



MANUAL DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO DE **TUBERCULOSIS**



Organización
Mundial de la Salud



MANUAL DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO DE **TUBERCULOSIS**



Organización
Mundial de la Salud

Catalogación por la Biblioteca de la OMS:

Manual de bioseguridad en el laboratorio de tuberculosis.

1.Laboratorios – normas. 2.Infección de laboratorio – prevención y control. 3.Tuberculosis – diagnóstico. 4.Contención de riesgos biológicos. 5.Manuales de laboratorio. 6.Guía. 1.Organización Mundial de la Salud.

ISBN 978 92 4 350463 6

(Clasificación NLM: WF 220)

© Organización Mundial de la Salud, 2013

Se reservan todos los derechos. Las publicaciones de la Organización Mundial de la Salud están disponibles en el sitio web de la OMS (www.who.int) o pueden comprarse a Ediciones de la OMS, Organización Mundial de la Salud, 20 Avenue Appia, 1211 Ginebra 27, Suiza (tel.: +41 22 791 3264; fax: +41 22 791 4857; correo electrónico: bookorders@who.int). Las solicitudes de autorización para reproducir o traducir las publicaciones de la OMS - ya sea para la venta o para la distribución sin fines comerciales - deben dirigirse a Ediciones de la OMS a través del sitio web de la OMS (http://www.who.int/about/licensing/copyright_form/en/index.html).

Las denominaciones empleadas en esta publicación y la forma en que aparecen presentados los datos que contiene no implican, por parte de la Organización Mundial de la Salud, juicio alguno sobre la condición jurídica de países, territorios, ciudades o zonas, o de sus autoridades, ni respecto del trazado de sus fronteras o límites. Las líneas discontinuas en los mapas representan de manera aproximada fronteras respecto de las cuales puede que no haya pleno acuerdo.

La mención de determinadas sociedades mercantiles o de nombres comerciales de ciertos productos no implica que la Organización Mundial de la Salud los apruebe o recomiende con preferencia a otros análogos. Salvo error u omisión, las denominaciones de productos patentados llevan letra inicial mayúscula.

La Organización Mundial de la Salud ha adoptado todas las precauciones razonables para verificar la información que figura en la presente publicación, no obstante lo cual, el material publicado se distribuye sin garantía de ningún tipo, ni explícita ni implícita. El lector es responsable de la interpretación y el uso que haga de ese material, y en ningún caso la Organización Mundial de la Salud podrá ser considerada responsable de daño alguno causado por su utilización.

Designed by GPS Publishing

Printed in Italy

WHO/HTM/TB/2012.11

SINOPSIS	5
PARTICIPANTES EN EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE LAS DIRECTRICES	VI
ABREVIATURAS	VII
INTRODUCCIÓN	1
1. EVALUACIÓN DE RIESGOS Y CLASIFICACIÓN DE LOS LABORATORIOS DE TUBERCULOSIS	6
1.1 ¿QUÉ ES LA EVALUACIÓN DE RIESGOS EN LOS LABORATORIOS DE TUBERCULOSIS?	6
1.2 IDENTIFICACIÓN DE PELIGROS	7
1.3 DETERMINACIÓN DE LOS RIESGOS	7
1.4 VIGILANCIA DE LOS RIESGOS Y MEDIDAS DE MITIGACIÓN	11
1.5 PROGRAMA DE SALUD OCUPACIONAL DE LOS EMPLEADOS	12
1.6 CLASIFICACIÓN DE LOS LABORATORIOS DE TUBERCULOSIS	12
2. MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD ESENCIALES EN LOS LABORATORIOS DE TUBERCULOSIS	14
2.1 CÓDIGOS DE PRÁCTICAS	14
2.2 EQUIPO	17
2.3 DISEÑO E INSTALACIONES	17
2.4 CAPACITACIÓN	19
2.5 MANIPULACIÓN DE DESECHOS	19
2.6 PROCEDIMIENTOS DE ELIMINACIÓN DE MATERIAL CONTAMINADO	21
3. LABORATORIOS DE TUBERCULOSIS DE BAJO RIESGO	22
3.1 FACTORES QUE AUMENTAN EL RIESGO DE INFECCIÓN	22
3.2 CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS Y MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD MÍNIMAS INDISPENSABLES	22
4. LABORATORIOS DE TUBERCULOSIS DE RIESGO MODERADO	26
4.1 FACTORES QUE AUMENTAN EL RIESGO DE INFECCIÓN	26
4.2 CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS Y MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD MÍNIMAS INDISPENSABLES	26

5. LABORATORIOS DE TUBERCULOSIS DE ALTO RIESGO (LABORATORIOS DE CONTENCIÓN)	30
5.1 FACTORES QUE AUMENTAN EL RIESGO DE INFECCIÓN	30
5.2 CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS Y MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD NECESARIAS	30
6. EQUIPO DE SEGURIDAD	32
6.1 CÁMARAS DE SEGURIDAD BIOLÓGICA	32
6.2 CENTRIFUGADORAS CON CUBETAS DE SEGURIDAD	39
6.3 AUTOCLAVES	39
7. EQUIPO Y ROPA DE PROTECCIÓN PERSONAL	42
7.1 BATAS DE LABORATORIO (ABERTURA A LA ESPALDA)	42
7.2 RESPIRADORES	43
7.3 GUANTES	44
8. PLANES DE PREPARACIÓN Y RESPUESTA EN EMERGENCIAS	46
8.1 PLAN DE PREPARACIÓN PARA EMERGENCIAS	46
8.2 PROCEDIMIENTOS DE RESPUESTA A EMERGENCIAS EN LOS LABORATORIOS DE TUBERCULOSIS	46
8.3 KIT DE LIMPIEZA DE DERRAMES	47
9. REFERENCIAS	49
10. ANEXO	51
ANEXO 1: PARTICIPANTES EN LA REUNIÓN	51
ANEXO 2: DECLARACIONES DE INTERESES	53
ANEXO 3: CUADRO DE EXAMEN COLEGIADO	54

Sinopsis

Tras una reunión consultiva técnica entre la Organización Mundial de la Salud (OMS) y los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) de los Estados Unidos, que se celebró en Atlanta, GA, en septiembre de 2008 y trató sobre estrategias, enfoques y relaciones de asociación que pudieran ponerse en marcha para mejorar la bioseguridad en los laboratorios de todo el mundo, en abril de 2009 se organizó una reunión de un grupo de expertos en la sede de la OMS en Ginebra (Suiza) con el fin de elaborar directrices de bioseguridad en relación con los procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de la tuberculosis. Los miembros del Grupo de Expertos presentaron declaraciones de intereses. Esas declaraciones fueron examinadas por el departamento jurídico de la Organización antes de la reunión. El objetivo de la reunión era llegar a un consenso sobre principios básicos en el ámbito de las prácticas de laboratorio y el diseño de laboratorios, necesarios para establecer criterios mínimos que permitan garantizar la bioseguridad durante los procedimientos de microscopía, cultivo, antibiograma y pruebas moleculares en relación con la tuberculosis en distintos países y contextos epidemiológicos.

