

Tabla 4: Diferencia entre una mascarilla de ultrafiltración y una mascarilla quirúrgica.

<p><b>Mascarilla de ultrafiltración N95 o Respirador</b></p>		<p>Protege al usuario de inhalación de aerosoles infecciosos (protección contra la inhalación).</p>
<p><b>Mascarilla quirúrgica</b></p>		<p>Previene la propagación de los microorganismos desde el usuario (protección de la exhalación).</p>

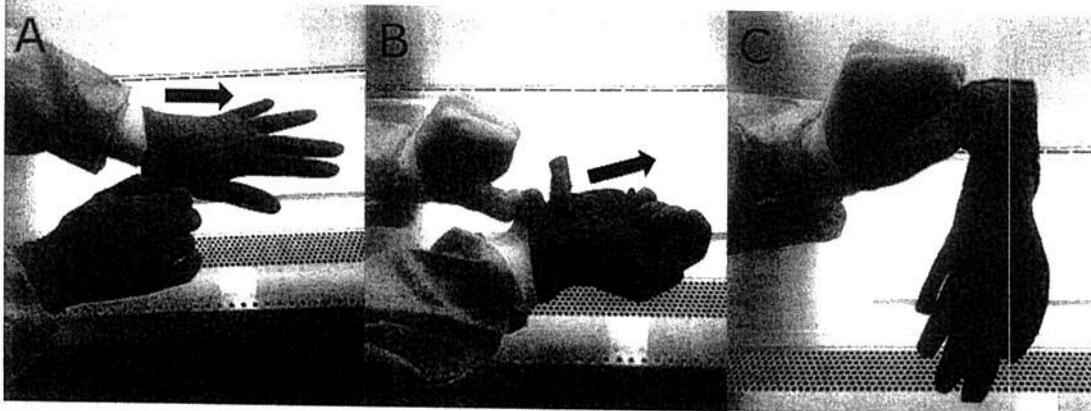
**3.3 Guantes desechables:** se utilizan como barrera para impedir el contacto directo con microorganismos. Deben emplearse guantes aprobados para el uso microbiológico, durante los procedimientos que involucran contacto directo o peligro de contacto accidental con esputos, sangre, líquidos corporales u otro material potencialmente infeccioso, como cultivos con bacilos tuberculosos. Por lo tanto, el uso de guantes es obligatorio en los laboratorios de riesgo bajo, moderado y elevado. Todo el personal debe tener a su disposición la talla adecuada, asegurando un ajuste cómodo y que cubra las muñecas. Una vez usados, deben ser retirados de manera aséptica eliminarse con los residuos especiales del laboratorio, tal como se indica en la Figura 7.

Figura 7: Indicaciones para eliminar los guantes de las manos del operador una vez concluido el trabajo.

A. Tomar uno de los guantes por debajo del puño y arrastrar hacia las puntas de los dedos, este movimiento asegura que el guante se enrolle y deje el interior hacia afuera. Esta acción permite que el área expuesta, potencialmente contaminada, quede contenida en el interior.

B. Sujetar el guante de la otra mano por debajo del puño en su cara interna, y repetir el movimiento anterior, teniendo la precaución de no tocar la superficie del guante contaminada. Al enrollar el guante hacia afuera por sobre el guante retirado en el paso anterior, se genera una pequeña bolsa que contiene ambos guantes con sus caras contaminadas al interior.

C. Desechar los guantes en el contenedor de desechos biológicos más próximo.



Luego de retirar los guantes, el personal debe lavar sus manos concienzudamente con agua y jabón. Esta acción se debe realizar cada vez que se manipule material infeccioso o de trabajar en el GBS, y siempre antes de salir del laboratorio.

**3.4 Otros:** existen otros EPP disponibles en el mercado, muchos de ellos útiles para el trabajo en laboratorios de TB.

La decisión sobre el uso de cada uno, dependerá de una evaluación de riesgos por parte del encargado de bioseguridad de cada laboratorio.

En la siguiente Tabla 5 se presentan algunos de ellos.

Tabla 5: EPP adicionales para el trabajo en los laboratorios de TB.

EPP	Peligro evitado	Características de seguridad
Delantal/pechera plástica con mangas	Contaminación de la ropa	Impermeables
Calzado	Impactos y salpicaduras	Puntera cerrada
Cubre calzado	Contaminación del calzado	De tela resistente al tráfico, desechables
Antriparras	Impactos y salpicaduras	Lentes de material resistente a impactos. Barrera contra salpicaduras. Pueden usarse sobre lentes ópticos.
Pantalla facial	Impactos y salpicaduras	Protegen todo el rostro. Se retira fácilmente en caso de accidente.

#### 4. TRANSPORTE DE MUESTRAS

El sistema de transporte no debe alterar la calidad de las muestras, y debe estar coordinado de tal manera que no sea un factor de retraso en los tiempos de respuesta de los resultados de las prestaciones diagnósticas realizadas. En el transporte de muestras desde los centros recolectores hacia los laboratorios que realizan la baciloscopia (tipo I), y transporte de cultivos desde los laboratorios que realizan baciloscopia y cultivo (tipo II) hacia el laboratorio de referencia. Es importante garantizar la seguridad de la persona que transporta y de la población general junto con garantizar la calidad de la muestra.

En general, el transporte de muestras pulmonares y extrapulmonares y de los cultivos debe cumplir con las siguientes condiciones:

→ Proteger las muestras del calor excesivo. Se recomienda usar unidades refrigerantes para evitar el aumento de la temperatura

- Evitar la luz solar directa, cuya radiación ultravioleta tiene acción bactericida sobre el microorganismo.
- Acondicionar las muestras en forma tal que no haya riesgo para las personas o el ambiente en que deben ser transportadas.

Es importante que el transporte de las muestras y/o cultivos se realice en una caja resistente metálica o plástica y a prueba de fugas de líquidos, que contenga una cubierta segura y cierre perfectamente. Debe estar identificada al menos con la siguiente información:

- Procedencia.
- Nombre y Número de teléfono del responsable.
- Advertencia de riesgo biológico.

Transporte de muestras desde centros recolectores hacia laboratorios tipo I y II:

Incluye el transporte interno (por ejemplo desde servicios clínicos hacia los laboratorios) e interurbano (desde lugares de toma de muestra hacia los laboratorios en los hospitales centrales). Se recomienda utilizar un sistema de triple embalaje, que asegure la protección de las muestras, contenga derrames y proteja al usuario. Se sugiere seguir las siguientes recomendaciones:

- Utilizar siempre guantes de procedimiento desechables para la manipulación de muestras.
- Transportar por separado los órdenes de las muestras para evitar contaminación por derrames. (entre el embalaje secundario y terciario).
- Los recipientes deben ser herméticos, a prueba de fugas de líquido y posibles de descontaminar.
- El recipiente primario tubo o frasco tapa rosca, debe estar herméticamente cerrado y mantener su posición vertical.

El sistema de triple embalaje (Figura 8 A) es el recomendado para el envío de muestras desde los centros recolectores, hacia los laboratorios de nivel intermedio, y para el transporte de cultivos positivos desde los laboratorios del nivel intermedio hacia el laboratorio de referencia (Sección Micobacterias en el ISP). Este sistema de embalaje consta de tres componentes: contenedor primario, embalaje o envase secundario y embalaje o envase terciario o externo.

El contenedor primario es el recipiente que contiene la muestra o cultivo, debe ser hermético, con tapa rosca y estar rotulado claramente en las paredes externas. Debe ir envuelto en material absorbente suficiente para contener el fluido en caso de rotura o fuga (Figura 8 B).

El embalaje/envase secundario debe ser impermeable, resistente, posible de descontaminar y debe contener y proteger al recipiente primario. Puede ubicarse varios contenedores primarios en un solo embalaje/envase secundario, pero deberá incluir material absorbente adicional para contener los fluidos en caso de rotura del paquete.

