

Manual de bioseguridad en el laboratorio

Organización Mundial de la Salud

Parte 3 de 6

PARTE IV Técnicas microbiológicas apropiadas

12. Técnicas de laboratorio

- Manipulación segura de muestras en el laboratorio
- Uso de pipetas y dispositivos de pipeteo
- Técnicas para evitar la dispersión de material infeccioso
- Uso de las cámaras de seguridad biológica
- Técnicas para evitar la ingestión de material infeccioso y su contacto con la piel y los ojos
- Técnicas para evitar la inyección de material infeccioso
- Separación de suero
- Uso de las centrifugadoras
- Uso de homogeneizadores, agitadores, mezcladores y desintegradores ultrasónicos
- Uso de trituradores de tejidos
- Mantenimiento y uso de refrigeradores y congeladores
- Técnicas para abrir ampollas que contengan material infeccioso liofilizado
- Almacenamiento de ampollas que contengan material infeccioso
- Precauciones normalizadas en relación con la sangre y otros líquidos corporales, tejidos y excreciones
- Precauciones con materiales que puedan contener priones

13. Planes de contingencia y procedimientos de emergencia

- Plan de contingencia
- Procedimientos de emergencia para laboratorios de microbiología
- Desinfección y esterilización
- Definiciones
- Limpieza del material de laboratorio
- Germicidas químicos
- Descontaminación de espacios y superficies
- Descontaminación de cámaras de seguridad biológica
- Lavado y descontaminación de las manos
- Desinfección y esterilización por calor
- Incineración
- Eliminación de desechos

14. Desinfección y esterilización

Definiciones

Limpieza del material de laboratorio

Germicidas químicos

Descontaminación de espacios y superficies

Descontaminación de cámaras de seguridad biológica

Lavado y descontaminación de las manos

Desinfección y esterilización por calor

Incineración

Eliminación de desechos

15. Introducción al transporte de sustancias infecciosas

Reglamentación internacional en materia de transportes

El sistema básico de embalaje/envasado triple

Procedimiento de limpieza de derrames



Organización Mundial
de la Salud

Issued as a publication by the World Health Organization in 2005 under the title *Manual de bioseguridad en el laboratorio*-tercera edición. ©World Health Organization 2005.

The Director-General of the World Health Organization has granted reproduction rights to Editora Médica Colombiana S.A., Colombia.

PARTE IV Técnicas microbiológicas apropiadas

12. Técnicas de laboratorio

Los errores humanos, las técnicas de laboratorio incorrectas y el mal uso del equipo son la causa de la mayoría de los accidentes de laboratorio y las infecciones conexas. En el presente capítulo se compendian los métodos técnicos destinados a evitar o reducir al mínimo los accidentes más comunes provocados por esos factores.

Manipulación segura de muestras en el laboratorio

La recogida, transporte y manipulación de muestras en el laboratorio entrañan un riesgo de infección para el personal.

Recipientes para muestras

Los recipientes para muestras pueden ser de vidrio o, preferiblemente, de plástico. Deben ser fuertes y no permitir fugas cuando la tapa o el tapón estén correctamente colocados. En el exterior del recipiente no debe quedar ningún material. Los recipientes han de estar correctamente rotulados para facilitar su identificación. Los formularios de petición de examen de la muestra no se colocarán alrededor de los recipientes, sino por separado, preferiblemente en sobres impermeables.

Transporte de muestras dentro de la instalación

Para evitar fugas o derrames accidentales, deben utilizarse envases/embalajes secundarios (por ejemplo, cajas) equipados con gradillas, de modo que los recipientes que contienen las muestras se mantengan en posición vertical. Los envases/embalajes secundarios pueden ser de metal o de plástico, pero deben poderse tratar en autoclave o ser resistentes a la acción de los desinfectantes químicos; de preferencia, el cierre debe tener una junta que garantice la estanqueidad. Deberán descontaminarse periódicamente.

Recepción de las muestras

Los laboratorios que reciban un elevado número de muestras deben destinar un local o zona especial con este propósito.

Apertura de los envases/embalajes

El personal que recibe y desempaquetá las muestras debe conocer los riesgos para la salud que entraña su actividad y debe estar capacitado para adoptar precauciones normalizadas [2], particularmente cuando manipule recipientes rotos o con fugas. Los recipientes primarios de las muestras deben abrirse en una CSB. Se dispondrá de desinfectantes.

Uso de pipetas y dispositivos de pipeteo

- 1.** Debe utilizarse siempre un dispositivo de pipeteo. El pipeteo con la boca estará prohibido.
- 2.** Todas las pipetas tendrán tapones de algodón para reducir la contaminación de los dispositivos de pipeteo.

3. Nunca se insuflará aire en un líquido que contenga agentes infecciosos.
4. No debe mezclarse el material infeccioso aspirando y soplando alternativamente a través de una pipeta.
5. No se expulsarán a la fuerza los líquidos de una pipeta.
6. Son preferibles las pipetas aforadas con una muesca superior y otra inferior, ya que no exigen la expulsión de la última gota.
7. Las pipetas contaminadas deben sumergirse completamente en un desinfectante adecuado contenido en un recipiente irrompible y permanecer en él durante un tiempo suficiente antes de tirarlas.
8. Debe colocarse un recipiente para las pipetas usadas dentro (no fuera) de la CSB.
9. No deben utilizarse para pipetear jeringuillas provistas de aguja hipodérmica.
10. En vez de agujas, existen dispositivos para abrir los frascos tapados con un diafragma que permiten usar pipetas y evitar el uso de agujas y jeringuillas hipodérmicas.
11. Para evitar la dispersión del material infeccioso que caiga accidentalmente de una pipeta, se recubrirá la superficie de trabajo con material absorbente, que se desechará como residuo infeccioso una vez utilizado.

Técnicas para evitar la dispersión de material infeccioso

1. A fin de evitar que su carga caiga prematuramente, las asas microbiológicas deben tener un diámetro de 2–3 mm y terminar en un anillo completamente cerrado. Los mangos no deben tener más de 6 cm de longitud para reducir la vibración al mínimo.
2. Para evitar el riesgo de que se produzcan salpicaduras de material infeccioso al flamear las asas en el mechero de Bunsen, se utilizará un microincinerador eléctrico cerrado para esterilizar las asas. Es preferible utilizar asas desechables que no necesitan volver a ser esterilizadas.
3. Al secar muestras de esputo debe procederse con cuidado para evitar la creación de aerosoles.
4. Las muestras y los cultivos desechados destinados a la autoclave o a la eliminación se colocarán en recipientes impermeables, como las bolsas de desechos de laboratorio. La parte superior se cerrará (por ejemplo con cinta de autoclave) antes de tirarlas a los recipientes para desechos.
5. Las zonas de trabajo se descontaminarán con un desinfectante apropiado después de cada periodo de trabajo.

Para más información, véase la referencia 12.

Uso de las cámaras de seguridad biológica

1. Habrá que explicar a todos los posibles usuarios el modo de empleo y las limitaciones de estas cámaras (véase el capítulo 10), tomando como referencia las normas nacionales y las

publicaciones pertinentes. El personal recibirá protocolos escritos o manuales de seguridad o de operación. En particular, ha de quedar claro que la cámara no protege al trabajador de derrames, roturas o técnicas incorrectas.

2. La cámara no debe utilizarse si no funciona correctamente.
3. La ventana de vidrio transparente no debe abrirse mientras se está utilizando la cámara.
4. Los aparatos y materiales introducidos en la cámara deben reducirse al mínimo y no deben bloquear la circulación del aire en la cámara de distribución trasera.
5. No deben utilizarse mecheros de Bunsen en el interior de la cámara, ya que el calor producido perturbará el flujo de aire y puede dañar los filtros. Puede permitirse el uso de un microincinerador, aunque es preferible utilizar asas estériles desechables.
6. Todo el trabajo debe hacerse en la zona media o posterior de la superficie de trabajo y ser visible a través de la ventana.
7. El paso de personas por detrás del trabajador debe reducirse al mínimo.
8. El trabajador no debe alterar el flujo de aire al sacar y volver a introducir repetidas veces los brazos.
9. Las rejillas de aire no deben estar bloqueadas con papeles, pipetas u otros materiales, pues con ello se perturba el flujo de aire y puede provocarse la contaminación del material y la exposición del trabajador.
10. La superficie de la CSB deberá limpiarse con un paño empapado con un desinfectante apropiado una vez terminado el trabajo y al final del día.
11. El ventilador de la cámara se encenderá al menos 5 minutos antes de empezar el trabajo y debe seguir funcionando al menos durante 5 minutos después de concluido el trabajo.
12. Nunca se introducirán papeles en las CSB.

Si se desea más información acerca de las CSB, véase el capítulo 10.

Técnicas para evitar la ingestión de material infeccioso y su contacto con la piel y los ojos

1. Las partículas y gotículas de mayor tamaño (>5 mm) que se desprenden durante las manipulaciones microbiológicas se depositan rápidamente en la superficie de las mesas y en las manos del trabajador. Éste llevará guantes desechables. Los trabajadores del laboratorio evitarán tocarse la boca, los ojos y el rostro.
2. En el laboratorio no se deben conservar ni consumir alimentos o bebidas.
3. En el laboratorio no se colocarán objetos en la boca (lápices, goma de mascar).
4. En el laboratorio no se aplicarán cosméticos.
5. La cara, los ojos y la boca deben estar protegidos con una pantalla o de algún otro modo durante cualquier operación que pueda provocar salpicaduras de material potencialmente infeccioso.