Este manual se elaboró sobre la base de las conclusiones de la reunión del Grupo de Expertos. Las recomendaciones se apoyan en evaluaciones de los riesgos asociados a las distintas técnicas utilizadas en diferentes tipos de laboratorios de tuberculosis; el manual describe los requisitos básicos para las instalaciones y las prácticas, que pueden adaptarse de modo que sigan la reglamentación local o nacional o a consecuencia de una evaluación de riesgos. Las evaluaciones de riesgos requieren un juicio cuidadoso: por un lado, subestimar los riesgos puede tener como resultado que el personal de laboratorio quede expuesto a riesgos biológicos pero, por otro lado, la aplicación de medidas de mitigación de riesgo más rigurosas de lo necesario puede dar lugar a una carga innecesaria para el personal del laboratorio y aumentar el costo que requiere establecer y mantener su infraestructura. Las evaluaciones de riesgos deben tener en cuenta la carga bacteriana de los materiales (como las muestras y los cultivos), la viabilidad de los bacilos, si el material manipulado es propenso a generar aerosoles durante la actividad que se evalúa, la carga de trabajo del laboratorio, la epidemiología de la enfermedad y la salud de los trabajadores del laboratorio; también debe tener presentes otros factores que puedan influir en la probabilidad o las consecuencias de la exposición a la tuberculosis.

Estas recomendaciones están destinadas a los directores y gestores de laboratorios y programas de tuberculosis, así como a los técnicos de laboratorio que realizan pruebas de detección de la tuberculosis, especialmente en contextos con alta carga y escasos recursos. A lo largo del presente documento, el laboratorio o departamento del laboratorio que realiza las pruebas de tuberculosis se denominará «laboratorio de tuberculosis».

Las recomendaciones se refieren específicamente a los laboratorios que siguen procedimientos bien definidos para el ensayo de muestras que pueden contener *Mycobacterium tuberculosis*. Cuando se trate de cualquier otra combinación de agente patógeno y procedimientos, puede utilizarse un proceso análogo al aquí presentado para definir precauciones en materia de bioseguridad.

El presente manual fue aprobado por el Comité de Examen de Directrices de la OMS¹ en mayo de 2012; en todo el texto se ofrecen explicaciones allí donde difieren del *Manual de bioseguridad en el laboratorio* (tercera edición) de la OMS.² Su propósito es informar, no sustituir, los requisitos y las normas nacionales de bioseguridad. Las recomendaciones no reemplazan ninguna norma o reglamentación local o nacional.

La fecha límite fijada para la siguiente revisión del manual fue 2017.

Participantes en el proceso de elaboración de las directrices

Contribuyeron a la redacción del presente manual:

Christopher Gilpin (responsable), Jean Iragena, Fuad Mirzayev, Wayne van Gemert, Karin Weyer

Participaron en la Reunión Consultiva Técnica Internacional Conjunta CDC-OMS sobre Bioseguridad en el Laboratorio, 2 a 4 de septiembre de 2008, en Atlanta, GA (Estados Unidos de América):

May Chu, Daniela Cirillo, Philippe Dubois, Christopher Gilpin, Paul Jensen, Shanna Nesby, Nicoletta Previsani, John Ridderhof, Thomas M Shinnick, Veronique Vincent, Karin Weyer

Los miembros del Grupo de Expertos reunido en la sede de la OMS los días 8 y 9 de abril de 2009 en Ginebra (Suiza) fueron los siguientes:

Jenny Allen, May Chu, Daniela Cirillo, Sébastien Cognat, Philippe Dubois, Knut Feldmann, Christopher Gilpin, Jean Iragena, Paul Jensen, Moses Joloba, Jean Joly, Sang Jae Kim, Scott Kreitlein, Shanna Nesby, CN Paramasivan, Nicoletta Previsani, John Ridderhof, Thomas M Shinnick, Andrew Ramsay, Peter van't Erve, Veronique Vincent, Karin Weyer

Formaron parte del Grupo de Examen Técnico reunido en la sede de la OMS los días 22 y 23 de agosto de 2011 en Ginebra (Suiza):

Heather Alexander, Pawan Angra, Daniela Cirillo, Gerrit Coetzee, Edward Desmond, Maria Alice da Silva Telles, Sara Irène Eyangoh, Knut Feldmann, Christopher Gilpin, Rumina Hasan, Jean Iragena, Moses Joloba, Fuad Mirzayev, Satoshi Mitarai, Richard O'Brien, Daniel Orozco, CN Paramasivan, Nicoletta Previsani, Leen Rigouts, Thomas M Shinnick, Akos Somoskovi, Magdi Samaan, Wayne van Gemert, Elsie Van Schalkwyk

Los autores también desean reconocer las aportaciones originales de los numerosos profesionales que trabajaron en la tercera edición del *Manual de bioseguridad en el laboratorio* de la OMS, a partir del cual se han adaptado partes del presente documento.

La preparación y publicación de este documento han sido posibles gracias al apoyo financiero de la Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional (USAID) y los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) de los Estados Unidos.

Abreviaturas

IAH	intercambios de aire por hora
CSB	cámara de seguridad biológica
HEPA	filtro de alta eficiencia de partículas en el aire
MR	tuberculosis multirresistente
XR	tuberculosis ultrarresistente

Definiciones

Aerosol infeccioso	Suspensión de partículas de agentes infecciosos que puede ser inhalada y provocar infección.
Aire expulsado (extracción)	Aire evacuado del laboratorio que no vuelve a entrar en circulación.
Antesala	Pequeña sala que lleva de una parte del laboratorio a otra (por ejemplo, la que lleva a un laboratorio de contención de la tuberculosis).
Bata de laboratorio (espada)	Estas batas de laboratorio deben tener manga larga y puños elásticos (al menos de 30 mm) y cerrarse por detrás. Debe haber distintas tallas a disposición del personal. Se utilizan cuando se trabaja en lugares con alto riesgo de tuberculosis. Cuando el técnico de laboratorio está de pie, el borde inferior de la bata debe quedar por debajo de la superficie de trabajo y cubrir por completo su regazo cuando está sentado.
Bata de laboratorio (frontal)	Estas batas de laboratorio suelen tener manga larga y abrocharse por delante. Deben llevarse cuando se trabaja en lugares de riesgo bajo o moderado de tuberculosis.
Cámara de distribución de aire	Espacio de la parte superior de una cámara de seguridad biológica en la que parte del aire es evacuado al exterior mientras que el resto se hace llegar a la zona de trabajo.
Esterilización	Proceso que elimina todas las clases de microorganismos y esporas.
Evaluación del riesgo	Proceso de examen del riesgo o los riesgos derivados de uno o varios peligros, teniendo en cuenta la idoneidad de las medidas de control existentes; el proceso también incluye decidir si el riesgo es aceptable.

