



Notas sobre Bioseguridad

Nivel 4 de Bioseguridad (II) Para manejo de animales

Rosandra Mazzali de Ilja

Resumen: El nivel 4 de bioseguridad para manejo de animales de experimentación debe utilizarse para trabajar con microorganismos exóticos de alta peligrosidad, capaces de producir infecciones graves y hasta mortales en el personal, transmitidos por aerosol y agentes relacionados con riesgos de transmisión desconocida. Para todas las actividades a este nivel se requieren combinación de prácticas especiales, equipos de seguridad y requisitos de las instalaciones del Nivel 4 para manejo de animales de experimentación.

Biosecurity level 4 (II) Animal Biosecurity

Abstract: Animal biosecurity level 4 should be applied to work with exotic agents of highly hazardous, able to produce serious and mortal infectious diseases in the laboratory personnel, with high risk of aerosol transmitted infections and unknown transmission. For all the activities at this level, combination of special practices, safety equipment, animal facilities and animal practices applicable to work on animals infected with agents assigned to corresponding biosecurity level 4 are required

Nivel 4 de bioseguridad para las áreas de manejo de animales de experimentación

A. Prácticas estándar

Son las mismas descritas para los niveles 1, 2 y 3 de bioseguridad previamente citados. Adicionalmente se recomienda autoclavar las jaulas de los animales de experimentación antes de ser - desechado su contenido para proceder a su limpieza. De ser posible se aconseja para este nivel, la utilización de jaulas desechables, procediendo no obstante de la manera citada para las re utilizables. Todo el equipo así como las superficies de trabajo, deben ser rutinariamente descontaminados con el desinfectante indicado, cada vez que se manipula material infeccioso, en especial cuando se presentan accidentes por salpicaduras o derrame - del mismo. También debe ser descontaminado cuidadosamente todo material o equipo que debe ser enviado a reparación o ser trasladado a otras dependencias.

B. Prácticas especiales

1. Dentro de estas dependencias solo puede ingresar personal autorizado, preparado para laborar en esas

áreas. Todo individuo en alto riesgo, como niños, embarazadas, inmunocomprometidos o inmunosuprimidos, tampoco debe ingresar en ellas. El supervisor de las mismas tiene la responsabilidad de evaluar cada circunstancia. El acceso a las instalaciones debe estar equipado por una puerta de seguridad, que se mantiene debidamente cerrada. Antes de su ingreso cualquier persona debe ser alertada del potencial riesgo e instruida para prevenirlo. Adicionalmente debe establecerse un modelo de protocolo práctico y efectivo para eventuales situaciones de emergencia.

2. El personal que labora en estas áreas debe recibir adecuadas inmunizaciones y/o evaluaciones para los agentes que se manipulan o pueden estar presentes en los laboratorios de animales, Ej.: vacuna contra la hepatitis B, antirrábica, toxoide tetánico, prueba de la tuberculina, etc. Al inicio de las actividades del personal recién contratado, se le debe tomar una muestra de suero basal y almacenarla en congelación para ulteriores estudios, de ser requeridos. Muestras adicionales deben ser extraídas periódicamente, de acuerdo al tipo de agente que se manipula, a objeto de hacer evaluaciones y seguimiento inmunológico, en caso de cualquier eventualidad. Los resultados de estas pruebas deben ser informados al interesado.