Técnicas para evitar la inyección de material infeccioso

1. La inoculación accidental debida a heridas por objetos de vidrio rotos o astillados puede evitarse mediante prácticas y procedimientos cuidadosos. El material de vidrio debe ser reemplazado por material de plástico siempre que sea posible.
2. La inoculación accidental puede producirse como consecuencia de heridas con agujas hipodérmicas, pipetas de Pasteur de vidrio o vidrios rotos.
3. El número de accidentes causados por agujas hipodérmicas puede reducirse restringiendo al mínimo el uso de jeringuillas y agujas (por ejemplo, existen dispositivos sencillos para abrir los frascos con tapón de diafragma de modo que puedan usarse pipetas en lugar de jeringuillas y agujas), o utilizando dispositivos especiales de seguridad para objetos cortantes y punzantes cuando se hace imprescindible utilizar jeringuillas y agujas.
4. Nunca deben volver a cubrirse las agujas. Los artículos desechables deberán colocarse en recipientes resistentes a la perforación que tengan tapa.
5. Las pipetas de Pasteur de vidrio deben sustituirse por otras de plástico.

Separación de suero

1. Sólo realizará este trabajo personal de laboratorio debidamente capacitado.
2. El personal llevará guantes y equipo protector de ojos y mucosas.
3. Sólo una buena técnica permite evitar o reducir al mínimo las salpicaduras y los aerosoles. La sangre y el suero se deben pipetear con cuidado en lugar de verterlos. El pipeteo con la boca estará prohibido.
4. Una vez usadas, las pipetas se sumergirán por completo en un desinfectante apropiado y permanecerán en él durante un tiempo suficiente, hasta que se eliminen o se laven y esterilicen para volverlas a utilizar.
5. Los tubos de ensayo que se desea eliminar y que contienen coágulos de sangre u otros materiales se colocarán, nuevamente con sus tapas, en recipientes impermeables apropiados que se tratarán y esterilizarán en la autoclave o se incinerarán.
6. Habrá que disponer de desinfectantes apropiados para limpiar las salpicaduras y los derrames de material (véase el capítulo 14).

Uso de las centrifugadoras

1. El funcionamiento mecánico satisfactorio es un requisito de la seguridad microbiológica del empleo de centrifugadoras en el laboratorio.
2. Las centrifugadoras se utilizarán según las instrucciones del fabricante.
3. Las centrifugadoras deben colocarse a una altura tal que los trabajadores puedan ver la cubeta para colocar correctamente los soportes y los cestillos.

4. Los tubos de la centrifugadora y los recipientes de muestras destinados al uso en la centrifugadora deben estar fabricados de vidrio grueso o, preferiblemente, de plástico, y deben inspeccionarse para detectar defectos antes de usarlos.
5. Los tubos y los recipientes para muestras deben estar siempre bien cerrados (con tapón de rosca si es posible) para la centrifugación.
6. Los cestillos deben cargarse, equilibrarse, cerrarse y abrirse en una CSB.
7. Los cestillos y los soportes se deben emparejar por el peso y equilibrar correctamente con los tubos en su sitio.
8. El espacio que debe dejarse entre el nivel del líquido y el borde de cada tubo de centrifugación debe ser especificado en las instrucciones del fabricante.
9. Para equilibrar los cestillos vacíos se empleará agua destilada o alcohol (propanol al 70%). No se empleará suero salino ni solución de hipoclorito porque ambos productos corroen los metales.
10. Para los microorganismos de los grupos de riesgo 3 y 4 se utilizarán cestillos de centrifugadora de cierre hermético (cestillos de seguridad).
11. Cuando se utilicen rotores de cabeza angular, debe velarse por que el tubo no esté excesivamente cargado, ya que puede haber fugas del líquido.
12. El interior de la cubeta de la centrifugadora se inspeccionará a diario para observar si existen manchas o suciedad en el rotor. Si éstas son manifiestas, se deben examinar de nuevo los protocolos de centrifugación.
13. Los rotores y los cestillos de la centrifugadora deben observarse diariamente para detectar signos de corrosión y grietas.
14. Los cestillos, los rotores y la cubeta de la centrifugadora deben descontaminarse después de cada uso.
15. Después del uso, los cestillos se depositarán en posición invertida a fin de vaciar el líquido utilizado para equilibrar.
16. Al utilizar centrifugadoras pueden expulsarse partículas infecciosas transportadas por el aire. Esas partículas salen despedidas a una velocidad demasiado alta para que las retenga el flujo de aire de la cámara si la centrifugadora está funcionando en una CSB tradicional con abertura frontal de las clases I y II. Si se colocan las centrifugadoras en CSB de clase III se evita que los aerosoles emitidos se dispersen ampliamente. No obstante, el empleo de una buena técnica de centrifugación y de tubos tapados correctamente ofrece protección suficiente contra los aerosoles infecciosos y la dispersión de partículas.

Uso de homogeneizadores, agitadores, mezcladores y desintegradores ultrasónicos

1. No deben utilizarse homogeneizadores domésticos (de cocina) en los laboratorios, pues pueden tener fugas o desprender aerosoles. Los mezcladores y homogeneizadores de laboratorio de tipo Stomacher son más seguros.

2. Los tapones y los recipientes o frascos deben estar en buenas condiciones, sin deformaciones ni fisuras. Los tapones deben ajustar bien y las juntas deben estar en buen estado.
3. Durante el funcionamiento de los homogeneizadores, agitadores y desintegradores ultrasónicos se produce un aumento de la presión dentro del recipiente, con lo que pueden desprenderse entre la tapa y el recipiente aerosoles con materiales infecciosos. Se recomiendan los recipientes de plástico, en particular de politetrafluoroetileno (PTFE), porque el vidrio puede romperse y liberar material infeccioso, e incluso herir al trabajador.
4. Durante su utilización, hay que recubrir los aparatos con una funda fuerte de plástico transparente, que se desinfectará una vez usada. Siempre que sea posible, estos aparatos, con su funda de plástico, se utilizarán dentro de una CSB.
5. Una vez terminada la operación, el recipiente se abrirá en una CSB.
6. Las personas que utilicen desintegradores ultrasónicos deben llevar protección auditiva.

Uso de trituradores de tejidos

1. Los trituradores de vidrio deben sostenerse envueltos en una pieza de material absorbente y con la mano enguantada. Son más seguros los trituradores de plástico (PTFE).
2. Los trituradores de tejidos deben utilizarse y abrirse en una CSB.

Mantenimiento y uso de refrigeradores y congeladores

1. Los refrigeradores, congeladores y recipientes de nieve carbónica deben descongelarse y limpiarse periódicamente; se eliminarán todos los tubos, ampollas y otros objetos que se hayan roto durante el almacenamiento. Durante la limpieza se debe utilizar protección facial y guantes de goma gruesa. Después de la limpieza se desinfectarán las superficies interiores de la cámara.
2. Todos los recipientes almacenados en refrigeradores y congeladores deben llevar etiquetas bien claras con el nombre científico del contenido, la fecha de almacenamiento y el nombre de la persona que los ha almacenado. Los materiales sin etiquetas y anticuados deben tratarse en la autoclave y desecharse.
3. Debe mantenerse un inventario del contenido de los refrigeradores y congeladores.
4. No deben guardarse nunca soluciones inflamables en refrigeradores, excepto si estos son a prueba de explosión. En las puertas de los refrigeradores se colocarán advertencias al respecto.

Técnicas para abrir ampollas que contengan material infeccioso liofilizado

Conviene abrir con precaución las ampollas de material liofilizado pues, al estar cerradas a presión reducida, la entrada brusca de aire puede dispersar el contenido en la atmósfera. Las ampollas deben abrirse siempre dentro de una CSB. Para abrir las ampollas se recomienda el siguiente procedimiento:

1. En primer lugar, descontaminar la superficie exterior de la ampolla.

2. Hacer con la lima una marca en el tubo, cerca de la mitad del tapón de algodón o celulosa, si lo hay.
3. Sujetar la ampolla en un algodón empapado en alcohol para proteger las manos antes de romperla por la marca.
4. Retirar con cuidado la parte superior y tratarla como si fuera material contaminado.
5. Si el tapón sigue estando por encima del contenido de la ampolla, retirarlo con una pinza estéril.
6. Reconstituir la suspensión añadiendo el líquido lentamente para evitar la formación de espuma.

Almacenamiento de ampollas que contengan material infeccioso

Las ampollas que contienen material infeccioso no se deben sumergir nunca en nitrógeno líquido, ya que las que estén fisuradas o mal cerradas podrían romperse o explotar al sacarlas. Si se necesitan temperaturas muy bajas, las ampollas sólo se deben almacenar en la fase gaseosa que queda por encima del nitrógeno líquido. También pueden almacenarse los materiales infecciosos en congeladores mecánicos o nieve carbónica. Al retirar las ampollas del almacenamiento en frío, el personal deberá llevar protegidos los ojos y las manos.