Intercambios de aire por hora (IAH)	Número de veces que el volumen de aire de la sala de laboratorio es evacuado y sustituido por aire limpio cada hora.
Núcleos de gotículas	Residuo seco de gotículas de diámetro inferior a 5 µm.
Peligro	Todo aquello que tiene el potencial de provocar daños, con independencia de la probabilidad de que ocurra.
Plan de gestión de la bioseguridad	Combinación de controles administrativos, principios de contención, prácticas y procedimientos de laboratorio, equipo de seguridad, preparación para emergencias e instalaciones de laboratorio que permiten que el personal de laboratorio trabaje con microorganismos infecciosos en condiciones de seguridad.
Procedimiento generador de aerosoles	Procedimiento de alto riesgo que puede aumentar el potencial de formación de núcleos de gotículas de resultados de la fuerza mecánica del procedimiento (por ejemplo, pipeteo, agitación vorticial, centrifugado o mezclado).
Riesgo	Combinación de la probabilidad y las consecuencias de un incidente en relación con un peligro específico.
Sistema de ventilación mecánica	Sistema que utiliza un aparato extractor para evacuar el aire del laboratorio.
Técnica microbiológica correcta	Una técnica microbiológica correcta incluye técnicas asépticas y otras prácticas no uniformemente definidas pero necesarias para prevenir la contaminación del laboratorio por los agentes que se están manipulando así como la contaminación del material de trabajo con agentes del medio ambiente.
Transmisión por el aire	Transmisión de la enfermedad provocada por la propagación de núcleos de gotículas que siguen siendo infecciosas cuando se encuentran en suspensión en el aire.
Ventilación	La ventilación lleva aire del exterior a un edificio o una sala de laboratorio y distribuye el aire en el laboratorio. Por medidas de bioseguridad, el propósito de la ventilación en los edificios es proporcionar aire salubre para la respiración diluyendo con aire limpio los posibles aerosoles que se hubieran generado en el laboratorio y suministrando una tasa de corriente suficiente para renovar el aire con una frecuencia determinada.
Ventilación híbrida	Combinación de ventilación mecánica y natural (también denominada mixta).
Ventilación natural	Uso de fuerzas naturales para introducir y distribuir el aire exterior en el laboratorio y para evacuarlo de él.

Introducción

La bioseguridad en el laboratorio es el proceso consistente en aplicar una combinación de controles administrativos, principios de contención, prácticas y procedimientos, equipo de seguridad, preparación para emergencias e instalaciones que permitan que el personal del laboratorio trabaje en condiciones de seguridad con microorganismos potencialmente infecciosos; también tiene por objeto prevenir la exposición involuntaria a agentes patógenos o la liberación accidental de estos. En el presente manual se describen las medidas mínimas de bioseguridad que deben aplicarse en los laboratorios de distintos niveles que realizan pruebas relacionadas con la tuberculosis a fin de reducir el riesgo de contraer infecciones en el laboratorio.

Las recomendaciones y los criterios expuestos en el presente manual no deben sustituir las orientaciones existentes en materia de seguridad en un país cuando ya existan requisitos específicos para los laboratorios y los procedimientos relacionados con la tuberculosis. El presente manual, en cambio, está concebido para que lo utilicen directores y administradores de laboratorios, profesionales y programas de bioseguridad con el fin de informar y orientar la aplicación de los requisitos mínimos para laboratorios y redes de laboratorios que realizan ensayos y procedimientos asociados al diagnóstico de la tuberculosis.

La evaluación de riesgos es un método que promueve el examen del riesgo y la elaboración de prácticas apropiadas de bioseguridad en los laboratorios basándose en la combinación particular de procedimientos de prueba, conocimientos y experiencia del personal y medios presentes en cada laboratorio. En condiciones óptimas la evaluación de riesgos debe realizarse en cada laboratorio, pero hay casos en los que esto no es posible, especialmente en los miles de laboratorios periféricos que realizan

procedimientos de riesgo relativamente menor en países con elevada carga de tuberculosis y recursos limitados para el apoyo y la supervisión locales. Por consiguiente, el presente manual ofrece recomendaciones prácticas para redes de laboratorios de tuberculosis y se centra en procedimientos concretos, como la microscopía, el cultivo, el antibiograma y los ensayos moleculares.

Proceso de elaboración del manual de bioseguridad

Este manual de bioseguridad para laboratorios de tuberculosis se ha adaptado a partir del *Manual de bioseguridad en el laboratorio* (tercera edición) de la OMS.² En su contenido se han tenido en cuenta los resultados de una reunión consultiva técnica entre la Organización Mundial de la Salud (OMS) y los Centros para la Prevención y el Control de Enfermedades (CDC) de los Estados Unidos (septiembre de 2008), una reunión de un Grupo de Expertos de la OMS sobre bioseguridad en relación con los procedimientos de diagnóstico de la tuberculosis en el laboratorio (abril de 2009) y el consenso alcanzado en un examen externo independiente (agosto de 2011).

El manual se centra en atender las necesidades específicas de los programas de lucha antituberculosa y en facilitar la aplicación de medidas de bioseguridad eficaces adaptadas a los sistemas de laboratorios de tuberculosis de múltiples niveles. Al mismo tiempo, el manual debe leerse junto con el *Manual de bioseguridad en el laboratorio* de la OMS, que abarca aspectos generales de la bioseguridad en el laboratorio, como la manipulación de sustancias químicas peligrosas no específicas de un laboratorio de tuberculosis, incendios y otros peligros, el transporte de sustancias infecciosas y la capacitación.

Reunión del Grupo de Expertos

La OMS organizó una reunión de un grupo de expertos en Ginebra (Suiza). Solo los participantes que asistieron a la reunión en persona tomaron parte en el debate inicial y los debates ulteriores en los que se formularon recomendaciones. Los miembros del Grupo de Expertos fueron seleccionados para representar de forma equilibrada importantes perspectivas necesarias para formular orientaciones sobre bioseguridad en los laboratorios específicamente relacionados con la tuberculosis. Formaron parte del Grupo expertos técnicos, usuarios finales, fabricantes de cámaras de seguridad biológica y profesionales de la bioseguridad. (La lista de miembros del grupo figura en el anexo 1.)

Declaraciones de intereses

Los miembros del Grupo de Expertos cumplieron declaraciones de intereses. Sus respuestas pueden encontrarse en el anexo 2. Estas fueron examinadas por el departamento jurídico de la OMS antes de la reunión, y las declaraciones fueron resumidas por el presidente del Grupo de Expertos al comienzo de la reunión. Se declaró que los representantes de dos empresas (Peter van't Erve y Scott Kreitlein) presentaban conflictos de intereses significativos y

se les concedió la condición de observadores: no participaron en la elaboración de ninguna de las recomendaciones del presente manual.

Proceso de examen colegiado externo

Se organizó en la sede de la OMS un examen técnico externo del presente manual. Se atendieron las dudas de los asociados en la medida de lo posible y todo ello se utilizó en el manual. En el anexo 3 figura la lista de personas que participaron en el proceso de examen colegiado.

Justificación y proceso

En la sección que sigue se explica la justificación de las diferencias respecto de orientaciones anteriores. Además, se utilizan recuadros de texto con el encabezamiento «Recomendación del Grupo de Expertos» para explicar dónde y por qué esa recomendación difiere de la que aparece en el *Manual de bioseguridad en el laboratorio* de la OMS.

El proceso de síntesis de los datos objetivos y de elaboración de las presentes directrices fue revisado y aprobado por el Comité de Examen de Directrices¹ de la OMS en mayo de 2012. La fecha límite fijada para la siguiente revisión es 2017.

Diferencias con el *Manual de bioseguridad en el laboratorio* (3.ª ed.) de la OMS

Evaluación del riesgo de procedimiento para las redes de laboratorios de tuberculosis

El *Manual de bioseguridad en el laboratorio*² de la OMS recomienda realizar una evaluación de riesgos en cada laboratorio por separado con el fin de definir enfoques, prácticas y precauciones apropiados. Este manual difiere de esa pauta en que ofrece recomendaciones prácticas basadas en procedimientos de laboratorio utilizados específicamente para el diagnóstico de la tuberculosis y que se realizan típicamente en distintos niveles de los servicios antituberculosos. Esas recomendaciones son las que deben guiar a los laboratorios nacionales de referencia para la tuberculosis que gestionan redes nacionales o regionales de laboratorios de tuberculosis a la hora de comprender mejor los riesgos asociados a la realización de determinados procedimientos; también deben permitir a los laboratorios de referencia nacionales aplicar prácticas de bioseguridad apropiadas en instalaciones adecuadas, y asegurar que un personal debidamente capacitado realiza una gama normalizada de pruebas de diagnóstico de la tuberculosis.