3. Este tipo de laboratorio debe preparar y adoptar un manual de bioseguridad, para ser implantado obligatoriamente a todo el personal del mismo.
4. Cuando la manipulación de determinados agentes infecciosos en el área de animales requiere de medidas especiales, tales como inmunizaciones, empleo de respiradores, etc., deben colocarse señales que alerten sobre el riesgo específico, acompañados del símbolo universal de bioseguridad, a la entrada de la dependencia. El signo de riesgo debe identificar el o los agentes infecciosos en experimentación, así como los nombres y números telefónicos del supervisor responsable y los requerimientos especiales para el ingreso al área.
5. A todo el personal que trabaja en este nivel se le debe dar un adiestramiento en el manejo de los potenciales riesgos asociados al desarrollo de sus tareas, así como las necesarias precauciones para prevenir contagios y evaluación de las vías de exposición. Además dicho personal, debe recibir actualizaciones anuales o entrenamiento adicional en casos de cambios o modificaciones de procedimientos.
6. Las precauciones para el manejo de agujas y jeringas en este nivel 4 son las mismas que las a, b y c de las descritas para el nivel 3. Adicionalmente se hace referencia al material de vidrio que accidentalmente pudiera romperse, el cual debe ser retirado del área mediante la ayuda de algún dispositivo mecánico, Ej.: pinzas, descontaminándolos antes de su eliminación.
7. Cualquier recto de cultivo, tejido o fluidos corporales deben ser colocados en contenedores resistentes y herméticos, que impidan derrames durante su recolección, manipulación, procesamiento, almacenamiento, transporte o envío a otras dependencias.
8. Cualquier accidente que resulte de una salpicadura o derrame de material infeccioso, con manifiesta exposición al mismo, debe ser reportado inmediatamente al director o responsable del laboratorio. Inmediatamente debe someterse a una rigurosa evaluación médica, tratamiento y seguimiento, acompañados de un minucioso reporte escrito.
9. Tanto la salida como la entrada de personal a esta dependencia debe ser realizada a través de los cuartos de cambio de ropa y duchas. El personal que no pueda lavarse la cabeza durante las mismas, deben emplear un protector que recoja cuidadosamente el cabello. Solo en casos de emergencia cualquier persona de estos laboratorios puede entrar o salir del mismo a través de las salidas de aire.
10. Toda la indumentaria de laboratorio debe ser retirada en el cuarto de cambio de ropa y dejada allí antes de pasar al área de duchas. Toda esa ropa utilizada en el área del nivel 4 debe ser autoclavada antes de ser enviada a la lavandería.
11. Todo el material y suministros son llevados al interior de la dependencia a través de dispositivos de doble puerta: autoclave, cámara de fumigación y salida de aire. Una vez asegurada la puerta externa, el personal

retira los insumos por la interna, asegurando su debida clausura.

12. Debe establecerse en este tipo de laboratorio un sistema para el reporte de accidentes y exposiciones, ausentismo laboral y para el seguimiento médico de potenciales enfermedades asociadas al ejercicio profesional. También debe establecerse un área para la cuarentena, aislamiento y cuidado médico de personas con potencial o reconocida enfermedad relacionada con infecciones de laboratorio.
13. Ningún tipo de material no relacionado con las tareas del laboratorio debe ser admitido en esta dependencia (ej.: plantas, animales distintos a los experimentales, ropa, etc.).

C. Barreras primarias de contención (equipo de seguridad)

Los animales de laboratorio, infectados con agentes asignados al nivel 4, son manejados en cabinas de bioseguridad clase III de o como alternativa en sistemas de contenedores similares a jaulas abiertas ubicadas en espacios ventilados, paredes rígidas y pisos recubiertos con filtros, u otro sistema de contención primaria.

Todo el personal que labora en estas áreas debe estar equipado de una indumentaria de una sola pieza de presión positiva equipado de un sistema de ventilación para favorecer la respiración del operador.

D. Barreras secundarias de contención

1. Las áreas que alojan animales deben ubicarse en dependencias separadas o en una zona específica, delimitada y aislada dentro del edificio central. Deben estar equipadas por un cuarto externo y uno interno, separadas por una ducha, para el personal que entra y sale del mismo. Además de estar dotado de dispositivos dobles, ej.: autoclave, cámara de fumigación, salidas de aire, etc., ello para el ingreso y/o egreso de equipos, insumos, materiales, etc., en lugar de ser introducidos a través de los cuartos de cambio del personal.
2. Tanto las paredes como los pisos y el techo raso de estos laboratorios deben ser construidos de un material impermeable, sin fisuras ni ranuras, que facilite el aseo y la descontaminación, impidiendo el ingreso de animales e insectos, además de ser resistente a determinados compuestos químicos.
3. Todas las instalaciones internas, como: conexiones eléctricas, ductos de aire y tuberías varias, deben colocarse de manera de minimizar las superficies horizontales, donde pudiera asentarse el polvo ambiental.
4. Las tomas de agua en el lavamanos deben poder operarse bien sea con pedal o cualquier otro dispositivo mecánico, ubicadas siempre muy cerca de la puerta de salida. Si en la dependencia existe un sistema de vacío central, este no debe suplir otras áreas, externa a la propia. Este tipo de suministro debe estar dotado de filtros HEPA en línea, colocados tan cerca como sea posible del punto de toma del vacío. Dichos filtros de-

ben estar instalados de manera que se puedan reemplazar y/o descontaminar en el sitio. Los servicios de gas y de líquidos también deben ser provistos de dispositivos que impidan el reflujo. Las puertas externas de los laboratorios donde se manejan animales deben autoabrirse y auto cerrarse, todas las ventanas deben ser resistentes y bien selladas.