El embalaje/envase terciario protege al embalaje/envase secundario de daños físicos durante el transporte. Debe estar debidamente rotulado. Cualquier documento que acompañe a las muestras clínicas, como el formulario de solicitud de examen, debe ser introducido en una bolsa plástica y ubicado entre el embalaje secundario y el terciario.

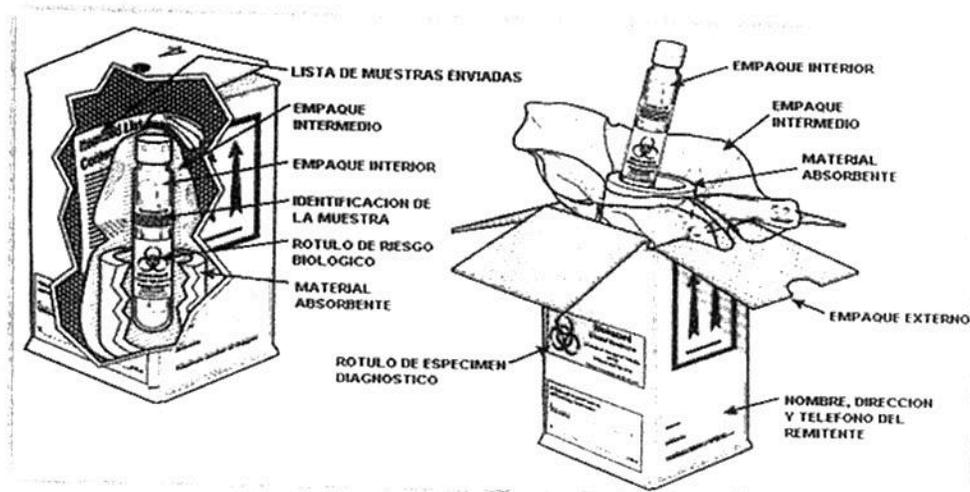


Figura 8: Sistema de transporte de muestras. A. Embalaje terciario necesario para el transporte de muestras/cultivos hacia los laboratorios de TB. B. Contenedor o envase primario para la toma de muestras de expectoración.

El transporte de muestras/cultivos que contienen potencialmente bacilos tuberculosos se debe abordar también desde una perspectiva de biocustodia, ya que de acuerdo a la OMS las muestras o cultivos para estudios de TB son consideradas como material biológico valioso. El encargado de laboratorio debe desarrollar procedimientos de control efectivos con el objetivo de identificar la salida y recepción de embalajes terciarios, y el personal responsable de su transporte.

## 5. MANEJO DE DESECHOS BIOLÓGICOS

El material infeccioso o potencialmente infeccioso corresponde al principal residuo de un laboratorio de TB. De acuerdo a la clasificación de los Residuos de Establecimientos de Atención de Salud (REAS), las muestras de pacientes y cultivos para diagnóstico de TB pertenecen a la categoría 3 de residuos especiales. El manejo de estos residuos debe realizarse en contenedores o bolsas de color amarillo con la señalética de riesgo biológico visible para el operador, para luego ser descontaminado, incinerado o tratado en autoclave.

La incineración es una alternativa al tratamiento en autoclave, siempre que se pueda asegurar que los procedimientos de incineración se siguen de manera correcta, lo que implica la existencia de un medio eficiente para controlar la temperatura y una cámara de combustión secundaria (Decreto 29, norma de emisión para incineración, coincineración y coprocesamiento y deroga decreto n° 45, de 2007).

El tratamiento en autoclave está indicado tanto para esterilizar material limpio como para descontaminar materiales infecciosos; ambas funciones deben realizarse en dos autoclaves independientes y destinados exclusivamente para ese fin.

La desinfección se realiza con diversos agentes químicos (desinfectantes). Su acción microbicida depende de la población de microorganismos que haya que eliminar, la concentración utilizada, el tiempo de contacto requerido y la presencia de residuos orgánicos. En los laboratorios de TB, se recomienda el uso de desinfectantes que contengan fenol, cloro o alcohol.

Por último, respecto a la prevención de riesgos laborales, el Decreto Supremo N° 40 del Ministerio del Trabajo y el Decreto Supremo n°594 del Ministerio de Salud indican que el personal que realiza actividades de recolección, selección transporte y/o eliminación de REAS, debe ser capacitado en relación a los riesgos a los que está expuesto y a las medidas de prevención que debe adoptar.

## 6. RESPUESTA A DERRAMES BIOLÓGICOS EN EL LABORATORIO DE TUBERCULOSIS

En todo establecimiento que trabaje con *M. tuberculosis* es imprescindible contar con un plan escrito de preparación para emergencias frente a derrames de muestras o cultivos, que debe complementar al plan de prevención de riesgos indicado en cada establecimiento en particular.

### 6.1 Derrame biológico fuera de GBS

El derrame de material infeccioso fuera de un GBS se considera un **incidente grave**.

Frente a rotura de tubos con derrame de material contaminado (muestras o cultivos) en superficies del laboratorio, se debe proceder como se indica a continuación:

1. El afectado debe contener el aliento por ese instante. Esta acción es crítica, ya que el derrame generará aerosoles infecciosos.
2. Notificar al resto del personal y evacuar inmediatamente el laboratorio.
3. Cerrar el acceso al área afectada, colocar un letrero que indique **"NO ENTRAR"**.
4. Si hubo contaminación de la ropa o en alguna parte del cuerpo, cambiarse el vestuario, lavarse y ducharse.
5. En un laboratorio con 6 CAH se debe esperar 60 minutos. Durante este tiempo, los aerosoles infecciosos son eliminados por el sistema de ventilación del laboratorio. Para laboratorios con CAH distintos, determinar el tiempo de espera de acuerdo a lo indicado en la Tabla 5.
6. Ubicar el kit de limpieza de derrames (capítulo 6.4). El personal responsable de la limpieza del derrame, debe portar los EPP contenidos en el kit.
7. Ingresar a laboratorio con el kit de limpieza. Delimitar el área con papel absorbente e impregnar con hipoclorito de sodio 2% y dejar actuar por 30 minutos.
8. Limpiar de manera circular desde el exterior hacia el interior del área del derrame.
9. Con pinzas recoger y eliminar en una bolsa el material contaminado (restos de vidrio, tubos plásticos, papel absorbente, etc.).
10. Descontaminar los desechos y los EPP utilizados.
11. Registrar el incidente.

Tabla 5: Estimación de los minutos necesarios para reingresar al área donde ocurre el derrame, considerando los CAH del área.

CAH (cambios aire hora)	Minutos necesarios para la eficiencia de eliminación de los aerosoles infecciosos.	
	99%	99.9%
2	138	207
4	69	104
6	46	69
12	23	35

CDC Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories, Morbidity and Mortality Weekly Report, January 6, 2012.

## 6.2 Derrame biológico en GBS

Recordar que el GBS está diseñado para contener los aerosoles infecciosos, por lo que frente a un derrame en su interior, **el personal no debe retirarse ni tampoco detener el equipo.**

En el caso de producirse un derrame de material infeccioso dentro del GBS el personal deberá actuar de la siguiente manera:

1. Si el derrame ocurre sobre la sabanilla absorbente, se debe cubrir con material absorbente el derrame y verter directamente hipoclorito de sodio 2%. Dejar actuar por 15 minutos.
2. Si el derrame ocurre fuera de la sabanilla absorbente, cubrir con material absorbente impregnado con hipoclorito de sodio 2%. Dejar actuar por 15 minutos. Limpiar avanzando desde la periferia hacia el centro del derrame con el mismo material absorbente. Eliminar el material infeccioso en el contenedor de material contaminado.
3. Desinfectar el área de trabajo y todas las superficies del GBS con hipoclorito al 0.5% y luego aplicar alcohol al 70% con el objetivo de retirar residuos del cloro que perjudican la superficie de acero inoxidable del GBS. Desechar los materiales utilizados durante la desinfección en un contenedor de residuos.
4. Desinfectar los equipos y materiales aledaños al derrame con alcohol 70%.
5. Quitarse los EPP y desecharlos en el contenedor de material contaminado.
6. Registrar el incidente y reiniciar el trabajo.