Las ampollas conservadas por estos procedimientos se descontaminarán por fuera siempre que se saquen del lugar de almacenamiento.

Precauciones normalizadas en relación con la sangre y otros líquidos corporales, tejidos y excreciones

Las precauciones normalizadas (que incluyen las “precauciones universales” [19]) están concebidas para reducir el riesgo de transmisión de microorganismos de fuentes de infección tanto reconocidas como no reconocidas [2].

Recogida, etiquetado y transporte de muestras

1. Se seguirán siempre las precauciones normalizadas [2]; se usarán guantes en todos los procedimientos.
2. La toma de sangre de personas y animales estará a cargo de personal capacitado.
3. En las flebotomías, los sistemas convencionales de aguja y jeringuilla se sustituirán por dispositivos de seguridad al vacío de un solo uso que permitan recoger la sangre directamente en tubos de transporte o de cultivo con tapón y que inutilicen la aguja después del uso.
4. Los tubos se colocarán en recipientes apropiados para el transporte al laboratorio (véase el capítulo 15 para más información sobre los requisitos de transporte) y dentro del laboratorio (véase en el presente capítulo la sección sobre transporte de muestras dentro del servicio). Los formularios de petición de examen se colocarán en bolsas o sobres impermeables separados.
5. El personal de recepción **no** debe abrir estas bolsas.

Apertura de tubos de muestras y muestreo del contenido

1. Los tubos de muestras deben abrirse en una CSB.
2. Deben usarse guantes. También se recomienda proteger los ojos y las mucosas (gafas de seguridad de tipo máscara o viseras).
3. Las prendas de protección se complementarán con un delantal de plástico.
4. Para sacar el tapón, éste se agarrará con un trozo de papel o de gasa con el fin de evitar salpicaduras.

Vidrio y objetos punzantes y cortantes

1. Siempre que sea posible, se sustituirá el material de vidrio por material de plástico. Sólo se utilizará vidrio duro especial para laboratorio (borosilicato); se desechará todo artículo que esté astillado o agrietado.
2. No se utilizarán agujas hipodérmicas para pipetejar (véase también el apartado “Técnicas para evitar la inoculación de material infeccioso” en el presente capítulo).

Extensiones y frotis para el examen microscópico

La fijación y tinción de muestras de sangre, esputo y heces para el microscopio no destruye necesariamente todos los organismos o los virus de las extensiones. Éstas deben manipularse con pinzas, almacenarse cuidadosamente y descontaminarse o tratarse en autoclave antes de eliminarlas.

Equipo automático (desintegradores ultrasónicos, mezcladores vorticiales)

1. El equipo debe ser cerrado para evitar la dispersión de gotitas y aerosoles.
2. Los efluentes se recogerán en recipientes cerrados y se tratarán en la autoclave o se eliminarán.
3. El equipo se desinfectará al final de cada sesión de trabajo, siguiendo las instrucciones del fabricante.

Tejidos

1. Se utilizarán fijadores a base de formol.
2. Se evitarán los cortes de material congelado. Cuando sea necesario, el criostato estará protegido y el trabajador llevará visera de seguridad. Para la descontaminación, la temperatura del instrumento se elevará a 20°C, como mínimo.

Descontaminación

Para la descontaminación se recomiendan hipocloritos y desinfectantes de alto nivel. Las soluciones de hipoclorito recién preparadas contendrán cloro disponible a razón de 1 g/L para uso general, y de 5 g/L para limpiar derrames de sangre. Para la desinfección de superficies puede utilizarse glutaraldehído (véase el capítulo 14).

Precauciones con materiales que puedan contener priones

Los priones, también conocidos como “virus lentos”, se asocian a las encefalopatías espongiformes transmisibles, en particular la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (incluida la nueva variante), el síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker, el insomnio familiar letal y el kuru en el ser humano; la tembladera en el ganado ovino y caprino; la encefalopatía espongiforme bovina en el ganado bovino, y otras encefalopatías transmisibles en el reno, el alce y el visón. Aunque la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob se ha transmitido a seres humanos, no parece que existan casos demostrados de infecciones asociadas al laboratorio provocadas por ninguno de esos agentes. Sin embargo, es prudente observar ciertas precauciones en la manipulación de material procedente de personas y animales infectados o posiblemente infectados.

La selección de un nivel de bioseguridad para trabajar con materiales asociados a las encefalopatías espongiformes transmisibles dependerá de la naturaleza del agente y de las muestras que vayan a estudiarse, y se realizará en consulta con las autoridades nacionales. Las mayores concentraciones de priones se localizan en los tejidos del sistema nervioso central. Los estudios en animales indican que también se encuentran concentraciones elevadas en el bazo, el timo, los ganglios linfáticos y el pulmón. Estudios recientes indican que los priones presentes en los tejidos de la lengua y del músculo esquelético también pueden suponer un riesgo de infección [20–23].

Dado que es difícil conseguir la inactivación completa de los priones, es importante insistir en que se utilicen instrumentos desechables siempre que sea posible, así como una cubierta protectora desechable para la superficie de trabajo de la CSB. La principal precaución que hay que adoptar es evitar la ingestión de material contaminado y la punción de la piel del trabajador. Además, se tomarán las siguientes precauciones, ya que estos agentes no son inactivados por los procesos normales de desinfección y esterilización del laboratorio:

- 1.** Se recomienda encarecidamente utilizar equipo exclusivo, es decir, no compartido con otros laboratorios.
- 2.** Se llevará ropa protectora (batas y delantales) y guantes (de malla de acero entre guantes de goma para los anatómopatólogos) desechables.
- 3.** Se recomienda encarecidamente el uso de material de plástico desechable, que puede tratarse y eliminarse como residuo seco.
- 4.** No deben utilizarse procesadores de tejidos debido a los problemas de desinfección. Se utilizarán en su lugar frascos y vasos de boca ancha de plástico.
- 5.** Todas las manipulaciones se realizarán en CSB.
- 6.** Se tendrá gran cuidado para evitar la producción e ingestión de aerosoles, así como los cortes y punciones de la piel.
- 7.** Los tejidos fijados con formol seguirán considerándose infecciosos, aun después de una exposición prolongada al formol.
- 8.** Las muestras histológicas que contengan priones quedan sustancialmente inactivadas por la exposición durante 1 h al ácido fórmico al 96% [24, 25].
- 9.** Los residuos del lugar de trabajo, incluidos los guantes, las batas y los delantales desechables, se tratarán en la autoclave utilizando un esterilizador de vapor para sustancias porosas

a 134–137°C durante un ciclo de 18 minutos, o seis ciclos sucesivos de 3 minutos cada uno, seguidos de incineración.

- 10.** Los instrumentos no desechables, incluidos los guantes de malla de acero, deben recogerse para ser descontaminados.
- 11.** Los residuos de líquidos infecciosos contaminados con priones deben tratarse durante 1h con hipoclorito sódico con 20 g de cloro libre por litro (2%) (concentración final).
- 12.** Los procedimientos de vaporización con paraformaldehído no disminuyen los títulos de priones. Los priones son resistentes a la radiación ultravioleta. A pesar de ello, deben seguir descontaminándose las cámaras por los métodos habituales (formaldehído gaseoso) para inactivar otros agentes que puedan estar presentes.
- 13.** Las CSB y otras superficies contaminadas por priones pueden descontaminarse con hipoclorito sódico (20 g de cloro libre por litro: 2%) durante 1h.
- 14.** Los filtros HEPA deben incinerarse a una temperatura mínima de 1.000°C después de retirarlos. Otros pasos recomendados antes de la incineración son los siguientes:
 - a.** Rociar la cara expuesta del filtro con laca para el cabello antes de retirarlo;
 - b.** Introducir los filtros en bolsas durante su extracción, y
 - c.** Extraer el filtro HEPA desde la cámara de trabajo, de modo que la cámara de distribución inaccesible no se contamine.
- 15.** Los instrumentos se sumergirán en hipoclorito sódico (20 g de cloro libre por litro: 2%) durante 1h, y a continuación se enjuagarán cuidadosamente en agua antes de tratarlos en la autoclave.
- 16.** Los instrumentos que no puedan tratarse en la autoclave pueden limpiarse mojándolos repetidamente con hipoclorito sódico (20 g de cloro libre por litro: 2%) durante 1h. Se enjuagará cuidadosamente a fin de eliminar los residuos de hipoclorito sódico.

En las referencias 12, 26 y 27 figura más información sobre la manipulación de agentes no convencionales.

13. Planes de contingencia y procedimientos de emergencia

Todo laboratorio que trabaje con microorganismos infecciosos deberá establecer precauciones de seguridad acordes con el riesgo que entrañen los microorganismos y los animales utilizados.

En cualquier instalación que almacene o trabaje con microorganismos de los grupos de riesgo 3 ó 4 (laboratorios de contención – nivel de bioseguridad 3 y laboratorios de contención máxima – nivel de bioseguridad 4) es indispensable un plan escrito de medidas de contingencia para hacer frente a los accidentes en el laboratorio y en los animalarios. Las autoridades sanitarias nacionales o locales deberán participar en la elaboración del plan de preparación para emergencias.

Plan de contingencia

El plan de contingencia debe prever procedimientos operativos para los siguientes casos:

- 1.** Precauciones contra catástrofes naturales, como incendios, inundaciones, terremotos y explosiones.