5. Todo material que sale de esta área debe ser descontaminado en un autoclave de doble puerta; la externa es controlada automáticamente de manera que no puede abrirse hasta que el ciclo de esterilización se ha concluido. También debe estar equipado con una cámara de fumigación de doble puerta, adaptado a un tanque con trampas, que recoge los reflujos. Existen algunos métodos alternativos adaptados para descontaminar todo material o equipo que no pueda ser desinfectado en autoclave, antes de ser retirados del área.
6. Todos los efluentes que salen del laboratorio de animales (lavamanos, cabinas de bioseguridad, autoclaves, dispositivos para limpieza de pisos, etc.) deben descontaminarse por tratamiento con calor antes de ser desechados al medio ambiente. Los efluentes provenientes de duchas y baños pueden ser eliminados hacia las cloacas, sin previo tratamiento. El procedimiento de calor para los desechos líquidos debe ser evaluado continuamente tanto físico como biológicamente mediante el empleo de la toma de temperatura de los sensores, así como mediante la lectura de un indicador biológico, con microorganismos que poseen una susceptibilidad al calor bien definida.
7. Deben estar equipados con un sistema de ventilación no recirculante; los componentes del mismo (entrada y salida de aire) deben estar balanceados de manera que el flujo direccional vaya desde las áreas de menor a las de mayor riesgo. El diferencial entre la presión y el flujo direccional entre las áreas adyacentes es monitoreado continuamente y dispone de un sistema de alarma que nos indica el mal funcionamiento del sistema.
8. El aire que se desecha en este tipo de dependencia, donde las actividades se desarrollan en cabinas de bioseguridad clase III, es tratado mediante su paso por filtros HEPA antes de ser expulsado al exterior o medio ambiente. Este tipo de filtro debe estar colocado lo mas cerca posible de la fuente contaminante, a objeto de disminuir en lo posible la longitud del ducto que lo

extrae. Estos filtros HEPA están diseñados de tal modo que se auto-descontaminan *in situ* antes de ser removidos, o como alternativa puede poseer un dispositivo con gas, para que posteriormente pueda descontaminarse y/o incinerarse.

9. En los casos en los cuales se emplean cabinas biológicas de clase II en dependencias donde el personal vista indumentarias equipadas de presión positiva, el aire que se expulsa puede ir al área de animales o al medio ambiente a través de los procedimientos anteriormente descritos. Las cabinas biológicas deben ser chequeadas y certificadas a intervalos de 9 meses.
10. En este tipo de dependencia se debe disponer de un área especial para el cambio de ropa del operador; éste debe estar dotado de una indumentaria de una sola pieza, con sistema de presión positiva incorporado, ventilado por respirador. El mismo debe poseer un sistema de alarmas y tanques de aire de emergencia para la respiración del operador en casos de fallas del equipo original. La entrada a estas áreas es a través de puertas que impiden la entrada de aire o su salida. Además debe instalarse en este local una ducha química, para la descontaminación de la vestimenta antes de que el operador deje la instalación. El aire que sale de ese ambiente debe filtrarse a través de doble filtros HEPA conectados en serie. También debe suministrarse un extractor, así como una fuente de emergencia, conectada a sistemas de comunicación y alarma luminosa. La presión de aire dentro de la vestimenta debe ser inferior a la del área adyacente. En esta dependencia debe existir una autoclave de doble puerta para la descontaminación de todos los desechos que se originan.

Referencias

- Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Section IV Vertebrate animal biosafety level criteria, pp. 59-67. CDC-NIH 1999.
- Biosafety in the Laboratory. Prudent practices for handling and disposal of infectious materials. Section V: Vertebrate Animal Biosafety level criteria, pp. 102-104. National Academy Press 1989.
- Rosandra M. de Ilja. Barreras de contención empleadas en laboratorios microbiológicos, parte I. Rev Soc. Ven Microbiol 2002; 22:91-95.