

Manual de bioseguridad en el laboratorio

Organización Mundial de la Salud

Parte 2 de 6

PARTE II Bioprotección en el laboratorio

9. Conceptos de bioprotección en el laboratorio

PARTE III Equipo de laboratorio

10. Cámaras de seguridad biológica

Cámaras de seguridad biológica de clase I

Cámaras de seguridad biológica de clase II

Cámaras de seguridad biológica de clase III

Conexiones de aire de las cámaras de seguridad biológica

Elección de una cámara de seguridad biológica

Uso de las cámaras de seguridad biológica en el laboratorio

11. Equipo de seguridad

Cámaras aislantes de material flexible y presión negativa

Dispositivos de pipeteo

Homogeneizadores, agitadores, mezcladores y desintegradores ultrasónicos

Asas desechables

Microincineradores

Ropas y equipo de protección personal



Organización Mundial
de la Salud

PARTE II Bioprotección en el laboratorio

9. Conceptos de bioprotección en el laboratorio

En ediciones anteriores, el Manual de bioseguridad en el laboratorio se ha centrado en las orientaciones tradicionales en materia de seguridad biológica para los laboratorios. En ellas se hacía hincapié en el uso de prácticas microbiológicas correctas, el equipo de contención apropiado, el diseño, la operación y el mantenimiento de las instalaciones, y los aspectos administrativos para reducir al mínimo el riesgo de lesiones o enfermedades entre el personal. Con la aplicación de esas recomendaciones, el riesgo para el medio ambiente y para la comunidad circundante también se reduce al mínimo. Sin embargo, los acontecimientos mundiales recientes han puesto de relieve la necesidad de proteger los laboratorios y los materiales que contienen de acciones que puedan perjudicar a las personas, el ganado, la agricultura o el medio ambiente. Antes de definir las necesidades de un laboratorio o un programa en materia de bioprotección, es preciso definir claramente la distinción entre “seguridad biológica” y “protección biológica”.

“Seguridad biológica” (o “bioseguridad”) es el término utilizado para referirse a los principios, técnicas y prácticas aplicadas con el fin de evitar la exposición no intencional a patógenos y toxinas, o su liberación accidental. En cambio, la “protección biológica” (o “bioprotección”) se refiere a las medidas de protección de la institución y del personal destinadas a reducir el riesgo de pérdida, robo, uso incorrecto, desviaciones o liberación intencional de patógenos o toxinas.

Un programa de bioprotección debe apoyarse en un programa sólido de seguridad biológica. Mediante las evaluaciones del riesgo realizadas como parte integral del programa de bioseguridad de la institución, se acopia información sobre el tipo de organismos utilizados, su localización, el personal que necesita tener acceso a ellos y las personas responsables de ellos. Esa información puede utilizarse para determinar si la institución posee materiales biológicos de interés para quienes puedan querer usarlos incorrectamente. Deben elaborarse normas nacionales que reconozcan y definan la responsabilidad que tienen los países y las instituciones de proteger las muestras, patógenos y toxinas para que no sean utilizados de forma incorrecta.

Debe prepararse y aplicarse un programa de bioprotección específico para cada centro, teniendo en cuenta los requisitos del centro, el tipo de trabajo de laboratorio que se realiza y las condiciones locales. En consecuencia, las actividades de bioprotección en el laboratorio deben ser representativas de las diferentes necesidades de la institución y tener en cuenta la información proporcionada por los directores científicos, los investigadores principales, los funcionarios de bioseguridad, el personal científico del laboratorio, el personal de mantenimiento, los administradores, el personal de tecnología de la información y, cuando proceda, de los organismos responsables del cumplimiento de la ley y del personal de seguridad.

Las medidas de protección biológica del laboratorio deben basarse en un programa integral de rendición de cuentas sobre los patógenos y las toxinas que incluya un inventario actualizado donde figure el lugar de almacenamiento, la identificación del personal que dispone de acceso, la descripción del uso, la documentación de las transferencias internas o externas, dentro de un mismo centro y entre diferentes centros, y cualquier inactivación y/o eliminación de los materiales. Del mismo modo, debe instaurarse un protocolo institucional de bioprotección en el laboratorio, destinado a identificar, notificar, investigar y corregir los incumplimientos de las normas de bioprotección del laboratorio, incluidas las discrepancias en los resultados de los inventarios. La participación y los papeles y responsabilidades de las autoridades de salud pública y de seguridad en caso de infracción de las normas de protección deben estar claramente definidas.

Se proporcionará capacitación específica en materia de bioprotección, además de la relativa a la seguridad biológica, a todo el personal. Esa capacitación ayudará al personal a comprender

la necesidad de proteger esos materiales y los fundamentos de las medidas concretas de bioprotección, y deberá incluir un examen de las normas nacionales y de los procedimientos específicos de la institución que sean pertinentes. Durante la capacitación también se deben presentar procedimientos que describan los papeles y las responsabilidades del personal en lo relativo a la protección, en caso de infracción de las normas.

La idoneidad profesional y ética para trabajar con patógenos peligrosos por parte de todo el personal que disponga de autorización de acceso regular a materiales sensibles es otro componente fundamental de las actividades eficaces de bioprotección en el laboratorio.

En resumen, las precauciones relacionadas con la protección deben formar parte de la rutina de trabajo en el laboratorio, exactamente igual que las técnicas asépticas y otras prácticas microbiológicas seguras. Las medidas de bioprotección no deben dificultar el intercambio eficiente de materiales de referencia, de muestras clínicas y epidemiológicas ni de la información conexa necesaria para las investigaciones clínicas o de salud pública. Una gestión competente de la protección no tiene por qué interferir indebidamente con las actividades cotidianas del personal científico ni ser un impedimento para la actividad investigadora. Se debe proteger el acceso legítimo a materiales clínicos y de investigación importantes. La evaluación de la idoneidad del personal, la formación específica en temas de protección y el cumplimiento riguroso de los procedimientos de protección de los patógenos constituyen formas razonables de incrementar la bioprotección en el laboratorio. Todas estas medidas deben ser establecidas y mantenidas mediante evaluaciones periódicas de los riesgos y las amenazas y mediante una revisión y actualización periódica de los procedimientos. Las comprobaciones del cumplimiento de estos procedimientos, con instrucciones claras sobre los papeles, las responsabilidades y las medidas correctoras, deben formar parte integral de los programas de bioprotección del laboratorio y de las normas nacionales sobre la bioprotección en el laboratorio.