- 2.** Evaluación del riesgo biológico.
- 3.** Medidas aplicables en caso de exposición accidental y descontaminación.
- 4.** Evacuación de emergencia de personas y animales de los locales.
- 5.** Tratamiento médico de emergencia de las personas expuestas y heridas.
- 6.** Vigilancia médica de las personas expuestas.
- 7.** Manejo clínico de las personas expuestas.
- 8.** Investigación epidemiológica.
- 9.** Continuación del funcionamiento tras el incidente.

En la elaboración del plan habrá que prever la inclusión de los siguientes elementos:

- 1.** Identificación de microorganismos de alto riesgo.
- 2.** Localización de zonas de alto riesgo, como laboratorios, almacenes y animalarios.
- 3.** Identificación del personal y de las poblaciones en riesgo.
- 4.** Identificación del personal con responsabilidades y de sus obligaciones, como el funcionario de bioseguridad, el personal de seguridad, las autoridades sanitarias locales, clínicos, microbiólogos, veterinarios, epidemiólogos, servicios de bomberos y de policía.
- 5.** Lista de los servicios de tratamiento y aislamiento que pueden atender a las personas expuestas o infectadas.
- 6.** Transporte de las personas expuestas o infectadas.
- 7.** Lista de fuentes de inmunosueros, vacunas, medicamentos, y materiales y suministros especiales.
- 8.** Provisión de material de emergencia, como ropa protectora, desinfectantes, estuches de material para derrames químicos y biológicos, material y suministros para la descontaminación.

Procedimientos de emergencia para laboratorios de microbiología

Heridas punzantes, cortes y abrasiones

La persona afectada deberá quitarse la ropa protectora, lavarse las manos y la parte lesionada, aplicarse un desinfectante cutáneo apropiado y buscar la atención médica que sea precisa. Se notificará la causa de la herida y los microorganismos implicados; se mantendrán registros médicos apropiados y completos.

Ingestión de material potencialmente infeccioso

Se quitará la ropa protectora y se buscará atención médica. Se notificará la identidad del material ingerido y las circunstancias del incidente, y se mantendrán registros médicos apropiados y completos.

Emisión de aerosoles potencialmente infecciosos (fuera de una cámara de seguridad biológica)

Todas las personas deberán evacuar inmediatamente la zona afectada; las personas expuestas serán enviadas de inmediato para recibir atención médica. Se informará inmediatamente al director del laboratorio y al funcionario de bioseguridad. Nadie podrá entrar en el local durante un tiempo prudencial (por ejemplo, una hora), de modo que los aerosoles puedan salir y se depositen las partículas más pesadas. Si el laboratorio no cuenta con un sistema central de evacuación de aire, la entrada se retrasará (por ejemplo durante 24 horas).

Se colocarán señales indicando que queda prohibida la entrada. Al cabo del tiempo apropiado, se procederá a la descontaminación bajo la supervisión del funcionario de bioseguridad. Para ello habrá que utilizar ropa protectora y protección respiratoria apropiadas.

Rotura de recipientes y derrames de sustancias infecciosas

Los recipientes rotos contaminados con sustancias infecciosas y las sustancias infecciosas derramadas se cubrirán con paños o papel absorbente. A continuación se verterá sobre éstos un desinfectante que se dejará actuar durante tiempo suficiente, y después podrá retirarse el paño o el papel absorbente junto con el material roto; los fragmentos de vidrio deberán ser manipulados con pinzas. Después se fregará la zona contaminada con un desinfectante. Si se utilizan recogedores de polvo para retirar el material roto, después habrá que tratarlos en la autoclave o sumergirlos en un desinfectante eficaz. Los paños, el papel absorbente y las bayetas utilizados para la limpieza se colocarán en un recipiente para residuos contaminados. Habrá que utilizar guantes en todas estas operaciones.

Si se contaminan los formularios del laboratorio u otros papeles manuscritos o impresos, se copiará la información en otro formulario y se tirará el original en un recipiente para residuos contaminados.

Rotura de tubos con material potencialmente infeccioso en centrifugadoras carentes de cestillos de seguridad

Si se sabe o se sospecha que se ha roto un tubo mientras está funcionando el aparato, habrá que parar el motor y dejar el aparato cerrado (por ejemplo durante 30 minutos) para que se pose el material. Si la rotura se descubre cuando la máquina se ha parado, se volverá a tapar inmediatamente y se dejará cerrada (por ejemplo durante 30 minutos). En ambos casos, habrá que informar al funcionario de bioseguridad.

En todas las operaciones posteriores habrá que utilizar guantes fuertes (por ejemplo, de goma gruesa), cubiertos en caso necesario con guantes desechables apropiados. Para recoger los trozos de vidrio se utilizarán pinzas o algodón manipulado con pinzas.

Todos los tubos rotos, fragmentos de vidrio, cestillos, soportes y el rotor se sumergirán en un desinfectante no corrosivo de eficacia conocida contra los microorganismos de que se trate (véase el capítulo 14). Los tubos intactos, con sus correspondientes tapones, pueden introducirse en desinfectante en un recipiente aparte para recuperarlos.

La cubeta de la centrifugadora se limpiará con una bayeta empapada en el mismo desinfectante a la dilución apropiada; se repetirá la operación y después se lavará con agua y se secará. Todo el material de limpieza utilizado se tratará como si fuera material de desecho infectado.

Rotura de tubos dentro de los cestillos de cierre hermético (cestillos de seguridad)

Todos los cestillos de centrifugadora de cierre hermético se cargarán y descargarán en una CSB. Si se sospecha que se ha producido una rotura dentro del cestillo de seguridad, la tapa de seguridad se soltará cuidadosamente y se tratará el cestillo en la autoclave. También se podrá desinfectar con agentes químicos.

Incendios y catástrofes naturales

Los servicios de incendios y de otro tipo deben participar en la elaboración de los planes de preparación para emergencias y estarán informados de antemano acerca de las salas que contienen material potencialmente infeccioso. Es conveniente que estos servicios visiten las instalaciones del laboratorio para familiarizarse con su distribución y su contenido.

Después de una catástrofe natural, se informará a los servicios de emergencia locales o nacionales de los riesgos existentes dentro del edificio del laboratorio y en sus proximidades. El personal de esos servicios sólo deberá entrar acompañado por un trabajador capacitado del laboratorio. El material infeccioso será recogido en cajas impermeables o bolsas desechables fuertes.

El personal de seguridad, basándose en la reglamentación local, determinará el material que podrá recuperarse o eliminarse definitivamente.

Servicios de emergencia: ¿a quién acudir?

En las instalaciones se expondrán en lugar bien visible las direcciones y los números de teléfono siguientes:

- 1.** Del propio establecimiento o laboratorio (sus señas y su situación quizás no sean conocidos por la persona que llama ni por los servicios a los que se acude).
- 2.** Del director del establecimiento o laboratorio.
- 3.** Del supervisor del laboratorio.
- 4.** Del funcionario de bioseguridad.
- 5.** Del servicio de bomberos.
- 6.** Del hospital/servicio de ambulancias/personal médico (nombre de los distintos servicios, departamentos o personal médico, si es posible).
- 7.** De la policía.
- 8.** Del funcionario médico.
- 9.** Del técnico responsable.
- 10.** De los servicios de agua, gas y electricidad.

Equipo de emergencia

Se dispondrá del siguiente equipo de emergencia:

- 1.** Botiquín de primeros auxilios, que contendrá antídotos universales y especiales.

2. Extintores de incendios, mantas para apagar fuegos.

A continuación se indican otros materiales que pueden ser necesarios en ciertas circunstancias locales:

- 1.** Vestimenta protectora completa (monos de una pieza, guantes y capuchas, para incidentes con microorganismos de los grupos de riesgo 3 y 4).
- 2.** Mascarillas respiratorias que cubran toda la cara, provistas de filtros para partículas y sustancias químicas.
- 3.** Material para la desinfección de locales, como rociadores y vaporizadores de formaldehído.
- 4.** Camillas.
- 5.** Herramientas, como martillos, hachas, llaves de tuercas, destornilladores, escaleras de mano, cuerdas.
- 6.** Material para demarcar y señalar zonas peligrosas.

Si se desea más información, consultense las referencias 12 y 28.

14. Desinfección y esterilización

Para la bioseguridad en el laboratorio es fundamental disponer de conocimientos básicos sobre la desinfección y la esterilización. Habida cuenta de que los objetos muy sucios no pueden desinfectarse o esterilizarse rápidamente, es igualmente importante comprender los conceptos básicos de la limpieza previa. A este respecto, los siguientes principios generales se aplican a todas las clases conocidas de microbios patógenos.

Los requisitos particulares de la descontaminación dependerán del tipo de trabajo experimental y de la naturaleza de los agentes infecciosos que se estén manipulando. La información genérica que aquí se ofrece puede utilizarse para elaborar procedimientos tanto normalizados como más específicos para hacer frente a los peligros biológicos que existan en un laboratorio concreto.

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

Definiciones

En la esfera de la desinfección y la esterilización se utilizan muchos términos diferentes. Los siguientes se encuentran entre los más comunes en el campo de la bioseguridad:

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

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

Biocida – Término general para cualquier agente que mate organismos.