En muchos entornos con recursos limitados y elevada carga de morbilidad no se dispone de suficientes conocimientos teóricos y prácticos en materia de bioseguridad que permitan a los programas nacionales realizar evaluaciones de riesgos individualizadas en cada laboratorio. Con el fin de ayudar a esos programas, se siguió un proceso consultivo y de búsqueda de consenso para evaluar los riesgos más habituales en los laboratorios de tuberculosis que suele haber en ese tipo de entornos, y para elaborar normas mínimas que aseguren que las pruebas de laboratorio relacionadas con la tuberculosis se lleven a cabo en condiciones de seguridad.

Normas utilizadas para elaborar las directrices

En 2008, el Comité Europeo de Normalización publicó la norma de gestión del riesgo biológico en el laboratorio CWA 15793,³ en la que se destacan los factores clave que hay que tener en cuenta para establecer y aplicar con éxito un sistema de gestión del riesgo biológico. La norma apoya el uso de un criterio basado en el riesgo y no utiliza clasificaciones del riesgo para los agentes biológicos o la seguridad en el laboratorio, ni los niveles de contención descritos en el *Manual de bioseguridad en el laboratorio* de la OMS. Los principios establecidos en la norma CWA 15793 se utilizaron para elaborar el presente manual de bioseguridad y sirven como guía en relación con los requisitos mínimos para instalaciones de tuberculosis que llevan a cabo procedimientos de diagnóstico.

Uso de clasificaciones por grupos de riesgo

El *Manual de bioseguridad en el laboratorio* recomienda que los países elaboren clasificaciones nacionales o regionales de microorganismos por grupo de riesgo. La asignación de un grupo de riesgo a un agente patógeno puede variar en función de criterios geográficos o por cepas, debido a las diferencias en las características epidemiológicas del agente patógeno en una comunidad o al riesgo de infección en el laboratorio.

Es importante reconocer que las personas que trabajan en un laboratorio pueden diferir en su predisposición a que se manifieste la tuberculosis si resultan infectadas, y que solo una pequeña parte de las personas infectadas acaban manifestando la enfermedad activa a lo largo de su vida.⁴ Las personas con inmunidad reducida, por ejemplo causada por la infección por el VIH o el embarazo, pueden estar más expuestas

a presentar tuberculosis, por lo que en esos casos quizá sea preciso adoptar precauciones añadidas.

Por consiguiente, y de conformidad con la norma CWA 15793, el presente manual adopta un criterio basado en el riesgo que no se apoya en la clasificación de riesgos por agente biológico o por la seguridad en el laboratorio, ni utiliza los niveles de contención descritos en el *Manual de bioseguridad en el laboratorio*.

Designación del nivel de bioseguridad

El *Manual de bioseguridad en el laboratorio* describe un sistema de clasificación de la bioseguridad en cuatro niveles. Los niveles de bioseguridad se basan en la combinación de características de diseño, construcción, instalaciones de contención, equipo, prácticas y procedimientos operacionales necesarios para trabajar con agentes de distintos grupos de riesgo. A menudo se supone, erróneamente, que un microorganismo asignado a un grupo de riesgo particular (por ejemplo, el grupo de riesgo 3) requiere un laboratorio de un nivel de bioseguridad equivalente (es decir, nivel de bioseguridad 3) para que el trabajo se realice en condiciones seguras. Sin embargo, puede ser más apropiado un nivel superior o inferior de bioseguridad, atendiendo al procedimiento concreto que se esté llevando a cabo y a otros factores (véase el capítulo 1 del presente manual).

El *Manual de bioseguridad en el laboratorio* afirma que el nivel de bioseguridad asignado a la tarea específica que se está realizando viene dado por un juicio profesional basado en la evaluación del riesgo, más que en la asignación automática de un nivel de bioseguridad en el laboratorio según el grupo de riesgo particular asociado a un agente patógeno. El criterio utilizado en el presente manual se apoya en las orientaciones del *Manual de bioseguridad en el laboratorio* y recurre a un criterio de procedimiento en la evaluación del riesgo. La tuberculosis es sobre todo una infección transmitida por el aire.⁴ En lugar de asignar un nivel de bioseguridad particular a determinados procedimientos, el

presente manual define los **requisitos mínimos** necesarios para mitigar los riesgos asociados a la realización de un procedimiento concreto, teniendo en cuenta el riesgo de generación de aerosoles, las instalaciones disponibles y el equipo, las prácticas y los procedimientos necesarios para limitar la infección.

Mitigación de riesgos

Uso de cámaras de seguridad biológica

Las infecciones adquiridas en el laboratorio a menudo se deben a la producción inadvertida de aerosoles infecciosos que contienen bacilos tuberculosos. Para los laboratorios que realizan pruebas de tuberculosis, el peligro (o riesgo) más importante es la generación de aerosoles infecciosos, ya que la infección por *Mycobacterium tuberculosis* se produce principalmente por inhalación de esos aerosoles, aunque también puede producirse por inoculación directa o por ingestión. Los aerosoles infecciosos pueden generarse durante la manipulación de líquidos que contienen bacilos tuberculosos. Una vez que se han depositado en las superficies, los núcleos de gotículas no vuelven a convertirse en aerosoles y se consideran no infecciosos.^{5,6,7} Esto significa que *M. tuberculosis* normalmente se transmite solo por el aire y no por contacto con superficies.⁸

Dos consideraciones importantes al evaluar el riesgo de generación de aerosoles son la carga de bacilos contenida en los materiales que se manipulan y la probabilidad de que se generen aerosoles infecciosos a partir del material. En las muestras de esputo, la muestra más común que se investiga para diagnosticar la tuberculosis, la carga de bacilos va de 0 (como sucede en hasta el 90% de las muestras para diagnóstico) a 10^3 - 10^4 /ml en una muestra de esputo con bajo recuento en la baciloscopia, o 10^6 /ml en una muestra con un recuento de $3+$.⁹ En un cultivo a partir de muestras de esputo, la carga bacilar puede ser superior a 10^8 /ml. Habida cuenta de la viscosidad de las muestras de esputo, la probabilidad de generar un aerosol infeccioso al manipular esas muestras es mucho menor que a partir de un cultivo líquido. Por consiguiente,

el riesgo asociado a la manipulación de una muestra directa de esputo es significativamente inferior al riesgo asociado a la manipulación de material cultivado.

Este manual difiere del *Manual de bioseguridad en el laboratorio* de la OMS en su conclusión de que las cámaras de seguridad biológica (CSB) no son obligatorias cuando se realizan baciloscopias del esputo. El Grupo de Expertos reconoció que las infecciones por *M. tuberculosis* suponen un riesgo demostrado para el personal de laboratorio así como para otras personas que pueden estar expuestas a los aerosoles infecciosos generados por ciertos procedimientos. Se dispone de datos escasos sobre los riesgos asociados a procedimientos concretos en el laboratorio de tuberculosis. Un estudio retrospectivo realizado

en Corea¹⁰ mostró que el riesgo relativo de contraer la infección tuberculosa para los técnicos que realizan baciloscopias de frotis de bacilos acidorresistentes en comparación con la población general era de 1,4 (intervalo de confianza del 95%, 0,2-10,0); el riesgo era de 21,5 (95% intervalo de confianza, 4,5-102,5) para los técnicos que realizaban antibiogramas. El Grupo de Expertos concluyó que las CSB no son obligatorias para la baciloscopia del esputo. También observó que con buenas técnicas microbiológicas, la baciloscopia del esputo entraña un riesgo reducido de generar aerosoles infecciosos, por lo que esos procedimientos pueden realizarse en una superficie de trabajo abierta siempre que pueda asegurarse una ventilación adecuada. Esta recomendación está en consonancia con orientaciones anteriores.^{11,12}

1. Evaluación de riesgos y clasificación de los laboratorios de tuberculosis

1.1 ¿Qué es la evaluación de riesgos en los laboratorios de tuberculosis?