PARTE III Equipo de laboratorio

10. Cámaras de seguridad biológica

Las CSB están diseñadas para proteger al trabajador, la atmósfera del laboratorio y los materiales de trabajo de la exposición a las salpicaduras y los aerosoles infecciosos que pueden generarse al manipular material que contiene agentes infecciosos, como cultivos primarios, soluciones madre y muestras de diagnóstico. Los aerosoles se producen en cualquier actividad que transmita energía a un material líquido o semilíquido, por ejemplo, al agitarlo, verterlo a otro recipiente, removerlo o verterlo sobre una superficie o sobre otro líquido. Las actividades como la siembra de placas de agar, la inoculación de frascos de cultivo celular con pipeta, el uso de pipetas múltiples para dispensar suspensiones líquidas de agentes infecciosos en placas de microcultivo, la homogeneización y la agitación vorticial de material infeccioso, y la centrifugación de líquidos infecciosos o el trabajo con animales pueden generar aerosoles infecciosos. Las partículas de aerosol de menos de 5 mm de diámetro y las pequeñas gotículas de 5 a 100 mm de diámetro no son visibles a simple vista. El trabajador no suele darse cuenta de que se están produciendo esas partículas, que pueden ser inhaladas o provocar la contaminación cruzada de los materiales que se encuentran sobre las superficies de trabajo. Las CSB, cuando se utilizan debidamente, han demostrado ser sumamente eficaces para reducir las infecciones adquiridas en el laboratorio y la contaminación cruzada de cultivos por exposición a aerosoles. Las CSB también protegen la atmósfera del laboratorio.

A lo largo de los años, el diseño básico de las CSB ha sufrido varias modificaciones. Un cambio importante fue la adición de un filtro HEPA. Los filtros HEPA retienen el 99,97% de las partículas de 0,3 mm de diámetro y el 99,99% de las partículas de tamaño mayor o menor; esto les permite retener eficazmente todos los agentes infecciosos conocidos y garantizar que de la

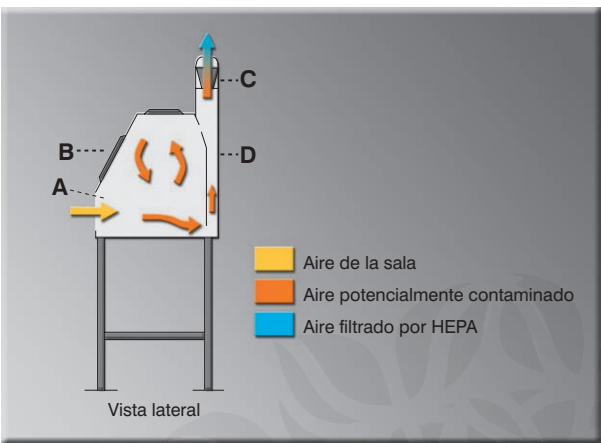


Figura 6. Esquema de una cámara de seguridad biológica de clase I. A: abertura frontal; B: ventana de cristal; C: filtro HEPA de salida; D: cámara de distribución del extractor.

cámara sólo sale aire exento de microorganismos. Una segunda modificación del diseño consistió en dirigir hacia la superficie de trabajo aire que haya pasado por filtros HEPA, con el fin de proteger de la contaminación los materiales de esa superficie. Esta característica a menudo se conoce como protección del producto. Estos conceptos de diseño básicos han llevado a la evolución de tres clases de CSB. En el **cuadro 8** se explica el tipo de protección que ofrece cada una de ellas.

Nota. Las cabinas de flujo de aire horizontal y vertical (“bancos de trabajo de aire limpio”) no son CSB y no deben emplearse como tal.

Cámaras de seguridad biológica de clase I

En la **figura 6** aparece un esquema de una CSB de clase I. El aire de la sala entra por la abertura delantera a una velocidad mínima de 0,38 m/s, pasa por encima de la superficie de trabajo y sale de la cámara por el conducto de extracción. La corriente de aire arrastra las partículas de aerosol que puedan generarse en la superficie de trabajo, alejándolas del trabajador y dirigiéndolas hacia el conducto de extracción. La abertura frontal permite que los brazos del trabajador lleguen a la superficie de trabajo del interior de la cámara mientras observa la superficie a través de una ventana de cristal. Esta ventana también puede levantarse por completo para tener acceso a la superficie de trabajo para limpiarla o con otros fines.

El aire procedente de la cámara se evacua a través de un filtro HEPA: a) al laboratorio y a continuación al exterior del edificio a través del sistema de evacuación de aire del edificio; b) al exterior a través del sistema de evacuación de aire del edificio, o c) directamente al exterior. El filtro HEPA puede estar situado en la cámara de distribución del extractor de la CSB o en la salida de aire del edificio. Algunas CSB de clase I llevan integrado un ventilador de extracción, mientras que otras funcionan con el ventilador de evacuación de aire del sistema general del edificio.

La CSB de clase I fue la primera CSB reconocida, y debido a la sencillez de su diseño sigue teniendo un uso muy extendido en todo el mundo. Su ventaja es que proporciona protección tanto personal como ambiental y también puede utilizarse para trabajar con radionúclidos y sustancias

Cuadro 8. Selección de una cámara de seguridad biológica (CSB) según el tipo de protección necesaria

Tipo de protección	Selección de la CSB
Protección personal, microorganismos de los grupos de riesgo 1 a 3	Clase I, clase II, clase III
Protección personal, microorganismos del grupo de riesgo 4, laboratorio para trabajar con cámara de guantes	Clase III
Protección personal, microorganismos del grupo de riesgo 4, laboratorio para trabajar con trajes especiales	Clase I, clase II
Protección del producto	Clase II, clase III sólo si incluye flujo laminar
Protección contra cantidades mínimas de sustancias químicas/radionúclidos volátiles	Clase IIB1, clase IIA2 ventilada hacia el exterior
Protección contra sustancias químicas/radionúclidos volátiles	Clase I, clase IIB2, clase III

químicas tóxicas volátiles. Como se hace pasar aire de la sala, sin esterilizar, sobre la superficie de trabajo, se considera que no ofrece una protección fiable del producto.