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

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

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

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

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

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

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

Limpieza del material de laboratorio

La limpieza consiste en la eliminación de suciedad, materia orgánica y manchas. Incluye el cepillado, la aspiración, el desempolvado en seco, el lavado o el fregado con un paño y agua con jabón o detergente. La suciedad, la tierra y la materia orgánica pueden albergar microorganismos e interferir con la acción de los descontaminantes (antisépticos, germicidas químicos y desinfectantes).

La limpieza previa es fundamental para conseguir una correcta desinfección o esterilización. Muchos productos germicidas sólo son activos sobre material previamente limpio. La limpieza previa debe llevarse a cabo con cuidado para evitar la exposición a agentes infecciosos.

Deben utilizarse materiales que sean químicamente compatibles con los germicidas que van a utilizarse después. Es muy frecuente utilizar el mismo germicida químico para la limpieza previa y la desinfección.

Germicidas químicos

Pueden utilizarse como desinfectantes o antisépticos muchos tipos de sustancias químicas. Dado que el número y la variedad de productos comerciales es cada vez mayor, deben elegirse cuidadosamente las formulaciones que sean más indicadas para las necesidades concretas.

La actividad germicida de muchas sustancias químicas es más rápida y eficaz a temperaturas más altas, pero las temperaturas elevadas también pueden acelerar su evaporación y degradarlas. Es preciso tener particular cuidado en el uso y el almacenamiento de esas sustancias en las regiones tropicales, donde su tiempo de conservación puede verse reducido a causa de las altas temperaturas del ambiente.

Muchos germicidas pueden ser perjudiciales para el ser humano o el medio ambiente. Se deben seleccionar, almacenar, manipular, utilizar y eliminar con precaución, siguiendo las instrucciones del fabricante. En relación con la seguridad personal, se recomienda utilizar guantes, delantales y protección ocular cuando se preparen diluciones de germicidas químicos.

Cuadro 12. Diluciones recomendadas de compuestos que liberan cloro

	Situaciones "limpias" ^a	Situaciones "sucias" ^b
Cloro libre requerido	0,1% (1 g/L)	0,5% (5 g/L)
Solución de hipoclorito sódico (5% de cloro libre)	20 mL/L	100 mL/L
Hipoclorito cálcico (70% de cloro libre)	1,4 g/L	7,0 g/L
Dicloroisocianurato sódico en polvo (60% de cloro libre)	1,7 g/L	8,5 g/L
Dicloroisocianurato sódico en comprimidos (1,5 g de cloro libre por comprimido)	Un comprimido por litro	Cuatro comprimidos por litro
Cloramina (25% de cloro libre) ^c	20 g/L	20 g/L

^a Después de retirar el material grueso.^b Para enjuagar, por ejemplo sobre la sangre o antes de retirar el material grueso.^c Véase el texto.

Normalmente no se necesita recurrir a germicidas químicos para la limpieza ordinaria de suelos, paredes, equipo y mobiliario, pero su uso puede ser apropiado en ciertos casos para controlar brotes.

El uso correcto de los germicidas químicos contribuirá a la seguridad en el lugar de trabajo y al mismo tiempo reducirá el riesgo que suponen los agentes infecciosos. En la medida de lo posible, el número de sustancias químicas germicidas que se utilicen deberá ser limitado por razones económicas y de control del inventario, así como para reducir la contaminación ambiental.

A continuación se describen las clases más utilizadas de germicidas químicos, con información genérica sobre sus aplicaciones y sus características de seguridad. A menos que se indique otra cosa, sus concentraciones se expresan en peso/volumen. En el **cuadro 12** se resumen las diluciones recomendadas de los compuestos que liberan cloro.

Cloro (hipoclorito sódico)

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

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

Como solución desinfectante general para toda clase de trabajos de laboratorio se utilizará una concentración de 1 g/L de cloro libre. En caso de derrame que conlleve un peligro biológico y en presencia de grandes cantidades de materia orgánica, se recomienda utilizar una solución más concentrada, que contenga 5 g/L de cloro libre. Las soluciones de hipoclorito sódico, como la lejía de uso doméstico, contienen 50 g/L de cloro libre y por tanto deben diluirse a razón de 1:50 ó 1:10 para obtener concentraciones finales de 1 g/L y 5 g/L, respectivamente. Las solucio-

nes industriales de lejía tienen una concentración de hipoclorito sódico cercana a los 120 g/L y deben diluirse en consecuencia para obtener los niveles indicados más arriba.

Los gránulos o comprimidos de hipoclorito cálcico ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$) suelen contener alrededor de un 70% de cloro libre. Las soluciones preparadas con gránulos o comprimidos, que contienen 1,4 g/L y 7,0 g/L, contendrán entonces 1,0 g/L y 5 g/L de cloro libre, respectivamente.

La lejía no se recomienda como antiséptico, pero puede utilizarse como desinfectante de uso general y para sumergir materiales no metálicos contaminados. En caso de emergencia, también puede utilizarse la lejía para desinfectar agua para beber con una concentración final de 1–2 mg/L de cloro libre.

El cloro gaseoso es sumamente tóxico. Por esa razón, la lejía debe almacenarse y utilizarse solamente en zonas bien ventiladas. Además, la lejía no debe mezclarse con ácidos para evitar la liberación rápida de cloro gaseoso. Muchos subproductos del cloro pueden ser nocivos para el ser humano y el medio ambiente, de modo que debe evitarse el uso indiscriminado de desinfectantes a base de cloro, y en particular de la lejía.

Dicloroisocianurato sódico

El dicloroisocianurato sódico (NaDCC) en polvo contiene un 60% de cloro libre. Las soluciones preparadas con NaDCC en polvo a razón de 1,7 g/L y 8,5 g/L contendrán 1 g/L y 5 g/L de cloro libre, respectivamente. Los comprimidos de NaDCC suelen contener el equivalente a 1,5 g de cloro libre por comprimido. Uno o cuatro comprimidos disueltos en un litro de agua darán aproximadamente las concentraciones requeridas de 1 g/L o 5 g/L, respectivamente. El NaDCC se puede almacenar de forma fácil y segura tanto en polvo como en comprimidos. El NaDCC sólido puede aplicarse sobre las salpicaduras de sangre u otros líquidos que entrañen un riesgo biológico, dejándolo actuar durante 10 minutos antes de retirarlo. Después puede procederse a la limpieza minuciosa de la zona afectada.

Cloraminas

Las cloraminas existen en forma de polvo que contiene aproximadamente un 25% de cloro libre. Al liberar el cloro a menos velocidad que los hipocloritos, se requieren concentraciones iniciales más altas para obtener una eficacia equivalente a la de aquéllos. Por otro lado, las soluciones de cloramina no son inactivadas por la materia orgánica con la misma intensidad que los hipocloritos y se recomienda una concentración de 20 g/L para situaciones tanto "limpias" como "sucias".

Las soluciones de cloramina son prácticamente inodoras. No obstante, los objetos sumergidos en ellas deben enjuagarse concienzudamente para eliminar todo residuo de los agentes inertes que se añaden a los polvos de cloramina T (tosilcloramida sódica).

Dióxido de cloro

El dióxido de cloro (ClO_2) es un germicida, desinfectante y oxidante potente y de acción rápida que a menudo tiene actividad a concentraciones inferiores a las necesarias en el caso del cloro procedente de la lejía. La forma gaseosa es inestable y se descompone en cloro gaseoso (Cl_2) y oxígeno gaseoso (O_2), produciendo calor. Sin embargo, el dióxido de cloro es soluble en agua y estable en solución acuosa. Puede obtenerse de dos formas: 1) por generación in situ, mezclando dos componentes distintos, el ácido clorhídrico (HCl) y el clorito sódico (NaClO_2), o 2) encargando la forma estabilizada, que después se activa en el laboratorio cuando se necesita.

El dióxido de cloro es el más selectivo de los biocidas oxidantes. El ozono y el cloro son mucho más reactivos que el dióxido de cloro y son consumidos por la mayoría de los compuestos orgánicos. En cambio, el dióxido de cloro sólo reacciona con los compuestos de azufre reducido, las aminas secundarias y terciarias, y otros compuestos orgánicos muy reducidos y reactivos. Por consiguiente, con el dióxido de cloro puede conseguirse un residuo más estable a dosis mucho menores que cuando se utilizan cloro u ozono. Si se genera debidamente, el dióxido de cloro, gracias a su selectividad, puede usarse con más eficacia que el ozono o el cloro en los casos de mayor carga de materia orgánica.

Formaldehído

El formaldehído (HCHO) es un gas que mata todos los microorganismos y esporas a temperaturas superiores a los 20°C. Sin embargo, no tiene actividad contra los priones.

Su acción es relativamente lenta y requiere una humedad relativa de alrededor del 70%. Se comercializa en forma de polímero sólido (paraformaldehído), en copos o comprimidos, o como formol, solución del gas en agua con aproximadamente 370 g/L (37%) y con metanol (100 mL/L) como estabilizante. Ambas formulaciones se calientan para liberar el gas, que se utiliza en la descontaminación y la desinfección de espacios cerrados como CSB y locales (véase más adelante el apartado sobre descontaminación ambiental de locales). El formaldehído (un 5% de formol en agua) puede utilizarse como desinfectante líquido.