## 6.3 Rotura de tubos con derrame de material contaminado (muestras o cultivos) en la centrífuga.

El uso de contenedores de seguridad permite aislar el derrame, que debe ser atendido en el interior del GBS.

Se debe proceder como se indica a continuación:

1. Descargar el contenedor de seguridad al interior del GBS.
2. Eliminar el/los tubos rotos con pinzas, en un contenedor de material cortopunzante.
3. Descontaminar los contenedores con alcohol 70° abundante. También puede ser descontaminado en el autoclave.
4. Registrar el incidente.

## 6.4 ESTACIÓN DE SEGURIDAD

El jefe del laboratorio y/o encargado de bioseguridad serán responsables de mantener una estación de seguridad en caso de derrames, que debe ubicarse fuera del área técnica.

Esta estación debe contener los siguientes elementos:

- Solución de hipoclorito de sodio 2% (u otro desinfectante adecuado). Si se emplea hipoclorito de sodio, se debe preparar la solución desinfectante en el momento de la limpieza.

- Mascarilla de ultrafiltración N95 (una caja).
- Guantes, disponibilidad de diferentes tallas (una caja).
- Batas de laboratorio de abertura trasera (4 a 6 batas desechables).
- Toallas de papel absorbente.
- Recipiente para eliminar material cortopunzante.
- Bolsas para residuos especiales.
- Pinzas o una pala con cepillo.
- Antiparras (dos pares).

Es importante recordar que se debe verificar que las fechas de vencimiento de los EPP contenidos en el kit se encuentren vigentes, para esto se recomienda planificar una revisión continua de todos los componentes.

#### **6.5 Consideraciones generales para el manejo de material contaminado.**

Se indican las consideraciones generales para el manejo de residuos, que deben ser tomadas en cuenta por personal que trabaja en laboratorios de riesgo bajo y moderado de TB.

- El material contaminado corresponde a todo elemento que se utiliza en el área técnica que ha estado en contacto directo con material infeccioso. Estos residuos deberán ser eliminados previa descontaminación con autoclave o incinerador. Idealmente se deberá contar con un autoclave próximo al área. De lo contrario, el transporte del material contaminado debe ser dentro de un receptáculo sellado, por vías y en horarios de poco tránsito de personas.

- Deben utilizarse indicadores de esterilidad en horno y autoclave, en todos los procesos de esterilización y/o descontaminación. Se recomienda el uso de indicadores biológicos y cintas controladoras de exposición a vapor en autoclaves.

- Se deben registrar los ciclos de descontaminación y esterilidad consignando: tipo de material, tiempo, temperatura y nombre del funcionario responsable.

- El material corto-punzante debe ser eliminado en envases resistentes a los pinchazos y cortes y deben ubicarse lo más cercano posible al área del procedimiento.

#### **6.6 Manipulación de recipientes de muestras con filtraciones y/o derrames:**

Durante el transporte de las muestras puede ocurrir el volcamiento de uno o más envases que las contienen. Se deben eliminar los envases que presenten filtraciones y/o derrames y se solicitarán al centro recolector una nueva muestra.

Las muestras deben transportarse al laboratorio en posición vertical para reducir al mínimo las filtraciones y/o derrames.

La integridad de los recipientes que se llevan al laboratorio debe comprobarse a su llegada. Debido al riesgo que presenta esta actividad, siempre se debe portar guantes desechables durante la manipulación de muestras en la recepción de muestras, además se debe disponer de hipoclorito de sodio 0.5% para la descontaminación posterior de las superficies. Se debe llevar un registro de los eventos de derrame ocurridos.

#### **7. CLASIFICACIÓN DE LOS LABORATORIOS DE TB DE ACUERDO AL RIESGO.**

Los laboratorios de tuberculosis pueden clasificarse, de acuerdo a las actividades técnicas que realicen, en tres niveles de acuerdo al riesgo:

- *Bajo riesgo*
- *Moderado riesgo*
- *Alto riesgo*

*La probabilidad de generar aerosoles es un factor determinante a la hora de definir el nivel de riesgo de un laboratorio y las medidas de mitigación o control.*

*La baciloscopía del esputo o expectoración, cuando se realiza con buenas prácticas microbiológicas (como por ejemplo realizar el extendido de manera lenta), implica un riesgo reducido de producir aerosoles infecciosos, por lo que este procedimiento puede realizarse a mesón abierto, siempre que se asegure una ventilación direccionada y con renovación constante de aire.*

*Los procedimientos en los que se tratan muestras, como los que se utilizan durante la descontaminación para la inoculación de cultivos presentan mayor riesgo de generación de aerosoles, incluso realizadas con buenas prácticas microbiológicas, deben realizarse en un GSB.*

*En la Tabla 6 se resumen los niveles de riesgo, actividades de laboratorio y evaluación de riesgo para los laboratorios de tuberculosis.*

*Tabla 6. Niveles de riesgos en los laboratorios de tuberculosis de acuerdo a las actividades realizadas.*

<i>Nivel de riesgo del laboratorio de tuberculosis</i>	<i>Actividades realizadas en el laboratorio</i>	<i>Evaluación del riesgo</i>
<i>Bajo riesgo</i>	<i>Baciloscopía directa del esputo; preparación de muestras para utilizarlas en prueba automatizada de amplificación de ácidos nucleicos (por ejemplo Xpert MTB/RIF).</i>	<i>Bajo riesgo de generación de aerosoles infecciosos a partir de las muestras; baja concentración de partículas infecciosas.</i>
<i>Riesgo moderado</i>	<i>Descontaminación de muestras para la inoculación en medios de cultivo y ensayos de biología molecular; utilización del TIC.</i>	<i>Riesgo moderado de generación de aerosoles infecciosos a partir de las muestras; baja concentración de partículas infecciosas.</i>
<i>Alto riesgo (laboratorio de contención de TB)</i>	<i>Manipulación de cultivos para identificación; estudio de susceptibilidad o ensayos de Biología molecular desde cultivos.</i>	<i>Alto riesgo de generación de aerosoles infecciosos a partir de las muestras; alta concentración de partículas infecciosas.</i>

*Fuente: Guía de Bioseguridad de laboratorios de TB OMS 2013.*

*La toma de muestras de esputo de los pacientes es potencialmente peligrosa y no debe realizarse en el laboratorio. Debe definirse una zona bien ventilada, separada del laboratorio, para la recogida de esputos. Esta zona debe estar de preferencia al aire libre.*

### **7.1 LABORATORIOS DE TB DE BAJO RIESGO**

*Los laboratorios de TB de bajo riesgo que cumplen con los requisitos mínimos de bioseguridad que se describen en esta guía, pueden realizar en condiciones de seguridad los procedimientos con muestras de esputo, dado que el carácter viscoso de éste no favorece la generación de aerosoles cuando se utilizan buenas prácticas microbiológicas.*

*Los laboratorios de bajo riesgo pueden:*

- *Manipular muestras de esputo para la baciloscopia directa.*
- *Manipular muestras de esputo para prueba automatizada de amplificación de ácidos nucleicos (por ejemplo Xpert MTB/RIF® Cepheid, Sunnyvale Ca., EE.UU.)*

*Si bien al abrir los recipientes con muestras y preparar una baciloscopia pueden producirse aerosoles, el riesgo de transmisión que implica este procedimiento es reducido en comparación con los aerosoles que se producen por ejemplo en un solo golpe de tos o estornudo no contenido.*

#### **7.1.1 Factores que aumentan el riesgo de infección**

*Las siguientes situaciones son ejemplos de actividades que aumentan el riesgo de infección en un laboratorio de tuberculosis de bajo riesgo:*