Cámaras de seguridad biológica de clase II

A medida que fue aumentando el uso de cultivos celulares y tisulares para la propagación de virus y otros fines, dejó de considerarse satisfactorio que el aire no esterilizado de la sala pasara por encima de la superficie de trabajo. Además de proporcionar protección personal, las CSB de clase II protegen del aire contaminado del local a los materiales de la superficie de trabajo. Las CSB de clase II, de las que hay cuatro tipos (A1, A2, B1 y B2), difieren de las CSB de clase I en que sólo permiten que entre en contacto con la superficie de trabajo aire que ha pasado por un filtro HEPA (aire estéril). Las CSB de clase II pueden utilizarse para trabajar con agentes infecciosos de los grupos de riesgo 2 y 3, y también con agentes infecciosos del grupo de riesgo 4, siempre que se utilicen trajes presurizados.

Cámaras de seguridad biológica de clase II tipo A1

Estas cámaras se representan en la **figura 7**. Un ventilador interno succiona aire de la sala (aire de entrada) hacia la cámara a través de la abertura frontal y lo dirige hacia la rejilla frontal de entrada. La velocidad de esta corriente de aire debe ser de al menos 0,38 m/s a la altura de la abertura frontal. Ese aire pasa a continuación por un filtro HEPA antes de dirigirse, descendiendo verticalmente, hacia la superficie de trabajo. A medida que el aire desciende, se “divide” a unos 6–18 cm de la superficie de trabajo, de modo que la mitad pasa a través de la rejilla de extracción delantera y la otra mitad por la rejilla de extracción trasera. Toda partícula de aerosol que se genere en la superficie de trabajo es inmediatamente capturada por esta corriente de aire descendente y pasa a través de la rejilla de evacuación delantera o trasera, con lo que se consigue el máximo nivel de protección del producto. A continuación el aire se evacua a través de la cámara de distribución posterior hacia el espacio comprendido entre los filtros de suministro y de evacuación situados en la parte superior de la cámara. Debido al tamaño relativo de estos filtros, alrededor del 70% del aire vuelve a circular a través del filtro HEPA de suministro y regresa a la zona de trabajo; el 30% restante pasa a través del filtro de evacuación hacia la sala o el exterior.

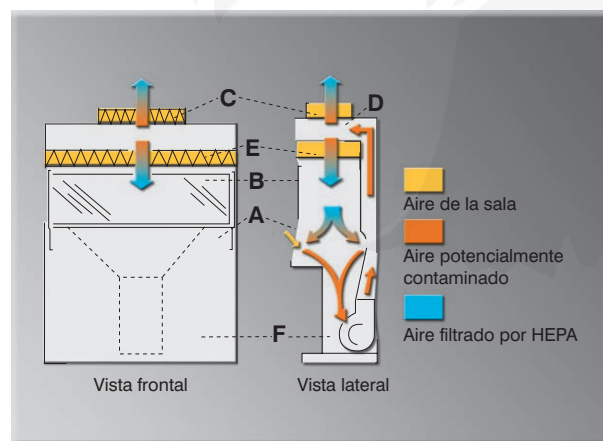


Figura 7. Esquema de una cámara de seguridad biológica de clase II tipo A1. A: abertura frontal; B: ventana; C: filtro HEPA de salida; D: cámara de distribución trasera; E: filtro HEPA de suministro; F: ventilador.

El aire de salida de este tipo de cámara puede reciclarse en la sala o evacuarse al exterior del edificio a través de un acoplador de tipo “dedal” conectado a un conducto destinado exclusivamente a este fin o a través del sistema de evacuación de aire del edificio.

El reciclaje del aire de salida hacia la sala tiene la ventaja de reducir los gastos de combustible del edificio, ya que no se evacua aire caliente o frío a la atmósfera exterior. La conexión a los conductos del sistema de evacuación de aire también permite utilizar algunas CSB para trabajar con radionúclidos volátiles y sustancias químicas tóxicas volátiles (**cuadro 8**).

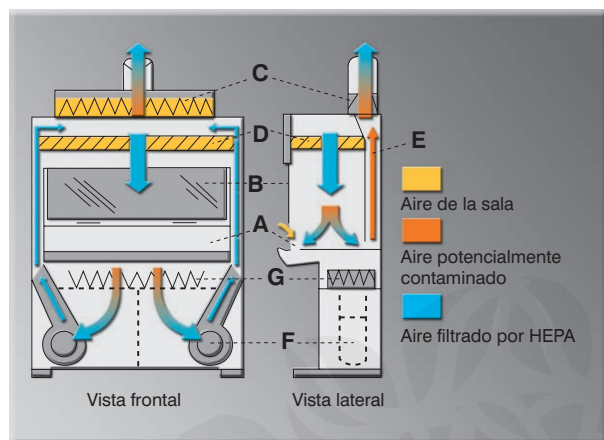


Figura 8. Esquema de una cámara de seguridad biológica de clase IIB1. A: abertura frontal; B: ventana; C: filtro HEPA de salida; D: filtro HEPA de entrada; E: cámara de distribución de salida con presión negativa; F: ventilador; G: filtro HEPA para el aire de entrada. La salida de aire de la cámara debe estar conectada al sistema de evacuación de aire del edificio.

evacuación o por el sistema de evacuación de aire del edificio; y las presiones en el interior de la cámara (en unas los conductos y las cámaras de distribución cargados de aire biológicamente contaminado están bajo presión negativa, o están rodeados por conductos y cámaras de distribución bajo presión negativa).