El formaldehído es un agente presuntamente cancerígeno. Se trata de un gas peligroso de olor acre que puede irritar los ojos y las mucosas. Así pues, debe almacenarse y utilizarse con una campana extractora de vapores o en zonas bien ventiladas. Deben observarse las normas nacionales de seguridad de las sustancias químicas.

Glutaraldehído

Al igual que el formaldehído, el glutaraldehído ($\text{OHC(CH}_2\text{)}_3\text{CHO}$) tiene actividad contra formas vegetativas de bacterias, esporas, hongos y virus con y sin envoltura lipídica. No es corrosivo y su acción es más rápida que la del formaldehído. No obstante, tarda varias horas en matar las esporas bacterianas.

El glutaraldehído suele suministrarse en forma de solución con una concentración de unos 20 g/L (2%); algunos productos antes de ser utilizados necesitan ser “activados” (alcalinizados) mediante la adición de un compuesto de bicarbonato que se suministra con el producto. La solución activada puede volver a utilizarse durante 1 a 4 semanas, según la formulación y el tipo y la frecuencia de uso. Las tiras reactivas indicadoras que se suministran con algunos productos sólo dan una indicación aproximada de los niveles de glutaraldehído activo disponible en las soluciones en uso. Las soluciones de glutaraldehído deben desecharse si están turbias.

El glutaraldehído es tóxico e irritante para la piel y las mucosas; debe evitarse el contacto con él. Debe utilizarse con una campana extractora de vapores o en locales bien ventilados. No se recomienda en forma de pulverización ni de solución para descontaminar superficies. Deben observarse las normas nacionales de seguridad de las sustancias químicas.

Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos, un grupo amplio de productos, figuran entre los germicidas más antiguos. Sin embargo, los resultados de estudios de inocuidad más recientes recomiendan restringir su uso. Tienen actividad contra las formas vegetativas de las bacterias y contra los virus con envoltura lipídica y, cuando están debidamente formulados, también son activos contra las

micobacterias. No tienen actividad contra las esporas y su actividad contra los virus sin envoltura lipídica es variable. Muchos productos fenólicos se utilizan para descontaminar superficies ambientales, y algunos (por ejemplo, el triclosán y el cloroxileno) se encuentran entre los antisépticos más usados.

El triclosán es común en los productos para el lavado de manos. Tiene actividad principalmente contra las formas vegetativas de las bacterias y es inocuo para la piel y las mucosas. Sin embargo, en estudios de laboratorio se ha observado que las bacterias con resistencia inducida a bajas concentraciones de triclosán también muestran resistencia a ciertos tipos de antibióticos. Se desconoce el alcance de esta observación sobre el terreno.

Algunos compuestos fenólicos son sensibles a la dureza del agua y pueden quedar inactivados con aguas duras; por esa razón, deben diluirse con agua destilada o desionizada.

No se recomiendan los compuestos fenólicos para las superficies que entran en contacto con alimentos ni en zonas en las que haya niños pequeños. Pueden ser absorbidos por el caucho y también pueden penetrar en la piel. Deben observarse las normas nacionales en materia de seguridad de las sustancias químicas.

Compuestos de amonio cuaternario

Muchos tipos de compuestos de amonio cuaternario se utilizan como mezclas y a menudo en combinación con otros germicidas, como los alcoholes. Tienen buena actividad contra algunas bacterias en fase vegetativa y virus con envoltura lipídica. Algunos tipos (por ejemplo, el cloruro de benzalconio) se utilizan como antisépticos.

La actividad germicida de ciertos tipos de compuestos de amonio cuaternario se reduce considerablemente con la materia orgánica, las aguas duras y los detergentes aniónicos. Así pues, es necesario tener cuidado en la selección de los agentes empleados en la limpieza previa cuando se vayan a utilizar compuestos de amonio cuaternario para la desinfección. En las soluciones de estos compuestos pueden proliferar bacterias potencialmente nocivas. Debido a su baja biodegradabilidad, estos compuestos también pueden acumularse en el medio ambiente.

Alcoholes

El etanol (alcohol etílico, C_2H_5OH) y el 2-propanol (alcohol isopropílico, $(CH_3)_2CHOH$) tienen propiedades desinfectantes similares. Son activos contra las formas vegetativas de las bacterias, los hongos y los virus con envoltura lipídica, pero no contra las esporas. Su acción sobre los virus sin envoltura lipídica es variable. Para conseguir la máxima eficacia deben utilizarse en concentraciones acuosas de aproximadamente un 70% (v/v): las concentraciones más altas o más bajas pueden no tener tanto poder germicida. Una de las grandes ventajas de las soluciones acuosas de alcoholes es que no dejan residuo alguno en los objetos tratados.

Las mezclas con otros agentes son más eficaces que el alcohol por sí solo; por ejemplo, el alcohol al 70% (v/v) con 100 g/L de formaldehído, o el alcohol con 2 g/L de cloro libre. Las soluciones acuosas de etanol al 70% (v/v) pueden utilizarse en la piel, las superficies de trabajo de las mesas de laboratorio y las CSB, así como para sumergir pequeñas piezas de instrumental quirúrgico. Dado que el etanol puede secar la piel, a menudo se mezcla con emolientes. Las friegas de alcohol se recomiendan para descontaminar manos ligeramente sucias en situaciones en las que no es posible o práctico lavarlas. Sin embargo, hay que recordar que el etanol no tiene actividad contra las esporas y quizás no mate todos los tipos de virus sin envoltura lipídica.

Los alcoholes son volátiles e inflamables y no deben utilizarse en las proximidades de llamas desnudas. Las soluciones de trabajo deben almacenarse en recipientes apropiados para evitar

la evaporación. Los alcoholes pueden endurecer el caucho y disolver ciertos tipos de cola. El inventario y el almacenamiento apropiados del etanol en el laboratorio son sumamente importantes con el fin de evitar que se use para aplicaciones distintas de la desinfección. Los frascos que contengan soluciones con alcohol deben rotularse con claridad para evitar que sean tratados en la autoclave.

Yodo y yodóforos

La acción de estos desinfectantes es análoga a la del cloro, aunque pueden ser ligeramente menos susceptibles a la inhibición por la materia orgánica. El yodo puede manchar los tejidos y las superficies del entorno, y en general no es adecuado como desinfectante. Por otro lado, los yodóforos y las tinturas de yodo son buenos antisépticos. La povidona yodada es un agente de lavado quirúrgico fiable e inocuo, y sirve como antiséptico cutáneo preoperatorio. Los antisépticos a base de yodo no suelen ser adecuados para utilizarlos en material médico/dental. El yodo no debe usarse en objetos de aluminio o cobre.

El yodo puede ser tóxico. Los productos orgánicos a base de yodo deben almacenarse a 4–10°C para evitar la proliferación de bacterias potencialmente peligrosas en ellos.

Peróxido de hidrógeno y perácidos

Como el cloro, el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y los perácidos son oxidantes enérgicos y pueden servir como potentes germicidas de amplio espectro. Son también más inocuos que el cloro para el ser humano y para el medio ambiente.

El peróxido de hidrógeno se suministra en forma de solución al 3% lista para usar o como solución acuosa al 30% que debe ser diluida hasta 5–10 veces su volumen en agua esterilizada. Sin embargo, esas soluciones al 3–6% por sí solas son relativamente lentas y limitadas como germicidas. Los productos disponibles hoy en día tienen otros ingredientes para estabilizar el contenido de peróxido de hidrógeno, acelerar su acción germicida y hacerlo menos corrosivo.

El peróxido de hidrógeno puede utilizarse para descontaminar las superficies de trabajo del laboratorio y de las CSB, y las soluciones más potentes pueden servir para desinfectar el material médico/dental sensible al calor. El uso de peróxido de hidrógeno vaporizado o ácido peracético (CH_3COOOH) para la descontaminación de material médico/quirúrgico sensible al calor requiere equipo especializado.

El peróxido de hidrógeno y los perácidos pueden ser corrosivos para metales como el aluminio, el cobre, el latón y el zinc, y también pueden descolorar tejidos, cabellos, piel y mucosas. Los objetos tratados con ellos deben enjuagarse concienzudamente antes del contacto con ojos y mucosas. Siempre se almacenarán alejados del calor y protegidos de la luz.

Descontaminación de espacios y superficies

La descontaminación del espacio, el mobiliario y el equipo de laboratorio requiere una combinación de desinfectantes líquidos y gaseosos. Las superficies pueden descontaminarse con una solución de hipoclorito sódico ($NaOCl$); una solución que contenga 1 g/L de cloro libre puede ser apropiada para la limpieza general, pero se recomiendan soluciones más potentes (5 g/L) cuando se trate de situaciones de alto riesgo. Para la descontaminación de espacios y superficies, las soluciones de lejía pueden sustituirse por fórmulas que contengan un 3% de peróxido de hidrógeno (H_2O_2).

Las salas y el equipo pueden descontaminarse por fumigación con formaldehído gaseoso, que se obtiene calentando paraformaldehído o hirviendo formol. Este procedimiento es sumamente peligroso y debe ser realizado por personal especialmente adiestrado. Todas las aberturas del

local (ventanas, puertas, entre otros) deben cerrarse con cinta adhesiva o un material análogo antes de que se desprenda el gas. La fumigación debe efectuarse a una temperatura ambiente de al menos 21°C y una humedad relativa del 70% (véase también el apartado sobre descontaminación de CSB en este capítulo).