El sistema de clasificación en cuatro niveles de bioseguridad (1 a 4) que se describe en el *Manual de bioseguridad en el laboratorio*² de la OMS proporciona amplias orientaciones sobre conceptos básicos de la bioseguridad para la elaboración de códigos de prácticas nacionales e internacionales. El reto para los directores de programas de tuberculosis y el personal de los laboratorios, particularmente en entornos con recursos limitados, ha sido el de convertir las asignaciones genéricas de grupos de riesgo y los niveles de bioseguridad en precauciones concretas pertinentes para las actividades en un país dado. El resultado es que la utilización de los niveles de bioseguridad 1 a 4 al describir las necesidades de los laboratorios de tuberculosis ha sido fuente de confusión a la hora de determinar qué precauciones son necesarias.

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

- En la evaluación de riesgos en un laboratorio de tuberculosis se tiene en cuenta lo siguiente:
- La carga bacteriana de los materiales (como las muestras de esputo y los cultivos) y la viabilidad de los bacilos tuberculosos.
- La vía de transmisión de la tuberculosis.

- Si el material manipulado y las manipulaciones necesarias en cada procedimiento tienen probabilidad de generar aerosoles infecciosos.
- El número de maniobras de cada técnica que pueden generar aerosoles.
- La carga de trabajo del laboratorio y de cada uno de sus trabajadores.
- La ubicación del laboratorio.
- La epidemiología de la enfermedad y la población de pacientes que atiende el laboratorio.
- El nivel de experiencia y la competencia de los técnicos del laboratorio.
- El estado de salud de los trabajadores del laboratorio (en especial los técnicos seropositivos para el VIH).

Además, es preciso tener en cuenta la capacidad del personal del laboratorio para controlar los peligros. Esa capacidad dependerá de su competencia, su pericia técnica y las prácticas microbiológicas de todos los técnicos del laboratorio; la integridad operacional del equipo de contención; los sistemas de protección del establecimiento, y la disponibilidad y el uso correcto de los debidos procedimientos operativos normalizados. En el *recuadro 1* se expone en detalle la forma de realizar una evaluación de riesgos de procedimiento. Los *cuadros 1 y 2* resumen las consideraciones empleadas para evaluar los riesgos de los laboratorios de tuberculosis en general y los riesgos asociados a la realización de distintos procedimientos en esos laboratorios. Estas consideraciones fueron utilizadas por el Grupo de Expertos para determinar los requisitos mínimos de bioseguridad necesarios para realizar distintos procedimientos en los laboratorios de tuberculosis.

El director del laboratorio es el responsable de asegurar que las precauciones mínimas de bioseguridad se apliquen de la forma descrita en el presente manual, y de que se disponga de procedimientos operativos normalizados, equipo e instalaciones apropiados para apoyar el trabajo que se está realizando. Las precauciones del laboratorio en materia de bioseguridad deben revisarse periódicamente y modificarse cuando proceda, particularmente después de la introducción de nuevos procedimientos o técnicas.

Para garantizar que el trabajo se realice en las condiciones más seguras, los resultados de las evaluaciones del riesgo deben dictar el equipo de laboratorio apropiado, el equipo de protección del personal y las características de diseño de las instalaciones que han de incorporarse a los procedimientos operativos normalizados respecto de cada procedimiento que se lleva a cabo en el laboratorio.

1.2 Identificación de peligros

Se denomina peligro a todo aquello que tenga potencial para provocar daños, con independencia de la probabilidad de que ocurra.

Puede tratarse de una situación física (como un incendio o una explosión), una actividad (como el uso de pipetas) o un material (como aerosoles que contienen bacilos infecciosos). A menos que se identifiquen eficazmente los peligros, no es posible evaluar de manera precisa los riesgos asociados al establecimiento y a sus actividades.

1.3 Determinación de los riesgos

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

Recuadro 1. Cómo realizar una evaluación de los riesgos de procedimiento en un laboratorio de tuberculosis

La evaluación de riesgos es un proceso subjetivo que exige tener en cuenta las características peligrosas de los microorganismos y los procedimientos; en ocasiones, los juicios se basan en información incompleta. Una evaluación de riesgos es sencillamente un examen detenido de aquello que puede ser nocivo para las personas en el lugar de trabajo; ello permite valorar si se han adoptado las suficientes precauciones o es preciso adoptar otras nuevas para prevenir daños.¹³ Los trabajadores y otras personas del laboratorio tienen derecho a estar protegidos de los daños provocados por no adoptar medidas de control razonables. Aunque no existe un enfoque normalizado para realizar una evaluación de riesgos, pueden seguirse los pasos que se enumeran a continuación para orientar el proceso.

1. **Determinar los peligros intrínsecos.** Las distintas cepas de *M. tuberculosis* entrañan distintos niveles de peligros individuales y colectivos. Las cepas farmacorresistentes, en particular las multirresistentes (MR)^a y las ultrarresistentes (XR)^b, suponen mayores riesgos debido a los daños más graves que causarían en una persona que se infectara, ya que los tratamientos pueden ser limitados o menos eficaces. Los laboratorios que trabajan con cepas con más probabilidades de ser farmacorresistentes, sea por la selección de pacientes o por la situación epidemiológica dominante, deben estudiar la posibilidad de establecer precauciones de mayor nivel.
2. **Decidir quién puede resultar afectado y cómo.** Los principales riesgos de procedimiento en un laboratorio de tuberculosis guardan relación con la generación de aerosoles que podrían ser inhalados por los trabajadores. Esos aerosoles están asociados a ciertos procedimientos y tienen más probabilidades de generarse según la frecuencia de realización de pruebas o la carga de trabajo, la uniformidad del material y su propensión a generar aerosoles (por ejemplo, líquidos viscosos frente a sólidos secos), la carga bacilar de los materiales empleados y la viabilidad de los bacilos. También es importante reconocer que la sensibilidad a la tuberculosis de las distintas personas del laboratorio puede ser diferente. Las personas con inmunidad reducida, a causa de ciertas medicaciones, la infección por el VIH o el embarazo, pueden correr mayor riesgo de infección. Si en un laboratorio de tuberculosis trabajan personas inmunodeficientes, es importante consultar con un médico especializado en riesgos ocupacionales que tenga conocimientos sobre la tuberculosis.
3. **Evaluar los riesgos y decidir las precauciones**
 - a. **Determinar la idoneidad de la estructura física.** La determinación final del nivel apropiado de riesgo de tuberculosis y de cualquier otra precaución que pudiera ser necesaria requiere un conocimiento completo de las prácticas, el equipo de seguridad y las medidas de protección de las instalaciones. Si una evaluación de riesgos indica que es preciso alterar las salvaguardias especificadas para el nivel seleccionado de riesgo de tuberculosis, un profesional con experiencia en gestión de riesgos biológicos debe validar este juicio de manera independiente y proporcionar al director del laboratorio información y recomendaciones pertinentes antes de reforzar la barrera secundaria de las instalaciones.