En las referencias 7 y 8 y en los prospectos informativos que proporcionan los fabricantes pueden encontrarse las descripciones completas de las distintas cámaras de clase IIA y IIB.

Cámaras de seguridad biológica de clase III

Este tipo de cámaras (**figura 9**) es el que proporciona mayor nivel de protección personal y se utiliza para trabajar con agentes del grupo de Riesgo 4. Todos los orificios están sellados para impedir el paso de gases. El aire de entrada es filtrado por HEPA y el aire de salida pasa por dos filtros HEPA. La corriente de aire se mantiene mediante un sistema de extracción propio en el exterior de la cámara, que mantiene el interior de ésta a una presión negativa (alrededor de 124,5Pa). El acceso a la superficie de trabajo se hace mediante guantes de goma gruesa, conectados a unos orificios en la cámara. La cámara debe tener una caja de paso que pueda esterilizarse y vaya equipada con una salida de aire provista de un filtro HEPA. Puede ir conectada a una autoclave de doble puerta en la que se descontaminará todo el material que entre o salga de la cámara. Pueden unirse varias cámaras de guantes para ampliar la superficie de trabajo. Las CSB de clase III son idóneas para los laboratorios de los niveles de bioseguridad 3 y 4.

Conexiones de aire de las cámaras de seguridad biológica

Las CSB de las clases IIA1 y IIA2 con salida al exterior están pensadas para tener conexiones mediante acopladores de tipo “dedal” o de tipo “campana en dosel”. El “dedal” se ajusta a la salida de aire de la cámara dejando un espacio libre de unos 2,5 cm de diámetro. Este pequeño espacio permite succionar aire de la sala también hacia el sistema de evacuación de aire del edificio. La capacidad del sistema de evacuación del edificio debe ser suficiente para captar aire procedente tanto de la sala como de la cámara. El “dedal” debe ser extraíble o estar diseñado para permitir las pruebas de funcionamiento de la cámara. En general, el rendimiento de una cámara conectada mediante un “dedal” no se ve muy afectado por las fluctuaciones en la corriente de aire del edificio.

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

Las CSB de clase IIA2 con salida al exterior, IIB1 (**Figura 8**) y IIB2 son variaciones del tipo IIA1. Sus características, junto con las de las CSB de las clases I y III, se indican en el **cuadro 9**. Cada una de esas variaciones permite utilizar la CSB para fines específicos (véase el **cuadro 8**). Estas CSB se distinguen entre sí en varios aspectos: la velocidad de entrada del aire por la abertura frontal; la cantidad de aire que se vuelve a hacer pasar por la superficie de trabajo y que sale de la cámara; el sistema de extracción de aire, que determina si el aire se evacua hacia la sala o al exterior por su propio sistema de

Cuadro 9. Diferencias entre las cámaras de seguridad biológica de las clases I, II y III

CSB	Velocidad en la abertura frontal (m/s)	Flujo de aire (%)		Sistema de evacuación
		Recirculado	Evacuado	
Clase I ^a	0,36	0	100	Conducto rígido
Clase IIA1	0,38–0,51	70	30	Extracción a la sala o a un acoplador de tipo “dedal”
Clase IIA2 con salida al exterior ^a	0,51	70	30	Extracción a la sala o a un acoplador de tipo “dedal”
Clase IIB1 ^a	0,51	30	70	Conducto rígido
Clase IIB2 ^a	0,51	0	100	Conducto rígido
Clase III ^a	NA	0	100	Conducto rígido

NA: No aplicable.

^a Todos los conductos biológicamente contaminados se encuentran bajo presión negativa o están rodeados por conductos y cámaras de distribución con presión negativa.

Las CSB de las clases IIB1 y IIB2 están conectadas por conductos rígidos, es decir sólidamente conectadas sin abertura de ninguna clase, al sistema de evacuación del edificio o, preferiblemente, a un sistema de conductos de extracción propios. El sistema de evacuación del edificio debe adaptarse con precisión a los requisitos de flujo de aire especificados por el fabricante tanto en relación con el volumen como con la presión estática. La certificación de las CSB conectadas por conductos rígidos lleva mucho más tiempo que la de las CSB que reciclan el aire hacia la sala o de las que llevan acopladores de tipo “dedal”.

Elección de una cámara de seguridad biológica

La elección de una CSB depende primordialmente del tipo de protección que se necesite: protección del producto, protección del personal frente a microorganismos de los grupos de riesgo 1 a 4, protección del personal frente a la exposición a radionúclidos y sustancias químicas tóxicas volátiles, o una combinación de todas ellas. En el **cuadro 8** se muestra qué CSB se recomienda para cada tipo de protección.

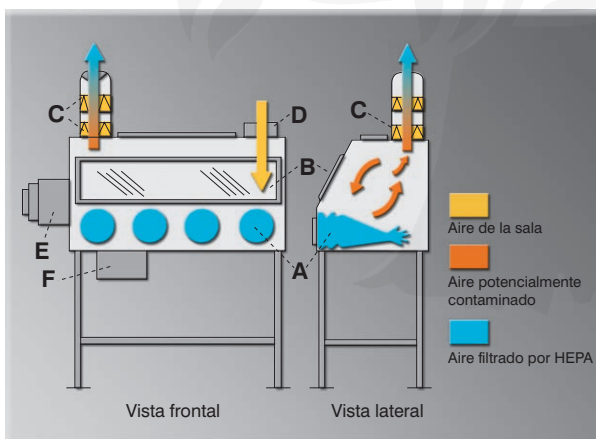


Figura 9. Esquema de una cámara de seguridad biológica de clase III (cámara de guantes). A: orificios para guantes del largo de un brazo; B: ventana; C: dobles filtros HEPA de salida; D: filtro HEPA de entrada; E: autoclave de doble puerta o caja de paso; F: tanque de inmersión química. La salida del aire de la cámara debe estar conectada a un sistema independiente de extracción de aire del edificio.