- *Uso inadecuado de las áreas de trabajo.*
- *Filtración y derrames de los recipientes con muestras.*
- *Inadecuada manipulación de muestras, lo que puede generar aerosoles durante su procesamiento.*
- *Agitación enérgica de las muestras.*
- *Insuficiente ventilación o iluminación en la sala de procedimientos técnicos.*

#### **7.1.2 Características específicas y medidas de bioseguridad mínimas indispensables**

*En un laboratorio de TB de bajo riesgo deben establecerse los siguientes requisitos de bioseguridad para hacer frente a riesgos potenciales concretos como los mencionados anteriormente.*

- **Uso de las áreas de trabajo**

*El área técnica utilizada para procesar las muestras para baciloscopia, prueba automatizada de amplificación de ácidos nucleicos y recepción de muestras debe estar separada de las zonas administrativas utilizadas para las actividades de gestión y lectura de BK.*

- **Ventilación y flujos de aire unidireccional**

*Los frotis realizados directamente en muestras de esputo y el tratamiento de muestras para el ensayo Xpert MTB/RIF pueden realizarse en un mesón de trabajo que se encuentre en una zona debidamente ventilada siempre que se utilicen técnicas microbiológicas apropiadas.*

*La ventilación adecuada para los laboratorios de TB se describe típicamente como un flujo de aire unidireccional entre 6 y 12 cambios de aire por hora (CAH) (Anexo 2: Ventilación).*

No se han definido en el plano internacional normas para la adecuada ventilación de los laboratorios. La OMS recomendó como ventilación adecuada para los laboratorios de TB una definición pragmática del flujo de aire direccional, de modo que incluya entre 6 y 12 cambios de aire por hora (CAH). Además señalaron que no hay pruebas que sugieran que un número superior de CAH reduzca el riesgo de infección adquirida en el laboratorio y reconoció que los costos de los sistemas de ventilación de mayor capacidad son considerablemente elevados.

*Recomendaciones para reducir el riesgo de infección en laboratorios de TB Tipo I*

- *Laboratorios que procesan menos de 30 baciloscopías diarias: se recomienda realizar el trabajo técnico en una sala con ventilación natural adecuada o mesón abierto con uso de mechero.*
- *Laboratorios que procesan más de 30 baciloscopías diarias: se recomienda realizar el trabajo técnico en un GBS clase II A2.*

*Flujo de aire unidireccional se refiere al aire que fluye de las zonas limpias hacia las zonas en las que pueden generarse aerosoles; ese aire debe extraerse de manera segura de la habitación. La expresión «cambio de aire por hora (CAH)» se refiere al número de veces que el volumen de aire de la habitación se evacua y se sustituye por aire limpio cada hora. Cuando se utiliza ventilación mecánica, el cálculo de los CAH presenta menor complicación.*

*Para los procedimientos de bajo riesgo, la ventilación natural debería ser suficiente, siempre que el aire se aleje del personal técnico y pase sobre la zona de trabajo y el material potencialmente infeccioso, para a continuación dirigirse fuera de las zonas ocupadas de la sala y hacia el exterior del laboratorio; ese flujo debe ofrecer protección de los aerosoles que pudieran generarse en la zona de trabajo. Para tener un control direccional de los contaminantes presentes en el aire, este debe moverse al menos a 0,5 m/s. La ventilación puede lograrse abriendo ventanas si el clima local lo permite. Cuando el clima impida abrir las ventanas, debe estudiarse la posibilidad de utilizar sistemas de ventilación mecánica que proporcionen una entrada de aire hacia el interior sin recirculación en la sala. Solo deben instalarse acondicionadores de aire una vez que se haya examinado la dirección del flujo de aire. Es importante asegurar que el aire del laboratorio circule de modo que se aleje del personal técnico. Los puestos de trabajo ventilados son otra posibilidad que puede tenerse en cuenta para la contención de aerosoles durante la baciloscopía directa del esputo o el ensayo Xpert MTB/RIF para aquellas situaciones en las que la ventilación natural o mecánica no resulte práctica.*

- **Reducir al mínimo la generación de aerosoles**

*Como ya se ha discutido anteriormente la preparación de muestras de esputo para la baciloscopía o para el ensayo Xpert MTB/RIF en teoría tiene el potencial de generar aerosoles. Sin embargo, dado que las muestras de esputo suele ser viscosas, la generación de aerosoles puede reducirse al mínimo utilizando buenas técnicas microbiológicas:*

1. *Al abrir los recipientes de muestras debe procederse con precaución, pues pueden haber sido agitados durante su transporte al laboratorio, con riesgo de derrame al retirar la tapa.*

2. Debe evitarse que el material infeccioso salpique cuando se secan los frotis. Es preferible que los frotis se sequen a temperatura ambiente y utilizar calor para fijarlos solo cuando estén completamente secos.

3. El extendido con batido de la muestra debe ser lento y cuidadoso (detrás del mechero cuando se trabaja sobre mesón). Esta es la etapa que implica un mayor riesgo, por la cantidad de aerosoles que se producen.

4. Si se realizan procedimientos técnicos dentro de un GSB se debe delimitar el área de trabajo con un trozo de papel absorbente impregnado en desinfectante, con el objetivo de contener las posibles salpicaduras.

## **7.2 LABORATORIO DE TB DE RIESGO MODERADO.**

Los requerimientos son los mismos que para los laboratorios que realizan sólo baciloscopia, además de disponer de Gabinete de Bioseguridad Clase II A2, se debe agregar:

- Utilizar pipeta pasteur plástica desechable para trasvasar la muestra.
- Utilizar tubos tapa rosca para evitar apertura y dispersión de aerosoles.
- Sembrar con pipeta pasteur plástica desechable.
- Centrifugar las muestras líquidas en tubos o contenedores con tapa rosca.
- Trasladar los tubos sembrados en cajas, en un número que no implique riesgo de caída.
- Para transportar las muestras, se debe disponer de un carro metálico auxiliar con ruedas y que en la parte superior tenga bordes, para evitar la caída de las cajas.

El personal debe estar consciente del peligro y preparado para tomar medidas correctivas. Para esto, ambos procedimientos requieren contar con instrucciones claras para actuar en caso de accidentes.

Las recomendaciones que figuran en este capítulo son los requisitos mínimos necesarios para limitar o reducir los riesgos de infección en los laboratorios que realizan procedimientos concretos que se consideran con riesgo moderado de propagar la tuberculosis. Pueden considerarse necesarias otras medidas después de una evaluación de riesgos del lugar concreto. Los laboratorios de riesgo moderado que aplican los requisitos mínimos de bioseguridad descritos en el presente capítulo pueden realizar en condiciones seguras ciertos procedimientos que implican un riesgo moderado de aerosolización de muestras con una concentración relativamente reducida de partículas infecciosas.

Los laboratorios de riesgo moderado pueden:

- Tratar muestras para la inoculación en medios de cultivo sólido y líquido
- Realizar antibiogramas directos (por ejemplo, ensayos directos de sondas en línea en esputo).

### **7.2.1 Factores que aumentan el riesgo de infección**

Además de los riesgos generales que se abordan mediante las medidas de seguridad descritas en el capítulo 2 en el laboratorio de TB clasificado de riesgo moderado también pueden presentarse las siguientes situaciones que aumentan el riesgo:

- Trabajar en zonas con ventilación y/o iluminación deficiente.
- Mantenimiento inadecuado o falta de certificación de los GSB.
- Conductos mal instalados en los GSB.
- Presencia en el entorno de trabajo de polvo que obstruye los filtros HEPA del GBS.
- Falta de precaución en la manipulación de las muestras, lo que puede producir aerosoles.
- Utilización indebida del agitador vortex (por ejemplo, si se utiliza fuera del GBS).
- Roturas o fugas de los recipientes que contienen las muestras durante las operaciones de centrifugación.
- Abertura de las cubetas de la centrifugadora fuera del GBS.
- Falta de advertencias adecuadas respecto de los peligros biológicos o información sobre la persona de contacto durante una emergencia.