- b. Evaluar la competencia del personal en el empleo de prácticas seguras.** La protección de los trabajadores del laboratorio y otras personas asociadas a este dependerá en última instancia de los propios trabajadores. En la realización de una evaluación de riesgos, el director del laboratorio debe asegurar que los trabajadores hayan adquirido las competencias técnicas necesarias en el empleo de buenas prácticas microbiológicas y del equipo necesario para la manipulación en condiciones de seguridad de material potencialmente infeccioso, y que han desarrollado hábitos que sostienen la excelencia en la realización de esas prácticas. Asegurarse de que la persona es competente, tiene experiencia en la manipulación de agentes infecciosos, sabe utilizar técnicas de asepsia y CSB y tiene la capacidad de responder en caso de emergencia, además de estar dispuesta a aceptar la responsabilidad de protegerse a sí mismo y a otras personas, supone una importante garantía de que un técnico de laboratorio es capaz de trabajar de forma segura.
- c. Evaluar la integridad del equipo de seguridad.** El director del laboratorio debe asegurar que se dispone del equipo de seguridad necesario, y que este ha sido certificado por un profesional calificado en cuanto a su correcto funcionamiento; además, debe velar por que la integridad del equipo se compruebe periódicamente. Por ejemplo, una CSB que no ha sido certificada representa un riesgo potencialmente grave para los trabajadores que la utilizan y para otras personas del laboratorio. Además, debe instruirse a los trabajadores del laboratorio para que realicen comprobaciones sencillas a diario con el fin de cerciorarse de que el equipo de laboratorio funciona debidamente. Por ejemplo, deben verificar que las tapas de las cubetas de la centrifugadora no están agrietadas, y que los anillos están en su lugar y en buen estado. Todos los días se comprobarán las CSB para verificar que el aire entra correctamente en cada cámara.
- 4. Anotar las observaciones y tomar las medidas necesarias.** Las observaciones de la evaluación de riesgos y las precauciones que hay que adoptar deben quedar documentadas como parte de los procedimientos operativos normalizados. Los resultados de la evaluación de riesgos mostrarán que se realizó una comprobación correcta y se habrá identificado a las personas expuestas por realizar determinados procedimientos. Aunque algunos peligros como la producción de aerosoles no pueden eliminarse por completo en el laboratorio de tuberculosis, hay que aplicar precauciones razonables que hagan que el riesgo residual sea lo más bajo posible.
- 5. Revisar la evaluación y actualizarla en caso necesario.** Periódicamente deben revisarse los procedimientos y prácticas que tengan potencial de riesgo; esto debe convertirse en un protocolo normalizado con el fin de promover y establecer prácticas de laboratorio seguras. Las precauciones de bioseguridad que ya existan se revisarán al menos una vez al año; se enmendarán siempre que sea necesario después de una evaluación del riesgo, y siempre después de la introducción de un nuevo procedimiento o técnica.

^a MR: se refiere a la tuberculosis provocada por cepas de *Mycobacterium tuberculosis* que son resistentes al menos a la isoniazida y la rifampicina.

^b XR: se refiere a la tuberculosis MR en la que el microorganismo también es resistente a una fluoroquinolona y al menos un agente inyectable de segunda línea (amikacina, kanamicina o capreomicina).

Cuadro 1. Factores que deben tenerse en cuenta al realizar una evaluación de riesgos de procedimiento para determinar las precauciones necesarias en los laboratorios que reciben muestras para pruebas de tuberculosis

Factores importantes en todos los laboratorios de tuberculosis	Consideraciones
Patogenicidad	La tuberculosis no tratada tiene una tasa de mortalidad del 30%-50%; alrededor del 30% de las personas sometidas a exposición prolongada a un caso de tuberculosis infeccioso se infectan; del 5% al 10% de las personas infectadas acaban presentando tuberculosis
Vía de transmisión primaria	Inhalación de núcleos de gotículas infecciosas
Vías de transmisión secundarias (raras en el laboratorio)	Ingestión, inoculación directa
Estabilidad	Los bacilos tuberculosos pueden seguir siendo viables durante mucho tiempo en el medio ambiente
Dosis infecciosa	Estimada en 10 bacilos por inhalación en el ser humano; ^a en estudios animales, entre 1 y 1000 organismos, atendiendo a la susceptibilidad de la especie
Susceptibilidad de personas inmunocompetentes a contraer la tuberculosis	El 5%–10% de las personas inmunocompetentes infectadas contraen la tuberculosis a lo largo de su vida
Susceptibilidad de personas inmunodeficientes a contraer la tuberculosis	El 5%–10% de las personas inmunodeficientes infectadas contraen la tuberculosis por año
Riesgo de tuberculosis adquirida en la comunidad en entornos con carga elevada	Alto
Vacuna eficaz	No, ninguna disponible
Tratamiento eficaz contra cepas sensibles a distintos fármacos	Sí
Tratamiento eficaz contra cepas MR	Sí, pero más difíciles de tratar que las cepas sensibles
Tratamiento eficaz contra cepas XR	Pocas opciones terapéuticas

MR, multirresistente; XR, ultrarresistente.

^a Cifra extrapolada de estudios en animales.

Cuadro 2. Factores que deben tenerse en cuenta al realizar una evaluación de riesgos para determinar las precauciones necesarias en procedimientos concretos que se realizan en laboratorios de tuberculosis de distintos niveles

Factores que varían según el procedimiento o el tipo de laboratorio	Procedimiento		
	Baciloscopia directa del esputo	Tratamiento de muestras para cultivo	Manipulación de cultivos, antibiogramas
Riesgo relativo (IC 95%) de tuberculosis adquirida en el laboratorio en el personal de laboratorio, en comparación con personal que no trabaja en el laboratorio ¹⁰	1,4 (0,2–10,0)	7,8 (1,7–34,9)	22 (4,5–102,5)
Carga bacilar del material manipulado	Variable	Variable	Uniformemente alta: >10 ⁸ /ml
Viabilidad de los bacilos tuberculosos	Dudosa, presuntamente alta	El tratamiento puede inactivar el 90% de los bacilos	Alta
Probabilidad de que las manipulaciones que exige cada procedimiento generen aerosoles infecciosos ^{9,10}	Baja	Moderada	Alta

IC, intervalo de confianza.

Basándose en su evaluación de los riesgos de procedimiento que normalmente se producen en los laboratorios de tuberculosis en entornos con escasos recursos y carga elevada, el Grupo de Expertos estableció los requisitos mínimos necesarios para asegurar que las personas que realizan distintos procedimientos para diagnosticar la tuberculosis trabajan en condiciones de seguridad. Siempre que sea posible, cada laboratorio debe realizar su propia evaluación de riesgos para determinar qué otras medidas deben aplicarse para proteger debidamente a sus técnicos.

Las recomendaciones que se describen en el presente documento tienen por objeto informar las políticas nacionales y no sustituir o reemplazar otras normas o reglamentaciones nacionales. Los requisitos mínimos necesarios para reducir los riesgos en los laboratorios de tuberculosis se describen en los capítulos 3, 4 y 5.