No deben utilizarse sustancias químicas tóxicas o volátiles en las CSB que reciclan el aire de salida hacia la sala, es decir las de clase I no conectadas al sistema de evacuación de aire del edificio, o las de clase II A1 y A2. Las de clase IIB1 son aceptables para trabajar con cantidades muy reducidas de sustancias químicas volátiles y radionúclidos. Cuando esté previsto utilizar cantidades importantes de radionúclidos y sustancias químicas volátiles es necesario utilizar una CSB de clase IIB2, también denominada cámara de extracción total de aire.

Uso de las cámaras de seguridad biológica en el laboratorio

Localización

La velocidad del aire que ingresa en la CSB por la abertura frontal es de unos 0,45 m/s. A esta velocidad, la integridad del flujo direccional del aire de entrada es frágil y puede verse fácilmente perturbada por las corrientes de aire que generan el movimiento de personas en las proximidades de la cámara, las ventanas abiertas, los registros del suministro de aire y la apertura y cierre de puertas. Lo más conveniente es situar la CSB en un lugar alejado de la circulación del personal y de corrientes de aire que puedan provocar perturbaciones. Siempre que sea posible debe dejarse un espacio de 30 cm por detrás y a ambos lados de la cámara con el fin de poder acceder fácilmente a todas las partes de la cámara para las labores de mantenimiento. Por encima de la CSB conviene dejar un espacio de 30 a 35 cm que permita medir debidamente la velocidad del aire a través del filtro de salida y cambiar este filtro.

Trabajadores

Si las CSB no se usan correctamente, sus efectos protectores pueden verse gravemente disminuidos. Los trabajadores deben tener cuidado de mantener la integridad del flujo de entrada de aire por la abertura frontal al meter y sacar los brazos de la cámara. Los brazos deben moverse con lentitud, perpendicularmente a la abertura frontal. Es conveniente esperar aproximadamente un minuto después de meter las manos y los brazos en la cámara antes de comenzar a manipular el material, con el fin de permitir que la cámara se ajuste y el aire barra las manos y los brazos. El número de movimientos a través de la abertura frontal también debe reducirse al mínimo colocando todo el material necesario en el interior antes de comenzar las manipulaciones.

Colocación del material

La rejilla frontal de entrada de las CSB de clase II no debe estar bloqueada con papeles, instrumental ni otros objetos. La superficie de los materiales que haya que colocar en el interior de la cámara debe descontaminarse con alcohol al 70%. El trabajo puede realizarse sobre paños absorbentes empapados de desinfectante con el fin de que éstos recojan las salpicaduras y los derrames. Todos los materiales deben colocarse lo más dentro posible de la cámara, hacia el borde posterior de la superficie de trabajo, pero sin bloquear la rejilla posterior. El equipo que pueda generar aerosoles (por ejemplo mezcladoras, centrifugadoras) debe colocarse hacia la parte posterior de la cámara. Los artículos voluminosos, como las bolsas específicas para material biológico peligroso, las bandejas de pipetas desechadas y los frascos de succión deben colocarse a un lado del interior de la cámara. El trabajo debe proceder desde las zonas limpias hacia las contaminadas a lo largo de la superficie de trabajo.

Las bolsas de recogida de material biológico peligroso para la autoclave y la bandeja de recogida de pipetas no deben colocarse fuera de la cámara. Los frecuentes movimientos de entrada y salida necesarios para utilizar estos recipientes perturban la barrera de aire de la cámara y puede poner en peligro la protección tanto del personal como del producto.

Operación y mantenimiento

La mayoría de las CSB están diseñadas para funcionar 24 horas al día; los investigadores han llegado a la conclusión de que el funcionamiento continuo ayuda a controlar los niveles de polvo y de partículas en el laboratorio. Las CSB de clase IIA1 y IIA2 que evacúan el aire a la sala o que están conectadas por acopladores de tipo “dedal” a conductos de extracción propios pueden apagarse cuando no están en uso. Otros tipos, como las de la clase IIB1 y IIB2, que tienen instalaciones a base de conductos rígidos, deben mantener una corriente de aire en su interior en

todo momento para contribuir a mantener el equilibrio del aire de la sala. Las cámaras deben encenderse al menos 5 minutos antes de comenzar el trabajo y después de terminarlo para permitir que se “purguen”, es decir, dejar tiempo para que el aire contaminado sea eliminado del entorno de la cámara.

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

Luz ultravioleta

Las CSB no necesitan lámparas de luz ultravioleta. Si se utilizan, las lámparas deben limpiarse una vez a la semana para quitar el polvo y la suciedad que puedan bloquear la eficacia germicida de la luz. La intensidad de la luz ultravioleta debe comprobarse cada vez que se vuelve a certificar la cámara para asegurarse de que la emisión de luz es apropiada. Las luces ultravioletas deben apagarse cuando la sala está ocupada, para proteger los ojos y la piel de exposiciones involuntarias.

Llamas desnudas

Deben evitarse las llamas desnudas en el entorno prácticamente libre de microorganismos creado dentro de la cámara. Esas llamas alteran las corrientes de aire y pueden ser peligrosas cuando se utilizan al mismo tiempo sustancias volátiles e inflamables. Para esterilizar las asas microbiológicas, es preferible utilizar microincineradores u “hornos” eléctricos.

Derrames

Se colocará en lugar visible una copia del protocolo del laboratorio para tratar los derrames, que deberán leer y comprender todos los usuarios. Cuando se produzca un derrame de material de riesgo biológico dentro de una CSB, debe procederse de inmediato a su limpieza, mientras la cámara sigue en funcionamiento. Debe utilizarse un desinfectante eficaz y aplicarse de modo que se reduzca al mínimo la formación de aerosoles. Todos los materiales que entren en contacto con el agente derramado deben desinfectarse o tratarse en autoclave.