Las buenas técnicas microbiológicas son indispensables para reducir al mínimo el riesgo de generación de aerosoles.

### **7.2.2 Medidas de bioseguridad mínimas y características específicas en el laboratorio.**

En los laboratorios donde existe un riesgo moderado de infección hay dos niveles de contención: el GBS (contención primaria) y la planta física del laboratorio (contención secundaria). Para hacer frente a los riesgos específicos asociados a un laboratorio de riesgo moderado, deben establecerse las siguientes medidas de mitigación y control.

- **GBS:** todas las operaciones de tratamiento y digestión de las muestras de esputo y la manipulación de muestras de esputo licuado deben llevarse a cabo en un GBS.

El GBS es la forma primaria de contención mientras las muestras están siendo tratadas para la inoculación de cultivos. Por consiguiente, una buena técnica microbiológica y el uso adecuado del GBS son fundamentales para que el trabajo se realice en condiciones de seguridad. El uso indebido de un GBS permite que se liberen aerosoles al laboratorio. (Véase el capítulo 2.1 para más información sobre las GBS.)

- **Ventilación:** además del GBS (la barrera primaria), la barrera secundaria (el laboratorio propiamente dicho) se consigue manteniendo un flujo de aire unidireccional hacia el laboratorio y asegurando un mínimo de 6 a 12 CAH.

Un medio sencillo de crear un flujo de aire unidireccional es colocar una abertura de ventilación que permita que el aire entre en la zona limpia del laboratorio y obligue a funcionar de manera continua una o más GBS equipadas con acopladores de tipo «dedal» para llevar el aire hacia la zona sucia, evacuar el aire del laboratorio y expulsarlo fuera del edificio. Debe instalarse un dispositivo de control visual con o sin alarma de modo que el personal pueda asegurar en todo momento que se mantiene el debido flujo de aire direccional en el laboratorio.

Conectar el GBS con el exterior mediante una conexión en dedal ayuda a crear un flujo de aire unidireccional hacia el laboratorio y a que todo aire contaminado de la GBS sea expulsado de ésta a través de los filtros HEPA de la cámara. Cuando se enciende la GBS, el ventilador exterior extrae aire tanto de la cámara como de la sala. Cuando se apaga, el aire expulsado será extraído solo de la sala. Puede instalarse un ventilador externo con o sin conexión al estado de funcionamiento de la cámara. La mejor solución es que el ventilador externo tenga un interruptor independiente del GBS, o acoplarlo con un circuito de relé de modo que el ventilador exterior siga funcionando durante un tiempo determinado después de que se haya apagado la GBS, a fin de asegurar que todo el aire evacuado de esta se lleva al exterior. La principal ventaja de un GBS con conexiones en

dedal es que no es preciso realizar ajustes en la cámara y que la dirección del aire que circula desde el laboratorio hasta el exterior se mantiene.

Otra posibilidad es liberar al laboratorio el aire evacuado a través de los filtros HEPA de la GBS. Sin embargo, en esos casos debe haber un sistema de evacuación independiente para el edificio que asegure un mínimo de 6 a 12 CAH en el laboratorio. El sistema de ventilación del edificio debe estar construido de tal manera que en un laboratorio de riesgo moderado el aire no se recicle en otras zonas del edificio.

Cuando el aire evacuado del laboratorio se expulse al exterior del edificio, deberá dispersarse de modo que se aleje de edificios ocupados y entradas de aire. En los laboratorios de TB de riesgo moderado y riesgo elevado las ventanas se mantendrán cerradas en todo momento.

- **Equipo de protección personal:** cada laboratorio debe evaluar sus riesgos (valorando las actividades y la carga de trabajo del laboratorio, la epidemiología local de la TB y TB farmacorresistentes) y decidir cuál es el grado apropiado de protección para el personal. En estos laboratorios el personal llevará en todo momento batas de laboratorio y guantes de protección los que deberán cambiarse con frecuencia.

Durante el tratamiento de las muestras, estas se licuan, lo que aumenta la probabilidad de que se generen aerosoles; por ello, es indispensable adoptar medidas para reducir al mínimo la producción de aerosoles.

No se necesitan respiradores siempre que las muestras se traten dentro de un GBS debidamente mantenido y utilizando buenas técnicas microbiológicas. Los respiradores no deben considerarse como una alternativa a los GBS.

- **Diseño del laboratorio:** el laboratorio debe estar separado de las zonas abiertas al tránsito sin restricciones dentro del edificio. Debe disponerse un lugar para lavarse las manos en las proximidades de la salida del laboratorio.

- **Descontaminación y eliminación de desechos:** todos los desechos infecciosos deben ser retirados de los laboratorios de riesgo moderado para evacuarlos debidamente. Los desechos se transportarán en bolsas o recipientes de plástico cerrados siguiendo la normativa vigente. Todo material que se reutilice debe descontaminarse en la autoclave antes de retirarlo del laboratorio.

- **Reducción al mínimo de la generación de aerosoles:** la capacitación del personal incluirá siempre información sobre los métodos más seguros que deben utilizarse en los procedimientos de cultivo, a fin de prevenir la generación e inhalación de aerosoles generados cuando se utilizan asas y pipetas, se abren recipientes de muestras, se manipulan recipientes dañados o con fugas, en la centrifuga y en los agitadores vortex.

Se recomienda utilizar asas y pipetas pasteur desechables estériles. Las centrífugas deben llevar cubetas de seguridad o rotores de contención. El material infeccioso puede ser centrifugado en el laboratorio utilizando los contenedores de seguridad cerrados y estos contenedores ser cargados y descargados dentro de un GBS.

## **ANEXO 1.**

### **EVALUACIÓN DE RIESGOS**

Las Infecciones Adquiridas en Laboratorio (IALs) siguen siendo una preocupación, si bien los reportes de IALs son casi inexistentes para su análisis tanto en nuestro país como a nivel mundial,

*siguen siendo mencionados en guías internacionales como un problema aún presente. Lo anterior obliga a trabajar en los temas de bioseguridad y en el compromiso de los directivos, para su implementación en las políticas de seguridad para los trabajadores.*

*El riesgo de infección está asociado típicamente con defectos de diseño del laboratorio y/o a la falta o insuficiencia de procedimientos de seguridad y capacitación adecuados.*

*Promover una cultura organizacional de la evaluación sistemática de todos los procesos y procedimientos de trabajo para identificar los riesgos asociados e implementar planes para mitigar dichos riesgos es la forma de fomentar una cultura de seguridad.*

*El jefe del laboratorio es el responsable de la identificación de los posibles peligros, evaluar o encomendar a personal idóneo la evaluación de los riesgos asociados a ellos y establecer las precauciones, equipos, instalaciones y procedimientos estandarizados para minimizar la exposición de los funcionarios del laboratorio a esos riesgos.*

*Las precauciones del laboratorio en materia de bioseguridad deben revisarse periódicamente y modificarse cuando proceda, particularmente después de la introducción de nuevos procedimientos o técnicas.*

*Para garantizar que el trabajo se realice en las condiciones más seguras, los resultados de las evaluaciones periódicas del riesgo deben determinar el equipo de laboratorio apropiado, los EPP y las características de diseño de las instalaciones que han de incorporarse respecto de cada procedimiento o actividad específica que se lleva a cabo en el laboratorio.*