1.4 Vigilancia de los riesgos y medidas de mitigación

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

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

- Inicio de nuevos trabajos o cambios en el programa de trabajo, o alteraciones en el flujo o el volumen de trabajo.
- Nueva construcción o modificaciones en los laboratorios, o introducción de nuevo equipo.
- Modificaciones en la plantilla (incluido el empleo de contratistas y otro personal no básico, o la necesidad de albergar a visitantes).
- Modificaciones en los procedimientos operativos normalizados o las prácticas de trabajo (por ejemplo, cambios en los protocolos de desinfección o gestión de desechos, suministro y uso de equipo de protección personal, cambios en los protocolos de entrada o salida).
- Un incidente en el laboratorio (por ejemplo, un derrame importante).
- Pruebas o sospecha de una infección adquirida en el laboratorio.
- Examen de las respuestas de emergencia y los requisitos de planificación de contingencias.
- Proceso existente de examen del sistema de gestión (por ejemplo, frecuencia anual u otra frecuencia apropiada y previamente determinada).

1.5 Programa de salud ocupacional de los empleados

Los programas de salud ocupacional para los empleados deben promover un lugar de trabajo seguro y saludable. Ello se consigue reduciendo al mínimo la posibilidad de exposición, detectando y tratando con diligencia las exposiciones y utilizando la información obtenida en incidentes y accidentes en el laboratorio para mejorar las precauciones de seguridad. Debe estudiarse la posibilidad de realizar un reconocimiento médico inicial y prever exámenes periódicos para todo el personal antes de que comience a trabajar en el laboratorio de tuberculosis. El personal médico que presta servicios de salud ocupacional debe conocer debidamente la naturaleza de los potenciales riesgos de salud en los laboratorios de tuberculosis y contar con expertos a los que consultar. Los servicios médicos deben estar fácilmente accesibles para permitir una evaluación y un tratamiento oportunos y apropiados.

1.6 Clasificación de los laboratorios de tuberculosis

Las instalaciones de laboratorio de tuberculosis pueden clasificarse en tres grandes niveles de riesgo de procedimiento, según las actividades que se realicen y los riesgos que lleven asociados:

- Bajo riesgo de tuberculosis.
- Riesgo moderado de tuberculosis.
- Alto riesgo de tuberculosis (como en un laboratorio de contención de tuberculosis).

RECOMENDACIÓN DEL GRUPO DE EXPERTOS

El Grupo de Expertos tomó nota de que el Manual de bioseguridad en el laboratorio de la OMS² recomienda que se utilice una cámara de seguridad biológica siempre que se manipulen muestras infecciosas. El Grupo de Expertos observó que con buenas técnicas microbiológicas, la baciloscopia directa del esputo entraña un riesgo reducido de generar aerosoles infecciosos, por lo que este procedimiento puede realizarse en una superficie de trabajo abierta, siempre que se asegure una ventilación adecuada. Esta recomendación está en consonancia con orientaciones anteriores.^{11,12}

La probabilidad de que se generen aerosoles es un factor clave que debe tenerse en cuenta a la hora de determinar el nivel de riesgo y las medidas de mitigación o control necesarias. La baciloscopia directa del esputo, cuando se realiza con buenas técnicas microbiológicas, supone un riesgo reducido de generar aerosoles infecciosos, por lo que este procedimiento puede realizarse en una superficie de trabajo abierta siempre que se asegure una ventilación adecuada. Las directrices de la OMS sobre servicios de laboratorios para el control de la tuberculosis^{11,12} proporcionan orientaciones y recomendaciones sobre las prácticas seguras que deben seguirse en la realización de baciloscopias directas.

Los procedimientos en los que se licuan muestras, como los que se utilizan durante la digestión y el tratamiento de muestras para la inoculación de cultivos, los antibiogramas directos o los ensayos directos con sondas en línea, presentan mayor riesgo de generación

de aerosoles que otros procedimientos, incluso cuando se utilizan buenas técnicas microbiológicas, de modo que deben realizarse en una CSB. La manipulación de cultivos para antibiogramas indirectos o ensayos indirectos con sondas en línea requiere procedimientos en los que la concentración de bacilos es muy elevada y existe un alto riesgo de generación de aerosoles, por lo que deben realizarse en una CSB en un laboratorio de contención de tuberculosis. En el *cuadro 3* se exponen las actividades apropiadas, la evaluación del riesgo de procedimiento y el nivel mínimo de precauciones necesarias para los laboratorios de tuberculosis de distintos niveles.

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

Cuadro 3. Niveles de precaución, actividades de laboratorio asociadas y evaluación de riesgos en los laboratorios de tuberculosis

Nivel de riesgo del laboratorio de tuberculosis ^a	Actividades del laboratorio	Evaluación del riesgo
Bajo riesgo	Baciloscopia directa del esputo; preparación de muestras para utilizarlas en un cartucho de prueba automatizada de amplificación de ácidos nucleicos (como el ensayo Xpert MTB/RIF)	Bajo riesgo de generación de aerosoles infecciosos a partir de las muestras; baja concentración de partículas infecciosas
Riesgo moderado	Tratamiento y concentración de muestras para la inoculación en medios de cultivo primarios; antibiograma directo (por ejemplo, ensayos de sonda en línea en esputo tratado)	Riesgo moderado de generación de aerosoles infecciosos a partir de las muestras; baja concentración de partículas infecciosas
Alto riesgo (laboratorio de contención de tuberculosis)	Manipulación de cultivos para la identificación; antibiogramas o ensayos de sonda en línea en aislados cultivados	Alto riesgo de generación de aerosoles infecciosos a partir de las muestras; alta concentración de partículas infecciosas

^a El nivel de riesgo se refiere a la probabilidad de que alguna persona del laboratorio sea infectada por *M. tuberculosis* de resultados de los procedimientos realizados en el laboratorio.

2. Medidas de bioseguridad esenciales en los laboratorios de tuberculosis

Todos los laboratorios de tuberculosis, con independencia de los procedimientos que realicen, deben poner en práctica un conjunto de medidas de bioseguridad esenciales con el fin de reducir al mínimo los riesgos. Esas medidas afectan a lo siguiente:

1. Los códigos de prácticas
2. El equipo
3. El diseño y las instalaciones del laboratorio
4. La vigilancia de la salud
5. La capacitación
6. La manipulación de desechos.

Según las pruebas específicas que realice el laboratorio y los resultados de la evaluación de riesgos de los procedimientos, pueden hacerse adiciones o modificaciones a las medidas que se describen a continuación con el fin de ajustarlas a los distintos niveles de riesgo (para más detalles, véanse los capítulos 3, 4 y 5).

2.1 Códigos de prácticas

Un código de prácticas describe las prácticas y los procedimientos de laboratorio indispensables para aplicar técnicas microbiológicas correctas (es decir, seguras). El director del laboratorio debe utilizar el código de prácticas para elaborar descripciones escritas de los procedimientos que deben seguirse para realizar los trabajos en condiciones de seguridad. Este manual de seguridad o de operaciones también debe definir los peligros conocidos y potenciales y especificar las prácticas y los procedimientos necesarios para reducir al mínimo los riesgos asociados a esos peligros.

Un equipo de laboratorio especializado siempre debe ir acompañado de procedimientos apropiados y una buena técnica microbiológica, pero nunca puede sustituirlos.

A continuación se exponen los conceptos más importantes que deben incluir los códigos de prácticas.

2.1.1 Acceso al laboratorio

- El símbolo y el signo internacionales de peligro biológico deben estar expuestos claramente en la puerta del laboratorio.
- Solo las personas autorizadas tendrán acceso a las zonas de trabajo del laboratorio.
- No se autorizará ni permitirá la entrada de niños en las zonas de trabajo del laboratorio.