Certificación

El funcionamiento y la integridad de cada CSB deben ser certificados en relación con las normas de funcionamiento nacionales o internacionales en el momento de la instalación, y después de forma periódica, por técnicos cualificados y de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La evaluación de la eficacia de contención de la cámara debe incluir pruebas de la integridad de la cámara, fugas de los filtros HEPA, perfil de velocidad del flujo de aire descendente, velocidad en la abertura frontal, tasa de presión negativa/ventilación, características del flujo de aire, y alarmas e interruptores de interbloqueo. También pueden realizarse pruebas facultativas en relación con la instalación eléctrica y la intensidad de la iluminación, la luz ultravioleta, los ruidos y las vibraciones. Para llevar a cabo estas pruebas se requieren capacitación, conocimientos y equipos especiales; es sumamente recomendable que las haga un profesional cualificado.

Limpieza y desinfección

Todos los artículos que entren en una CSB, incluido el material de laboratorio, deben tener su superficie descontaminada y sacarse de la cámara una vez terminado el trabajo, ya que los medios de cultivo residuales pueden permitir la proliferación de microbios.

Las superficies internas de las CSB deben descontaminarse antes y después de cada uso. Las superficies de trabajo y las paredes internas deben limpiarse con un paño empapado en un

desinfectante que elimine los microorganismos que pudiera haber. Al final del día de trabajo, la descontaminación final de las superficies debe incluir la limpieza de la superficie de trabajo, los laterales, la cara posterior y el interior de la ventana de cristal. Para los organismos sensibles se utilizará una solución de lejía o alcohol al 70%. Después habrá que pasar de nuevo un paño con agua estéril cada vez que se utilice un desinfectante corrosivo, como la lejía.

Se recomienda dejar la cámara en funcionamiento. En caso contrario, antes de apagarla habrá que dejarla funcionando durante 5 minutos para purgar la atmósfera interior.

Descontaminación

Las CSB deben descontaminarse antes de los cambios de filtro y antes de cambiarlas de sitio. El método de descontaminación más común es la fumigación con formaldehído gaseoso. La descontaminación de las CSB debe ser realizada por un profesional cualificado.

Equipo de protección personal

Siempre que use una CSB, el trabajador deberá llevar prendas de protección personal. Las batas de laboratorio son aceptables para trabajar en los niveles de bioseguridad 1 y 2. En los niveles de bioseguridad 3 y 4 (salvo en los laboratorios diseñados para trabajar con trajes especiales) deben usarse batas de frente cerrado, abrochadas por detrás, que protegen mejor. Los guantes deben estirarse bien por encima de las mangas de la bata, en lugar de meterlos por debajo. Pueden usarse mangas con elástico para proteger las muñecas del investigador. Para algunos procedimientos pueden hacer falta mascarillas y gafas de seguridad.

Alarmas

Las CSB pueden ir equipadas con uno de los dos tipos siguientes de alarma. Las alarmas de abertura, que sólo se encuentran en las cámaras que llevan ventanas de cristal correderas; indican que el trabajador ha colocado el cristal en posición incorrecta, y se detienen cuando el cristal está debidamente colocado. Las alarmas de flujo de aire señalan perturbaciones de las características normales del flujo de aire en la cámara que representan un peligro inmediato para el trabajador o el producto. Cuando suene esta alarma, se interrumpirá inmediatamente el trabajo y se avisará al supervisor del laboratorio. Los manuales de instrucciones del fabricante deben dar más detalles. La capacitación para el uso de CSB debe incluir este aspecto.

Información complementaria

La elección del tipo correcto de CSB, su instalación y uso correctos y la certificación anual de su funcionamiento son procesos complejos. Se recomienda que todos ellos se hagan bajo la supervisión de un profesional de la seguridad biológica bien adiestrado y con experiencia. Este profesional debe estar bien familiarizado con las publicaciones pertinentes enumeradas en la sección de Referencias y debe haber recibido capacitación en todos los aspectos de las CSB. Los trabajadores deben recibir capacitación formal sobre el funcionamiento y el manejo de las CSB.

Si se desea más información, consúltense las referencias 5 y 7 a 16, y el capítulo 11.

11. Equipo de seguridad

Habida cuenta de que los aerosoles son importantes fuentes de infección, debe tenerse cuidado de reducir su formación y dispersión. Muchas operaciones de laboratorio generan aerosoles peligrosos, como mezclar, triturar, agitar, remover, someter a ultrasonidos o centrifugar material

infeccioso. Aunque se utilice equipo seguro, es preferible efectuar esas operaciones en una CSB siempre que sea posible. Las CSB, su uso y las pruebas a que deben someterse, se examinan en el capítulo 10. El uso de equipo de seguridad no garantiza la protección, a menos que el trabajador esté adiestrado en su uso y aplique las técnicas apropiadas. El equipo debe probarse con regularidad para asegurarse de que sigue siendo seguro.

En el **cuadro 10** aparece una lista de comprobación del equipo de seguridad diseñado para eliminar o reducir ciertos peligros y se exponen brevemente las características que determinan la seguridad. En las páginas que siguen se ofrecen más detalles sobre gran parte de ese material. En el capítulo 12 puede encontrarse más información acerca del uso apropiado de ese equipo. En el anexo 4 se ofrece información sobre el equipo y las operaciones que pueden entrañar un peligro.

Cámaras aislantes de material flexible y presión negativa

Las cámaras aislantes de material flexible y presión negativa son dispositivos autoportantes de contención primaria que ofrecen máxima protección frente a materiales biológicos peligrosos. Pueden colocarse sobre un soporte móvil. El banco de trabajo está totalmente encerrado en una envoltura de cloruro de polivinilo (PVC) transparente, suspendida de un marco de acero. La cámara aislante se mantiene a una presión interna inferior a la atmosférica. El aire de entrada pasa a través de un filtro HEPA y el de salida a través de dos filtros HEPA, lo que hace innecesario conducir el aire evacuado hacia el exterior del edificio. El aislador puede equiparse con una incubadora, un microscopio y otro material de laboratorio, como centrifugadoras, jaulas de animales o bloques térmicos, entre otros. El material se introduce y se extrae de la cámara aislante a través de aberturas especiales, de modo que no se pone en peligro la seguridad microbiológica. Las manipulaciones se realizan utilizando mangas largas con guantes desechables incorporados. La caja lleva un manómetro para vigilar la presión de la envoltura.