Tras la fumigación, la zona debe ventilarse completamente antes de permitir la entrada de personal. Toda persona que entre en la sala antes de la ventilación habrá de llevar mascarillas respiratorias apropiadas. Para neutralizar el formaldehído puede utilizarse bicarbonato amónico gaseoso.

La fumigación de espacios reducidos con vapores de peróxido de hidrógeno también es eficaz, pero requiere equipo especializado para generar el vapor.

Descontaminación de cámaras de seguridad biológica

Para descontaminar las CSB de las clases I y II se dispone de aparatos autónomos que generan, ponen en circulación y neutralizan formaldehído gaseoso de forma independiente. Si no se dispone de ese equipo, debe colocarse la cantidad apropiada de paraformaldehído (concentración final de 0,8% de paraformaldehído en el aire) en una sartén sobre una placa eléctrica caliente. En una segunda placa caliente, también dentro de la cámara, se coloca otra sartén con bicarbonato amónico en una cantidad un 10% mayor que el paraformaldehído de la primera sartén. Ambas placas deben estar enchufadas fuera de la cámara para que se pueda controlar su funcionamiento desde el exterior. Si la humedad relativa es inferior al 70%, también debe colocarse una sartén con agua caliente en el interior de la cámara antes de sellar los bordes de la ventana frontal con cinta adhesiva fuerte (cinta aislante, por ejemplo). Sobre la abertura frontal y el orificio de evacuación se fija con cinta adhesiva una lámina de plástico grueso, con el fin de asegurar que el gas no pueda filtrarse a la sala. Los orificios de penetración de los cables eléctricos que pasan por la abertura frontal también deben cerrarse con cinta aislante.

Se enciende la placa con la sartén de paraformaldehído y se apaga cuando se haya evaporado totalmente. La cámara se deja en reposo durante al menos 6 horas. Entonces se enciende la segunda placa y se permite que el bicarbonato amónico se evapore. En ese momento se apaga la placa y se enciende el ventilador de la CSB durante dos intervalos de unos dos segundos para permitir que el gas de bicarbonato amónico circule por el interior. La cámara se dejará en reposo durante 30 min antes de retirar el plástico de la abertura frontal y del orificio de salida de aire. Antes de volver a utilizar la cámara se limpiarán sus superficies con un paño para eliminar los residuos.

Lavado y descontaminación de las manos

Siempre que sea posible, se llevarán guantes apropiados cuando se manipulen materiales biológicos peligrosos. A pesar de ello, los guantes no obvian la necesidad de que el personal se lave las manos de forma regular y correcta. Las manos se lavarán después de manipular materiales biológicos peligrosos y animales, y antes de abandonar el laboratorio.

En la mayoría de las situaciones, un lavado concienzudo de las manos con jabón normal y agua basta para descontaminarlas, pero en las situaciones de alto riesgo se recomienda utilizar jabones germicidas. Se formará espuma abundante con el jabón y se frotarán bien las manos, durante un mínimo de 10 segundos; a continuación se aclararán en agua limpia y se secarán con una toalla de papel o un paño limpio (también se pueden utilizar secadores de manos de aire caliente).

Se recomiendan los grifos accionados con el pie o el codo. Cuando no existan, debe utilizarse una toalla de papel o paño para cerrar los mandos de los grifos con el fin de evitar volver a contaminarse las manos ya lavadas.

Como ya se ha dicho, pueden realizarse friegas con alcohol en las manos para descontaminarlas cuando estén ligeramente sucias y no se pueda lavarlas con agua y jabón.

Desinfección y esterilización por calor

El calor es el agente físico más utilizado para la descontaminación de patógenos. El calor "seco", que no es en absoluto corrosivo, se utiliza para tratar muchos objetos de laboratorio que pueden soportar temperaturas de 160°C o más durante dos a cuatro horas. La combustión o incineración (véase más adelante) es también una forma de calor seco. El calor "húmedo" es especialmente eficaz cuando se utiliza en autoclave.

La cocción no necesariamente mata todos los microorganismos o patógenos, pero puede utilizarse como tratamiento mínimo de desinfección cuando no puedan aplicarse o no estén disponibles otros métodos, como la desinfección o descontaminación química, o el tratamiento en autoclave.

Los artículos esterilizados deben manipularse y guardarse de forma que se mantengan descontaminados hasta que se vuelvan a utilizar.

Tratamiento en autoclave

La aplicación de vapor de agua saturado a presión (tratamiento en autoclave) es el medio más eficaz y fiable de esterilizar material del laboratorio. Para la mayoría de los propósitos, los ciclos siguientes garantizarán la esterilización del contenido de la autoclave siempre que se haya cargado correctamente:

1. 3 minutos a 134 °C
 2. 10 minutos a 126 °C
 3. 15 minutos a 121 °C
 4. 25 minutos a 115 °C.

Hay distintos tipos de autoclaves, entre los que cabe citar los siguientes:

■ Autoclaves de desplazamiento

Autoclaves de desplazamiento por gravedad. En la figura 10 se muestra la construcción general de una autoclave de desplazamiento por gravedad. El vapor entra en la cámara a presión y desplaza el aire más pesado hacia abajo, a través de la válvula del orificio de salida, equipada con un filtro HEPA.

■ Autoclaves de prevació. Estos

Autoclaves de vacío. Estos aparatos permiten eliminar el aire de la cámara antes de dar paso al vapor. El aire extraído se evacua a través de una válvula equipada con un filtro HEPA. Al final del

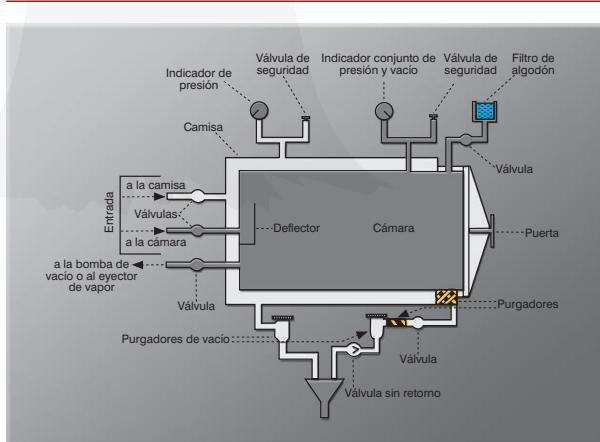


Figura 10. Autoclave de desplazamiento por gravedad.

ciclo, el vapor se evaca automáticamente. Estas autoclaves pueden funcionar a 134°C, por lo que el ciclo de esterilización puede reducirse a tres minutos. Son ideales para cargas de material poroso, pero no pueden utilizarse para tratar líquidos debido al vacío.

■ **Autoclaves de olla a presión calentadas por combustible.** Este tipo de autoclaves sólo deben utilizarse si no se dispone de una autoclave de desplazamiento por gravedad. Se cargan desde arriba y se calientan con gas, electricidad u otro combustible. El vapor se produce por el calentamiento del agua en la base del recipiente; el aire se desplaza en sentido ascendente por una abertura de descarga. Cuando se ha sacado todo el aire, la válvula de la abertura de descarga se cierra y se reduce el calor. La presión y la temperatura aumentan hasta que la válvula de seguridad funciona en el nivel preestablecido. Este es el comienzo del tiempo de retención. Al final del ciclo se cierra la fuente de calor y se deja que la temperatura descienda a 80°C o menos antes de abrir la tapa.

Carga de las autoclaves

El material y los objetos que se vayan a esterilizar deben agruparse sin apretarlos en la cámara, de modo que el vapor pueda circular sin dificultad y el aire pueda salir fácilmente. Las bolsas deben permitir que el vapor penetre en su contenido.

Precauciones en el uso de las autoclaves

Las reglas siguientes pueden reducir al mínimo los riesgos derivados del manejo de cualquier recipiente a presión.

1. El manejo y el mantenimiento ordinario deben ser responsabilidad de personas adiestradas.
2. Se realizará a intervalos regulares un programa de mantenimiento preventivo que comprenderá la inspección de la cámara, el sellado de las puertas y todos los calibradores y controles por parte de personal calificado.
3. El vapor de agua estará saturado y exento de sustancias químicas (por ejemplo, inhibidores de la corrosión) que podrían contaminar los objetos que se están esterilizando.
4. Todo el material debe colocarse en recipientes que permitan una fácil evacuación del aire y una buena penetración del calor; la cámara no estará sobrecargada, de modo que el vapor alcance por igual a toda la carga.
5. En las autoclaves que no dispongan de un dispositivo de seguridad que impida que la puerta se abra cuando la cámara está sometida a presión, es indispensable que la válvula central del vapor esté cerrada y que se deje descender la temperatura por debajo de 80°C antes de abrir la puerta.
6. Cuando se introduzcan líquidos en la autoclave, la evacuación debe ser lenta, pues al sacarlos pueden hervir debido al sobrecalentamiento.
7. Los trabajadores deben llevar guantes y viseras de protección apropiadas al abrir la autoclave, incluso cuando la temperatura haya bajado por debajo de los 80°C.
8. En la vigilancia regular del funcionamiento de la autoclave, se colocarán indicadores biológicos o termopares en el centro de cada carga. La vigilancia regular mediante termopares y dispositivos de registro colocados en una carga “más desfavorable” es sumamente conveniente para determinar los ciclos de funcionamiento más adecuados.