### **Evaluación de riesgos en los laboratorios de tuberculosis**

*Las decisiones en relación a las medidas de bioseguridad más apropiadas para un laboratorio en particular deben adoptarse aplicando un enfoque basado en la evaluación de riesgos que tenga en cuenta los distintos tipos de procedimientos que se realizan en el laboratorio. Las evaluaciones de riesgos requieren un análisis cuidadoso: por un lado, subestimar los riesgos puede crear peligros relacionados con la bioseguridad, mientras que un exceso de rigurosidad en las medidas de bioseguridad puede imponer cargas innecesarias, tanto económicas como de recursos humanos, al personal y a la jefatura del laboratorio.*

*En la evaluación de riesgos en un laboratorio de TB se tiene en cuenta lo siguiente:*

- *La carga bacteriana de la matriz analizada (como las muestras de esputo, muestras extrapulmonares y los cultivos) y la viabilidad de los bacilos tuberculosos.*
- *La vía de transmisión de la tuberculosis.*
- *Si la matriz analizada y las manipulaciones necesarias en cada actividad, tienen probabilidad de generar aerosoles infecciosos.*
- *El número de manipulaciones de cada técnica que puede generar aerosoles.*
- *La carga de trabajo del laboratorio y de cada uno de sus trabajadores.*
- *La ubicación del laboratorio de tuberculosis dentro del laboratorio central.*
- *La epidemiología de la enfermedad y la población de pacientes que atiende el laboratorio.*
- *El nivel de experiencia y la competencia de los técnicos del laboratorio.*
- *El estado de salud de los trabajadores del laboratorio (en especial los técnicos seropositivos para el VIH, embarazo y tratamientos inmunosupresores).*

*Además, es preciso tener en cuenta la capacidad del personal del laboratorio para controlar los peligros. Esa capacidad dependerá de su competencia, su pericia técnica y las prácticas*

microbiológicas de todos los técnicos del laboratorio; la integridad operacional del equipo de contención; los sistemas de protección del establecimiento, y la disponibilidad y el uso correcto de los debidos procedimientos estandarizados.

Ver en Anexo **Cómo realizar una evaluación de riesgo de en un laboratorio de tuberculosis**

### Identificación de peligros

Se denomina peligro a todo aquello que tenga potencial para provocar daño, con independencia de la probabilidad de que ocurra. Puede tratarse de una situación física (como un incendio o una explosión), una actividad (como el uso de pipetas) o un material (como aerosoles que contienen bacilos infecciosos). A menos que se identifiquen eficazmente los peligros, no es posible evaluar de manera precisa los riesgos asociados al laboratorio y a sus actividades. El peligro de mayor riesgo en los laboratorios de TB corresponden a los aerosoles infecciosos (contienen *M. tuberculosis*). En la Tabla 7 se indican algunas de las características pertenecientes a *M. tuberculosis*, que deben ser tomadas en cuenta para la evaluación de riesgos.

Tabla 7: Consideraciones a tener en cuenta para realizar una evaluación de riesgos en el trabajo con *M. tuberculosis*.

<b>Factores a tener en cuenta en los laboratorios de TB</b>	<b>Consideraciones</b>
<b>Patogenicidad</b>	Tasa de mortalidad de 30-50% en pacientes con TB no tratada; ≈30% de personas sometidas a exposición prolongada a un paciente con TB activa se infectan; 5-10% de infectados desarrollan la enfermedad.
<b>Dosis infectiva</b>	Estimada en 10 bacilos por inhalación en el ser humano (Cifra extrapolada de estudios en animales).
<b>Vía de transmisión primaria</b>	Inhalación de aerosoles infecciosos.
<b>Vía de transmisión secundaria (raras en laboratorio)</b>	Ingestión, inoculación directa.
<b>Estabilidad</b>	Los bacilos tuberculosos pueden seguir viables por mucho tiempo en el medio ambiente.
<b>Susceptibilidad a enfermar de las personas inmunocompetentes</b>	5-10% de las personas inmunocompetentes infectadas contraen TB a lo largo de su vida.
<b>Susceptibilidad a enfermar de las personas inmunodeficientes</b>	5-10% de las personas inmunodeficientes infectadas contraen TB por año.
<b>Exposición</b>	La mayor proximidad física, frecuencia y duración aumentan el riesgo de transmisión.
<b>Vacuna eficaz</b>	Ninguna disponible hasta la fecha
<b>Tratamiento eficaz contra cepas sensibles a distintos fármacos</b>	Sí
<b>Tratamiento eficaz contra cepas</b>	Sí, pero más difícil de tratar que cepas sensibles.

<b>MDR</b>	
<b>Tratamiento eficaz contra cepas XDR</b>	<i>Pocas alternativas terapéuticas.</i>

### **Determinación de los riesgos**

Se denomina riesgo a la combinación de la probabilidad de que exista determinado peligro y las consecuencias de un incidente relacionado con ese peligro concreto. Los riesgos deben ser identificados y clasificados, y hay que determinar cuáles de ellos han de ser controlados o reducidos al mínimo. El análisis de los riesgos de generación de aerosoles que se describen en esta guía ha llevado a la elaboración de los requisitos mínimos de bioseguridad necesarios para realizar distintos procedimientos en los laboratorios de TB.

### **Vigilancia de los riesgos y medidas de mitigación**

El jefe del laboratorio debe realizar auditorías periódicas para vigilar los riesgos y las medidas de control. Estas auditorías pueden hacerse examinando los informes sobre las medidas correctivas que se adoptaron cuando se detectaron problemas con anterioridad, investigando exhaustivamente los incidentes o accidentes y aplicando medidas preventivas, y velando por que se proporcionen recursos suficientes para mantener el nivel de precauciones necesario. La documentación del proceso de evaluación de riesgos y la identificación de medidas de mitigación son elementos fundamentales para garantizar la constante mejora de las medidas de bioseguridad seleccionadas y aplicadas.

Los siguientes eventos que se describen deben poner en marcha una nueva evaluación del riesgo de procedimiento o la revisión de otro existente:

- Inicio de nuevos trabajos o cambios en el programa de trabajo, o alteraciones en el flujo o el volumen de trabajo.
  - Personal nuevo.
  - Nueva construcción o modificaciones en los laboratorios, o introducción de nuevos equipos.
  - Modificaciones en los procedimientos estandarizados o las prácticas de trabajo (por ejemplo, cambios en los protocolos de desinfección o gestión de desechos, suministro y uso de equipo de protección personal, cambios en los protocolos de entrada o salida).
  - Un incidente en el laboratorio (por ejemplo, un derrame importante).
  - Pruebas o sospecha de una infección adquirida en el laboratorio.
  - Examen de las respuestas de emergencia y los requisitos de planificación de contingencias.
  - Proceso existente de examen del sistema de gestión (por ejemplo, frecuencia anual u otra frecuencia apropiada y previamente determinada).

### **Programa de salud ocupacional para los trabajadores**

Los programas de salud ocupacional para los empleados deben promover un lugar de trabajo seguro y saludable. A continuación se mencionan medidas que deben implementarse para dicho fin:

- Reducir al mínimo la posibilidad de exposición.

- Debe estudiarse la posibilidad de realizar un examen médico inicial y prever exámenes periódicos para todo el personal antes de que comience a trabajar en el laboratorio de TB.
- El personal médico que presta servicios de salud ocupacional debe conocer debidamente la naturaleza de los potenciales riesgos de salud en los laboratorios de TB y contar con expertos a los que consultar.
- Los servicios médicos deben estar fácilmente accesibles para permitir una evaluación y un tratamiento oportuno y apropiado.
- Incluir las instrucciones descritas en la norma técnica del PROCET vigente.

### **Recomendación de cómo realizar una evaluación de riesgo de un laboratorio de tuberculosis**

- La evaluación de riesgos es un proceso subjetivo que exige tener en cuenta las características peligrosas de los microorganismos y los procedimientos; en ocasiones, los juicios se basan en información incompleta. Una evaluación de riesgos es sencillamente un examen detenido de aquello que puede ser nocivo para las personas en el lugar de trabajo; ello permite valorar si se han adoptado las suficientes precauciones o es preciso adoptar otras nuevas para prevenir daños. Los trabajadores y otras personas del laboratorio tienen derecho a estar protegidos de los daños provocados por no adoptar medidas de control razonables, tal como lo explicita la Ley 16.744 y el Decreto supremo n°40 de 1969, aprueba reglamento sobre prevención de riesgos profesionales.