Las cámaras aislantes de material flexible se utilizan para manipular organismos de alto riesgo (grupos de riesgo 3 ó 4) en el trabajo de campo cuando no es posible o apropiado instalar o mantener CSB convencionales.

Dispositivos de pipeteo

Para los procedimientos de pipeteo debe utilizarse siempre un dispositivo especial. El pipeteo con la boca debe estar estrictamente prohibido.

No puede insistirse bastante en la importancia de utilizar dispositivos de pipeteo. Los riesgos más comunes que entraña el uso de pipetas son resultado de la succión bucal. La aspiración por la boca y la ingestión de material peligroso han dado lugar a numerosas infecciones en los laboratorios.

También pueden transferirse agentes patógenos a la boca si se coloca un dedo contaminado en el extremo de la pipeta por el que se hace la succión. Un riesgo menos conocido del pipeteo con la boca es la inhalación de aerosoles provocados por la succión. Los tapones de algodón no constituyen un filtro microbiano eficiente sea la presión negativa o positiva, pues permiten el paso de las partículas durante la succión. Cuando el tapón está muy apretado, se necesita una succión muy enérgica, con el consiguiente riesgo de aspirar a la vez el algodón, el aerosol e incluso el líquido. El uso de dispositivos de pipeteo permite evitar la ingestión de patógenos.

También pueden generarse aerosoles cuando el líquido de una pipeta gotea sobre una superficie de trabajo; cuando se mezclan cultivos alternando succión y soplado, y cuando se sopla

Cuadro 10. Equipo de bioseguridad		
Equipo	Peligro evitado	Características de seguridad
Cámaras de seguridad biológica		
Clase I	Aerosoles y salpicaduras	▪ Flujo mínimo de aire hacia el interior (velocidad frontal) en la abertura de trabajo. Filtración adecuada del aire expulsado. ▪ No protege el producto.
Clase II	Aerosoles y salpicaduras	▪ Flujo mínimo de aire hacia el interior (velocidad frontal) en la abertura de trabajo. Filtración adecuada del aire expulsado. ▪ Protege el producto.
Clase III	Aerosoles y salpicaduras	▪ Contención máxima. ▪ Protege el producto si se incluye flujo de aire laminar.
Cámaras aislantes de material flexible y presión negativa	Aerosoles y salpicaduras	▪ Contención máxima
Pantalla contra salpicaduras	Salpicadura de sustancias químicas	▪ Establece una separación entre el trabajador y el trabajo
Dispositivos de pipeteo	Riesgos propios del pipeteo por succión bucal, como la ingestión de patógenos, la inhalación de aerosoles producidos por la succión bucal, expulsión de líquido o goteo de la pipeta, contaminación del extremo bucal de la pipeta	▪ Facilidad de empleo ▪ Evita la contaminación del extremo bucal de la pipeta con lo que protege el dispositivo, el usuario y el circuito de vacío ▪ Posibilidad de esterilización ▪ Se evita el goteo del extremo inferior de la pipeta
Microincineradores de asas, asas desechables	Salpicaduras procedentes de las asas	▪ Protección mediante un tubo de vidrio o cerámica, abierto por un extremo y calentado por gas o electricidad ▪ Desechables, no necesitan calentamiento
Recipientes herméticos para recoger y transportar material infeccioso destinado a la esterilización dentro del laboratorio	Aerosoles, derrames y fugas	▪ Diseño hermético, con tapa ▪ Duraderos ▪ Posibilidad de tratarlos en la autoclave
Recipientes para la eliminación de objetos cortantes y punzantes	Heridas punzantes	▪ Posibilidad de tratamiento en autoclave ▪ Robustos, a prueba de perforaciones
Recipientes de transporte entre laboratorios e instituciones	Liberación de organismos	▪ Robustos ▪ Recipientes primario y secundario estancos para evitar fugas ▪ Material absorbente para enjugar los escapes
Autoclaves, manuales o automáticas	Material infeccioso (transformado en inocuo para su eliminación o reutilización)	▪ Diseño aprobado ▪ Esterilización térmica eficaz
Frascos con tapón de rosca	Aerosoles y derrames	▪ Contención eficaz
Protección del circuito de vacío	Contaminación del sistema de vacío del laboratorio por aerosoles o rebosamiento de líquidos	▪ Un filtro de tipo cartucho impide el paso de aerosoles (tamaño de las partículas: 0,45 μm) ▪ El matraz de rebosamiento contiene un desinfectante apropiado. Puede usarse una pera de goma para cortar automáticamente el vacío cuando se llena el matraz colector ▪ Todo el sistema puede esterilizarse en la autoclave

por la pipeta para que salga la última gota. La inhalación de los aerosoles que inevitablemente se generan durante las operaciones de pipeteo puede evitarse trabajando en una CSB.

Los dispositivos de pipeteo deben seleccionarse con cuidado. Es importante que ni su diseño ni su modo de empleo aumenten el riesgo de infección, y que sean fáciles de esterilizar y limpiar. Deben utilizarse puntas de pipeta obturadas (resistentes a los aerosoles) cuando se manipulen microorganismos y cultivos celulares.

Las pipetas que tengan los extremos de succión agrietados o astillados deben desecharse, ya que dañan las juntas herméticas por las que se insertan en los dispositivos de pipeteo y crean un peligro.

Homogeneizadores, agitadores, mezcladores y desintegradores ultrasónicos

Los homogeneizadores domésticos (de cocina) no son herméticos y liberan aerosoles. Sólo deben utilizarse aparatos diseñados especialmente para el trabajo de laboratorio, que están contruidos de forma que se reduce al mínimo o se impide esa liberación de aerosoles. Los homogeneizadores de tipo Stomacher, disponibles ahora para trabajar con volúmenes grandes y pequeños, también pueden producir aerosoles.

Los homogeneizadores utilizados para los microorganismos del grupo de riesgo 3 siempre deben cargarse y abrirse en una CSB. Los desintegradores ultrasónicos pueden liberar aerosoles. Deben manipularse en CSB o cubrirse con pantallas protectoras durante su uso. Los dispositivos protectores y la parte exterior de los desintegradores ultrasónicos deben descontaminarse después de su utilización.