9. El filtro de la rejilla de drenaje de la cámara (si existe) debe retirarse y limpiarse todos los días.
10. Debe procurarse que las válvulas de descarga de las autoclaves de olla a presión no queden bloqueadas por papel u otro material presente en la carga.

Incineración

La incineración es un método útil para eliminar del laboratorio los cadáveres de animales y los desechos anatómicos y de otro tipo, con o sin descontaminación previa (véase el capítulo 3). La incineración de material infeccioso sólo sustituye al tratamiento en autoclave si el incinerador está sometido a control del laboratorio.

Una incineración correcta exige disponer de un medio eficiente de control de la temperatura y de una cámara de combustión secundaria. Muchos incineradores, especialmente los que tienen una sola cámara de combustión, no resultan satisfactorios para tratar material infeccioso, cadáveres de animales y plásticos. Esos materiales quizás no se destruyen por completo y el efluente de la chimenea puede contaminar la atmósfera con microorganismos, sustancias químicas tóxicas y humo. No obstante, hay muchas configuraciones satisfactorias de las cámaras de combustión; lo ideal es que la temperatura en la cámara primaria sea de al menos 800°C y en la cámara secundaria de al menos 1.000°C.

Los materiales destinados a la incineración, incluso si se han descontaminado previamente, deben transportarse al incinerador en bolsas, preferiblemente de plástico. Los encargados del incinerador deben recibir instrucciones apropiadas acerca de la carga y el control de la temperatura. También cabe señalar que el funcionamiento eficiente de un incinerador depende en gran medida de que la combinación de materiales en los residuos que se están tratando sea la adecuada.

Las posibles repercusiones ambientales negativas de los incineradores existentes o en proyecto siguen siendo motivo de preocupación, y prosiguen los esfuerzos encaminados a que los incineradores sean más compatibles con el entorno y más eficientes en el uso de energía.

Eliminación de desechos

La eliminación de los desechos médicos y de laboratorio está sometida a varias reglamentaciones regionales, nacionales e internacionales. Deben consultarse las últimas versiones de los documentos pertinentes antes de diseñar y poner en práctica un programa de manipulación, transporte y eliminación final de desechos biológicos peligrosos. En general, las cenizas procedentes de los incineradores pueden tratarse igual que las basuras domésticas corrientes y ser evacuadas por los servicios locales. Los desechos de la autoclave pueden ser eliminados en vertederos autorizados o por incineración fuera del laboratorio (véase el capítulo 3).

Para más información, véanse las referencias 13 y 29 a 39.

15. Introducción al transporte de sustancias infecciosas

El transporte de material infeccioso y potencialmente infeccioso está sometido a reglamentaciones nacionales e internacionales estrictas. Esas reglamentaciones describen el uso apropiado de materiales de embalaje/envasado, además de otros requisitos.

El personal de laboratorio debe enviar las sustancias infecciosas de acuerdo con las normas de transporte aplicables, cuyo cumplimiento permitirá:

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

Reglamentación internacional en materia de transportes

La reglamentación relacionada con el transporte de material infeccioso por cualquier medio de transporte se basa en las *Recomendaciones relativas al transporte de mercancías peligrosas* [40]. Esas recomendaciones de las Naciones Unidas han sido elaboradas por el Comité de Expertos de las Naciones Unidas en Transporte de Mercancías Peligrosas. Para que sea jurídicamente vinculante, la Reglamentación Modelo ha de ser introducida en las normas nacionales y las reglamentaciones modelo internacionales por las autoridades competentes (por ejemplo, las *Instrucciones técnicas para el transporte sin riesgos de mercancías peligrosas por vía aérea* [41] de la Organización de Aviación Civil Internacional (OACI) en relación con el transporte aéreo, y el *Acuerdo Europeo sobre el Transporte Internacional de Mercaderías Peligrosas por Carretera* (ADR) [42]).

La Asociación de Transporte Aéreo Internacional (IATA) publica todos los años una guía sobre el transporte de sustancias infecciosas (*Infectious Substances Shipping Guidelines*) [43]. La guía de la IATA debe seguir como mínimo las Instrucciones Técnicas de la OACI, pero puede imponer restricciones adicionales. Cuando un envío es transportado por un miembro de la Asociación deben seguirse las directrices de la IATA.

Puesto que la *Reglamentación Modelo para el Transporte de Mercancías Peligrosas* es un conjunto dinámico de recomendaciones sometido a modificaciones cada dos años, se remite al lector a las últimas ediciones de las normas nacionales e internacionales para consultar los textos reglamentarios aplicables.

La OMS actúa en calidad de asesora ante el Comité de Expertos de las Naciones Unidas en el Transporte de Mercancías Peligrosas. En la 13a edición (2003) de la *Reglamentación Modelo* de las Naciones Unidas se introdujeron importantes cambios, especialmente en lo que atañe a las sustancias infecciosas [40]. Puede solicitarse a la OMS orientación sobre los antecedentes de las enmiendas adoptadas [44].

La reglamentación internacional no pretende reemplazar las normas locales o nacionales. Sin embargo, en las situaciones en que no existan normas nacionales, debe seguirse la reglamentación internacional.

Es importante señalar que el transporte internacional de las sustancias infecciosas también depende de la normativa nacional en materia de importación y exportación.

El sistema básico de embalaje/envasado triple

El sistema de embalaje/envasado triple, que es el preferible para el transporte de sustancias infecciosas y potencialmente infecciosas, se muestra a modo de ejemplo en la **figura 11**. Este sistema de embalaje/envasado consta de tres componentes: el recipiente primario, el embalaje/envase secundario y el embalaje/envase externo.

El recipiente primario que contiene la muestra debe ser estanco, a prueba de fugas y estar debidamente etiquetado en relación con el contenido. Debe ir envuelto en material absorbente suficiente para absorber todo el líquido en caso de rotura o fuga.

El recipiente primario se introduce en un segundo embalaje/envase protector estanco y a prueba de fugas. Pueden colocarse varios recipientes primarios en un solo embalaje/envase secundario. En algunos textos reglamentarios se incluyen límites en relación con el volumen o el peso de las sustancias infecciosas envasadas.

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

La Reglamentación Modelo de las Naciones Unidas prescribe el uso de dos sistemas diferentes de envasado triple. El sistema básico es el indicado para el transporte de diversas sustancias infecciosas, pero los organismos de alto riesgo deben enviarse siguiendo normas más estrictas. Para más detalles sobre el uso de los distintos envases según los materiales que se vayan a enviar, se aconseja al lector que consulte la reglamentación nacional o internacional para conocer los textos normativos aplicables.

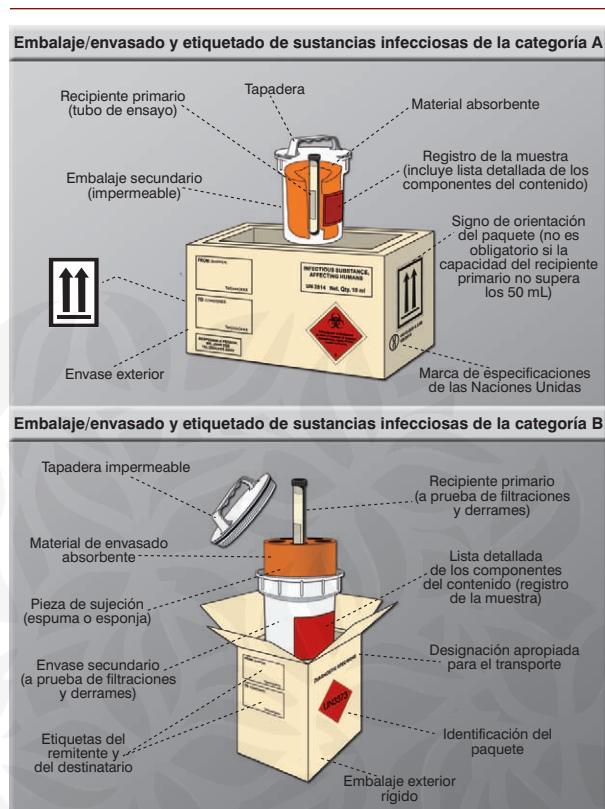


Figura 11. Ejemplos de sistemas de embalaje/envasado triple (Ilustraciones amablemente cedidas por la IATA, Montreal, Canadá).

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

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

5. Despues del tiempo necesario (por ejemplo, 30 minutos), retirar todos los materiales. Si hay vidrios rotos u objetos punzantes, juntarlos con una pala o un trozo de cartón rígido y depositarlos en un recipiente a prueba de perforaciones para su eliminación.
6. Limpiar y desinfectar la zona afectada por el derrame (en caso necesario, repetir los pasos 2 a 5).
7. Colocar el material contaminado en un recipiente para desechos a prueba de fugas y de perforaciones.
8. Tras una desinfección satisfactoria, informar a las autoridades competentes de que el lugar ha quedado descontaminado.

Authorized reprint by WHO



Peces cíclidos del lago Malawi en África. 2008
Ana Isabel Toro M.