Aunque no existe un enfoque normalizado para realizar una evaluación de riesgos, se pueden seguir los pasos que se enumeran a continuación para orientar el proceso.

#### **1. Determinar los peligros intrínsecos.**

Las distintas cepas de *M. tuberculosis* producen distintos niveles de peligros individuales y colectivos. Las cepas farmacorresistentes, en particular las MDR y las XDR, suponen mayores riesgos debido a los daños más graves que causarían en una persona infectada, ya que los tratamientos son más largos, pueden llegar a ser limitados, de mayor costo y menos eficaces. Los laboratorios que trabajan con estas cepas deben establecer precauciones de mayor nivel.

#### **2. Decidir quién puede resultar afectado y cómo.**

Los principales riesgos de procedimiento en un laboratorio de tuberculosis guardan relación con la generación de aerosoles que podrían ser inhalados por los trabajadores. Esos aerosoles están asociados a ciertas actividades que tienen más probabilidades de generarse según la frecuencia de realización de pruebas o la carga de trabajo, la uniformidad del material y su propensión a generar aerosoles (por ejemplo, muestras líquidas viscosas frente a muestras sólidas secas), la carga bacilar de los materiales empleados y la viabilidad de los bacilos. También es importante reconocer que la sensibilidad a la tuberculosis de las distintas personas del laboratorio puede ser diferente. Las personas con inmunidad reducida, a causa de ciertos fármacos, la infección por el VIH o el embarazo, pueden generar un mayor riesgo de infección. Si en un laboratorio de tuberculosis trabajan personas inmunodeficientes, es importante consultar con un médico especializado en riesgos ocupacionales que tenga conocimientos sobre la tuberculosis.

#### **3. Evaluar los riesgos y decidir las precauciones.**

##### **a. Determinar la idoneidad de la planta física.**

La determinación final del nivel apropiado de riesgo de tuberculosis y de cualquier otra precaución que pudiera ser necesaria requiere un conocimiento completo de las prácticas, el equipo de seguridad y las medidas de protección presente en las instalaciones. Si una evaluación de riesgos indica que es preciso alterar las medidas de bioseguridad específicas para el nivel seleccionado de riesgo de tuberculosis, un profesional con experiencia en gestión de riesgos biológicos debe validar este juicio de manera independiente y proporcionar al jefe del laboratorio información y recomendaciones pertinentes antes de reforzar la barrera secundaria de las instalaciones.

**b. Evaluar la competencia del personal en el empleo de prácticas seguras.**

La protección de los trabajadores del laboratorio y otras personas asociadas a este, dependerá en última instancia de los propios trabajadores. En la realización de una evaluación de riesgos, el jefe del laboratorio debe asegurar que los trabajadores hayan adquirido las competencias técnicas necesarias en el empleo de buenas prácticas microbiológicas y del equipo necesario para la manipulación en condiciones de seguridad de material potencialmente infeccioso, y que han desarrollado hábitos que sostienen la excelencia en la realización de esas prácticas. Asegurarse de que la persona es competente, tiene experiencia en la manipulación de agentes infecciosos, sabe utilizar técnicas de desinfección, GSB y tiene la capacidad de responder en caso de emergencia, además de estar dispuesta a aceptar la responsabilidad de protegerse a sí mismo y a otras personas, supone una importante garantía de que un técnico de laboratorio es capaz de trabajar de forma segura.

**c. Evaluar la integridad del equipo de seguridad.**

El jefe del laboratorio debe asegurar que se dispone del equipo de seguridad necesario, y que este ha sido certificado por un profesional calificado en cuanto a su correcto funcionamiento; además, debe velar por la integridad del equipo y que este sea verificado periódicamente. Por ejemplo, un GBS que no ha sido certificado representa un riesgo potencialmente grave para los trabajadores que lo utilizan y para otras personas del laboratorio. Además, debe instruirse a los trabajadores del laboratorio para que realicen pruebas sencillas a diario con el fin de cerciorarse de que el equipo de laboratorio funciona debidamente. Por ejemplo, deben verificar que las tapas de las cubetas de la centrifuga no están agrietadas, que los anillos están en su lugar y en buen estado. Todos los días se debe verificar que el aire de entrada al GBS tiene una dirección correcta.

**4. Anotar las observaciones y tomar las medidas necesarias.**

Las observaciones de la evaluación de riesgos y las precauciones que hay que adoptar deben quedar documentadas como parte del sistema de calidad. Los resultados de la evaluación de riesgos mostrarán que se realizó una comprobación correcta y se habrá identificado a las personas expuestas por realizar determinados procedimientos. Aunque algunos peligros como la producción de aerosoles no pueden eliminarse por completo en el laboratorio de tuberculosis, hay que aplicar precauciones razonables que hagan que el riesgo residual sea lo más bajo posible.

**5. Revisar la evaluación y actualizarla en caso necesario.**

Periódicamente deben revisarse los procedimientos y prácticas que tengan potencial de riesgo; esto debe convertirse en un protocolo estandarizado con el fin de promover y establecer prácticas de laboratorio seguras. Las medidas de bioseguridad que ya existan se revisarán al menos una vez al año; se modificarán siempre que sea necesario después de una evaluación del riesgo, y siempre después de la introducción de un nuevo procedimiento o técnica, cambio en planta física o ingreso de nuevos integrantes al equipo de trabajo en el laboratorio.

**ANEXO2.****DETERMINACIÓN DE LAS NECESIDADES DE VENTILACIÓN**

La ventilación mueve el aire del exterior hacia el interior de una sala de laboratorio y distribuye el aire dentro de la sala. El propósito de la ventilación en un laboratorio es proporcionar aire limpio que diluya el aire potencialmente contaminado y lo extraiga del laboratorio. La ventilación del laboratorio tiene tres elementos básicos:

- Tasa de ventilación – cantidad de aire exterior que entra en el laboratorio
- Dirección del flujo de aire – dirección general del aire que circula en el laboratorio y que debe dirigirse de las zonas funcionalmente limpias a las zonas sucias
- Diseño del flujo de aire – el aire exterior debe llegar a cada zona del laboratorio y ser evacuado de esta de manera eficiente. Para ventilar un laboratorio pueden utilizarse tres métodos: natural, mecánico e híbrido (mixto)

**Ventilación natural**

Las fuerzas naturales impulsan el aire del exterior por las ventanas y puertas abiertas del laboratorio. La ventilación natural en general proporciona una elevada tasa de ventilación de manera más económica debido al uso de las fuerzas naturales y de grandes aberturas, que juntas permiten alcanzar tasas elevadas de intercambio de aire. La idoneidad de la ventilación natural para un laboratorio concreto depende del clima, el diseño de laboratorio y las prácticas del trabajo del personal del laboratorio.

**Ventilación mecánica**

Pueden instalarse ventiladores mecánicos en las ventanas o las paredes, o instalarse en conductos que expulsan el aire del laboratorio. El tipo de ventilación mecánica que se utilice dependerá del clima. Se considera que los sistemas de ventilación mecánica son fiables a la hora de conseguir la tasa deseada de flujo de aire con independencia del efecto de los vientos variables y la temperatura ambiente. La ventilación mecánica puede utilizarse con un sistema de aire acondicionado para controlar la temperatura y la humedad. También puede lograrse utilizando puestos de trabajo ventilados.