Asas desechables

Las asas desechables ofrecen la ventaja de que no necesitan ser esterilizadas, por lo que pueden utilizarse en CSB, en las que los mecheros de Bunsen y los microincineradores perturbarían la corriente de aire. Estas asas deben colocarse en un desinfectante después del uso y desecharse como material contaminado (véase el capítulo 3).

Microincineradores

Los microincineradores calentados con gas o electricidad llevan protecciones de cristal de borosilicato o de cerámica que reducen al mínimo las salpicaduras y la dispersión de material infectado cuando se esterilizan las asas. Sin embargo, pueden perturbar la corriente de aire y por consiguiente deben colocarse hacia la parte trasera de la superficie de trabajo de las CSB.

Ropas y equipo de protección personal

La vestimenta y el equipo de protección personal pueden actuar como barrera para reducir al mínimo el riesgo de exposición a aerosoles, salpicaduras e inoculación accidental. Las prendas de vestir y el equipo que se seleccionen dependen de la naturaleza del trabajo que se realice. En el laboratorio los trabajadores llevarán ropa protectora. Antes de abandonar el laboratorio, tendrán que quitarse las prendas protectoras y lavarse las manos. En el **cuadro 11** se exponen algunos elementos de protección personal utilizados en laboratorios y la protección que ofrecen.

Batas, monos y delantales de laboratorio

De preferencia, las batas de laboratorio irán abotonadas hasta arriba. Sin embargo, las batas de manga larga y abertura trasera y los monos protegen mejor que las batas de abertura frontal

Cuadro 11. Equipo de protección personal		
Equipo	Peligro evitado	Características de seguridad
Batas y monos de laboratorio	Contaminación de la ropa	▪ Abertura trasera ▪ Cubren la ropa de calle
Delantales de plástico	Contaminación de la ropa	▪ Impermeables
Calzado	Impactos y salpicaduras	▪ Puntera cerrada
Gafas de máscara	Impactos y salpicaduras	▪ Lentes resistentes a los impactos (con corrección óptica o bien deben usarse sobre las lentes correctoras) ▪ Protección lateral
Gafas de seguridad	Impactos	▪ Lentes resistentes a los impactos (con corrección óptica) ▪ Protección lateral
Viseras	Impactos y salpicaduras	▪ Protegen todo el rostro ▪ Se retiran fácilmente en caso de accidente
Mascarillas respiratorias	Inhalación de aerosoles	▪ Varios diseños disponibles: desechables, de un solo uso; purificadoras de aire, de cara entera o de media cara; purificadoras de aire eléctricas, de cara entera o con capucha; con suministro de aire
Guantes	Contacto directo con microorganismos	▪ De látex, vinilo o nitrilo, aprobados para uso microbiológico, desechables ▪ Protección de las manos
	Punciones o cortes	▪ De malla

y son preferibles en los laboratorios de microbiología y cuando se trabaja en una CSB. Los delantales pueden llevarse por encima de las batas cuando se necesite mayor protección contra el derrame de sustancias químicas o material biológico como sangre o líquidos de cultivo. Los servicios de lavandería deben encontrarse en las instalaciones o cerca de ellas.

Las batas, monos y delantales no deben usarse fuera de las zonas del laboratorio.

Gafas de seguridad y viseras

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

Ninguno de estos elementos de protección debe usarse fuera del laboratorio.

Mascarillas respiratorias

La protección respiratoria puede utilizarse cuando se realizan procedimientos de alto riesgo, como limpiar un derrame de material infeccioso. El tipo de mascarilla respiratoria elegida dependerá del tipo de peligro. Existen respiradores con filtros cambiables para proteger contra gases, vapores, partículas y microorganismos. Es indispensable que el filtro esté colocado en el tipo de mascarilla adecuado. Para que la protección sea máxima, las mascarillas respiratorias deben ajustarse al rostro de cada trabajador y probarse previamente. Los respiradores autónomos con suministro de aire integrado proporcionan protección completa. Para seleccionar el respirador correcto habrá que solicitar el consejo de una persona debidamente cualificada, como un espe-

cialista en higiene laboral. Las mascarillas de tipo quirúrgico están diseñadas exclusivamente para proteger a los pacientes y no ofrecen protección respiratoria a los trabajadores. Algunas mascarillas respiratorias desechables de un solo uso (ISO 13.340.30) están diseñadas para proteger de las exposiciones a agentes biológicos.

Las mascarillas respiratorias no deben usarse fuera del laboratorio.

Guantes

Las manos pueden contaminarse cuando se trabaja en el laboratorio. También son vulnerables a las heridas producidas por objetos punzantes o cortantes. Los guantes desechables de látex, vinilo o nitrilo de tipo quirúrgico aprobados para uso microbiológico son los más extendidos para el trabajo general de laboratorio y para manipular agentes infecciosos, así como sangre y otros líquidos corporales. También pueden usarse guantes reutilizables, pero hay que lavarlos, retirarlos, limpiarlos y desinfectarlos correctamente.

Después de manipular material infeccioso o trabajar en una CSB y antes de abandonar el laboratorio es preciso retirar los guantes y lavarse las manos concienzudamente. Los guantes desechables usados deben eliminarse junto con los residuos de laboratorio infectados.

Se han notificado casos de reacciones alérgicas como dermatitis e hipersensibilidad inmediata después de usar guantes de látex, particularmente los que llevan polvo. Deberá disponerse en el laboratorio de alternativas a ese tipo de guantes.

Los guantes de malla de acero inoxidable se llevarán cuando haya posibilidad de exposición a instrumentos cortantes o punzantes (por ejemplo, durante una autopsia). No obstante, esos guantes protegen contra los cortes pero no contra las punciones.

Los guantes no deben usarse fuera de las zonas de laboratorio.

Si se desea más información, véanse las referencias 12, 17 y 18.



Islas Galápagos, Ecuador. 2008
Carlos A. Lozano M.