**Ventilación híbrida (mixta)**

La ventilación híbrida (mixta) depende de las fuerzas naturales para obtener la tasa de flujo de aire deseada. Utiliza ventilación mecánica cuando el flujo de la ventilación natural es demasiado bajo. Cuando la ventilación natural por sí sola no es suficiente, pueden instalarse extractores para aumentar la ventilación en los laboratorios que realizan exámenes microscópicos de bacilos ácidosresistentes. Sin embargo, los ventiladores deben instalarse de modo que el aire de la sala pueda ser expulsado directamente al exterior, a través de una pared o del techo. El número y el tamaño de extractores necesarios depende de la tasa de ventilación deseada, que debe calcularse antes de emplear este método.

**¿Cómo determinar la ventilación adecuada en un laboratorio de tuberculosis que utilice ventilación mecánica?**

La ventilación adecuada en los laboratorios de TB se describe típicamente como un flujo de aire direccional con 6 a 12 CAH. El flujo de aire direccional se refiere al aire que circula desde las zonas limpias del laboratorio hacia las zonas en las que pueden generarse aerosoles, para después ser evacuado de la sala de manera segura. El número de CAH se refiere al número de veces que el volumen de aire de la habitación es evacuado y sustituido por aire limpio por hora. Cuando se emplea ventilación mecánica, un método de asegurar los CAH es:

1. identificar la salida o las salidas de los extractores de aire;
2. cubrir la salida con un trozo de cartón que tenga una abertura de 10 cm x 10 cm;
3. medir la velocidad del aire saliente con un anemómetro;
4. calcular la tasa volumétrica del flujo de aire en cada puerto de salida de aire

$$Q = V \times A \times 3600$$

$Q$  = tasa volumétrica del flujo de aire en m<sup>3</sup>/h

$V$  = velocidad del aire en m/s

$A$  = superficie de la abertura en m<sup>2</sup> (por ejemplo, 10 cm [0,1 m] x 10 cm = 0,01 m<sup>2</sup>)

3600 = conversión de horas en segundos;

5. sumar los resultados de todas las salidas de aire de la sala.
6. medir el volumen de la sala.

**Vol = Longitud x Anchura x Altura = m<sup>3</sup> (medida en metros);**

7. calcular los intercambios de aire por hora CAH =  $Q/Vol$ .

Las mediciones de los CAH cuando se utiliza ventilación natural son demasiado variables para dar una medida fiable de la ventilación. En su lugar es preferible utilizar el flujo de aire direccional para proporcionar condiciones de trabajo seguras. Asegurar que el aire fluye alejándose del trabajador, atraviesa la zona de trabajo donde hay material potencialmente infeccioso y se aleja de las zonas ocupadas de la sala debe ser suficiente protección frente a los aerosoles generados en la zona de trabajo.

**¿Cómo calcular el número de intercambios de aire por hora en un laboratorio que utilice una GBS con conexiones de dedal?**

- Determinar el volumen de la sala del laboratorio (superficie del suelo x altura de la sala).
- Determinar el volumen de CAH que se necesitan (multiplicar el volumen de la sala por 6 para obtener el número mínimo de intercambios de aire, y por 12 para obtener el número máximo).
- Determinar el número de GBS y el aire evacuado de cada una de ellas. El aire expulsado de una GBS de 150 cm de ancho será de unos 500 m<sup>3</sup>/h, (es decir, superficie de entrada de aire 1,50 m x 0,2 m x velocidad del aire 0,38 m/s o 0,5 m/s x 3600 s = 410–540 m<sup>3</sup>/h). Este cálculo se hará para cada tipo de cámara que se utilice.

- Determinar la potencia del ventilador de extracción externo instalado al final de los conductos; debe superar la tasa de flujo volumétrica de cada GBS en un 30%-50% y debe ser controlable y estar conectado a un suministro eléctrico ininterrumpido.

El aire procedente de la GBS debe estar contenido en tuberías de ventilación de un diámetro superior a 20 cm. Por ejemplo: una superficie de laboratorio de 5 m x 10 m con un techo de 2,5 m de alto requeriría que cada hora se evacuasen entre 750 m<sup>3</sup> y 1500 m<sup>3</sup> de aire para que se realizasen los 6 a 12 intercambios del volumen de la sala requeridos.

Así, dos GBS con conexiones en dedal expulsarían 1300–1500 m<sup>3</sup> de aire del laboratorio cada hora.

- El sistema de ventilación del laboratorio debe ser planificado con un ingeniero especializado y calificado.

## BIBLIOGRAFÍA

- Actualización DS N°745, "Reglamento sobre condiciones sanitarias y ambientales básicas en los lugares de trabajo". DISAM, Ministerio de Salud, Octubre 1998.
- Fogan M, Pland G. "Tuberculin skin testing in medical students a Survey of USA Medical Schools, Ann; Inten. Med 1994, 120:930 – 931.
- Colditz G. A. Brewer TF, Berkey CS, et al. "Efficacy of BCG vaccine in the prevention of Tuberculosis: Meta – Analisis of Published literature Jama 1994;271;698 – 702.
- William, Stead "Management of health care worker after inadvertive therapy". Ann. Inter. Med. 1995, 122:906-912.
- Menzies D., Fanning A., Yuan L., Et al "Tuberculosis among health care workers". New Engl. J. Medical 1995; 332:92 – 98.
- Wenger P., Otten J., Breeden A., Orfas D., "Control nosocomial transmission of multidrug-resistant mycobacterium tuberculosis among healthcare workers and Hiv-infected Patiens". Lancet 1995; 345:235 – 240.
- Guideleines for preventing the transmission of mycobacterium tuberculosis in health care facilities. 1994 MMWR.
- Manual de prevención y Control de las IIH y Normas del Programa Nacional de Infecciones Intrahospitalarias; 1993: 54 – 66.
- Boletín Oficina Sanitaria Panamericana 118 (2)-1995. Instantáneas Pag. 156.
- Guideline for infection control in health care personal. 1998 Volume 26, Number 3, 1998.
- Manual de Bioseguridad en el laboratorio, tercera edición, OMS 2005.
- Norma técnica para el transporte de sustancias infecciosas a nivel nacional hacia el Instituto de Salud Pública 2008.

- CDC, *Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories Recommendations of a CDC-Convened, Biosafety Blue Ribbon Panel Supplement/Vol.61 January 6, 2012.*
- *Bioseguridad en Unidades Hemoterápicas y Laboratorios de Salud Pública,-Brasilia: Ministerio de salud, programa nacional de ETS y SIDA.*
- OMS, *Manual de Bioseguridad en el Laboratorio de Tuberculosis, 2012.*
- *Laboratory services in tuberculosis control. Part II: microscopy. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 2008 (WHO/TB/98.258).*
- *Acid-fast direct smear microscopy training package. Atlanta, GA, Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, 2006 (<http://wwwn.cdc.gov/dls/ila/acidfasttraining>, )*
- *GUIA DE BIOSEGURIDAD PARA LABORATORIOS CLINICOS 2013. Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia. Instituto de Salud Pública de Chile.*
- *Biorisk Management: Laboratory biosecurity guidance 2006.*
- *Decreto supremo n°594 1995, aprueba reglamento sobre condiciones sanitarias y ambientales básicas en los lugares de trabajo.*
- *Decreto supremo n°40 de 1969, aprueba reglamento sobre prevención de riesgos profesionales.*
- *Dto. N° 6 de 2009, reglamento sobre manejo de residuos de establecimientos de atención de salud (reas).*
- *Decreto 29, norma de emisión para incineración, coincineración y coprocesamiento y deroga decreto n° 45, de 2007".*

ANÓTESE, COMUNÍQUESE Y PUBLÍQUESE EN EXTRACTO EN EL DIARIO OFICIAL Y EL TEXTO COMPLETO EN LA PÁGINA WEB INSTITUCIONAL [www.ispch.cl](http://www.ispch.cl)



12/01/2017  
ID N° 265747  
Resol.A1/N° 84

Distribución:

- Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia;
- Unidad de Comunicaciones e Imagen Institucional.
- Asesoría Jurídica.
- Oficina de Partes.