2.1.2 Responsabilidades del director del laboratorio

- Incumbe al director del laboratorio asegurar que se elabore y adopte un sistema de gestión de la bioseguridad, así como un manual de seguridad o de operaciones y un conjunto de procedimientos operativos normalizados.
- El director debe asegurar que el personal está capacitado y que se ha evaluado su competencia técnica para la realización de distintos procedimientos.
- El personal debe ser advertido de los peligros especiales y tendrá la obligación de leer el manual de seguridad (o de operaciones) y seguir las prácticas y procedimientos normalizados. El director debe asegurarse de que todo el personal ha leído los manuales apropiados y ha firmado una declaración en la que afirma que los ha comprendido. Estará disponible en el laboratorio un ejemplar del manual de seguridad u operaciones más reciente, con su fecha de publicación.
- Los sistemas de calefacción, ventilación, aire y contención (flujo de aire direccional) deben tener un plan de mantenimiento permanente para asegurar su correcto funcionamiento en todo momento.

2.1.3 Equipo de protección personal

- El personal vestirá en todo momento ropa de protección mientras trabaja en el laboratorio. La ropa de protección no debe llevarse fuera de la zona del laboratorio (por ejemplo en la cantina, el cuarto para el café, las oficinas, la biblioteca, los vestuarios o los aseos). La ropa de laboratorio debe guardarse en un lugar separado de la ropa de calle. La ropa de laboratorio limpia se guardará en una zona del laboratorio distinta de la destinada a la ropa sucia. La ropa de laboratorio se cambiará al menos una vez a la semana, pero no se lavará en casa.
- Las batas de laboratorio deben tener manga larga y puño elástico (de longitud no inferior a 30 mm) y se cerrarán a la espalda. El personal del laboratorio debe tener a su disposición batas de distintas tallas. Cuando en el laboratorio el riesgo de infección por *M. tuberculosis* sea elevado, el personal vestirá monos de laboratorio.
- También pueden utilizarse batas de laboratorio de manga larga abotonadas al frente. Habrá distintas tallas a disposición del personal.
- Se utilizarán guantes en todos los procedimientos que requieran contacto directo o que puedan entrañar un contacto accidental con esputos, sangre, líquidos corporales u otro material potencialmente infeccioso. Después de utilizarlos, los guantes deben retirarse de forma aséptica y a continuación se lavarán las manos.
- El personal debe lavarse las manos después de cualquier incidente de contaminación manifiesto, cuando se termine una tarea en la que se haya manejado material infeccioso, y siempre antes de abandonar las zonas de trabajo del laboratorio. Las manos se enjabonarán concienzudamente, frotándolas bien durante al menos 15 segundos; después se enjuagarán en agua limpia y se

secarán con una toalla de papel limpia. Son preferibles los grifos automáticos o los que no requieren utilizar las manos, pero cuando esto no sea posible, se utilizará una toalla de papel para cerrar los grifos a fin de no volver a contaminar las manos limpias.

- Estará prohibido comer, beber, fumar, utilizar cosméticos y manipular lentes de contacto en el laboratorio.
- Estará prohibido almacenar alimentos o bebidas en cualquier lugar de las zonas de trabajo del laboratorio.
- No debe llevarse calzado abierto en el laboratorio.
- No deben utilizarse teléfonos móviles en el laboratorio.

2.1.4 Procedimientos

- Todos los procedimientos se realizarán de modo que se reduzcan al mínimo o se impida la formación de aerosoles y gotículas (véase el recuadro 2).
- Estará estrictamente prohibido pipetear con la boca.
- No se introducirá ningún material en la boca. Todas las etiquetas que se empleen en el laboratorio serán autoadhesivas.
- Se limitará el uso de agujas y jeringuillas, que nunca se emplearán para reemplazar las pipetas.
- La documentación escrita que se retire del laboratorio debe protegerse de la contaminación.
- Todos los materiales, muestras y cultivos contaminados deben descontaminarse debidamente antes de desecharlos o de limpiarlos para utilizarlos de nuevo.
- Todos los accidentes, derrames y potenciales exposiciones a material infeccioso deben comunicarse al director del laboratorio.

Recuadro 2. Cómo reducir al mínimo la producción de aerosoles

El uso de controles técnicos (por ejemplo, cámaras de seguridad biológica (CSB) y ventilación de las salas) y de protección respiratoria personal (respiradores) puede ayudar a prevenir la tuberculosis adquirida en el laboratorio por inhalación de aerosoles infecciosos. Sin embargo, la consideración más importante para reducir el riesgo de infección en el laboratorio es reducir al mínimo la producción de aerosoles. **Algunas de las medidas prácticas para reducir la creación de aerosoles se aplican a todos los laboratorios de tuberculosis, mientras que otras se aplican solo a los laboratorios que se consideran de riesgo moderado o alto.**

En todos los laboratorios

- Al preparar frotis, es preferible utilizar palillos de madera o asas desechables en lugar de asas reutilizables, que es preciso esterilizar por calor.
- Si se emplea un asa reutilizable, debe esterilizarse por calor en un microincinerador cerrado o un mechero Bunsen. Las asas reutilizables se limpiarán en un frasco de arena y alcohol antes de la esterilización.
- Cuando se prepare un frotis utilizando un palillo o asa, se harán movimientos lentos y suaves para evitar la creación de aerosoles.
- No se moverán ni fijarán con calor los frotis hasta que se hayan secado al aire por completo.

En los laboratorios de riesgo de tuberculosis moderado y alto

- No se expulsarán con fuerza líquidos infecciosos de una pipeta.
- No se introducirá con fuerza aire de una pipeta en líquidos potencialmente infecciosos.
- Cuando se utilice una pipeta para añadir un reactivo a un líquido potencialmente infeccioso, se apoyará la pipeta contra la pared interior del recipiente y se dejará salir el líquido suavemente.
- Se evitará siempre romper una burbuja o película en un tubo de cultivo abierto. Para ello se colocará de nuevo el tapón, se darán unos golpes suaves en la parte superior del tubo, se dejará el tubo a un lado y se permitirá que los posibles aerosoles que se hayan generado se depositen antes de abrirlo de nuevo.
- Cuando se centrifugue una muestra o un cultivo, se hará en una cubeta de seguridad cerrada o un rotor cerrado para evitar la liberación de aerosoles a la centrifugadora y el laboratorio. Las cubetas de seguridad o los rotores se abrirán dentro de una CSB.
- Después de centrifugar, agitar con vórtex o mezclar muestras o cultivos, se colocarán los recipientes en la CSB y se dejarán reposar durante un mínimo de 10 minutos para permitir que los aerosoles se depositen antes de abrir los recipientes.
- Nunca se agitará con vórtex un tubo abierto; habrá que asegurarse siempre de que los tapones de rosca están bien apretados en los tubos antes de colocar en el vórtex o agitar. No se agitarán con vórtex tubos tapados con algodón o tapón de goma.
- No se mezclarán ni harán suspensiones de material infeccioso llenando y vaciando repetidas veces una pipeta.
- Los tubos agitados con vórtex se dejarán reposar durante 10 a 15 minutos para reducir al mínimo la propagación de aerosoles, especialmente si los tubos contienen altas concentraciones de bacilos tuberculosos.
- Al decantar líquidos, hay que asegurarse de que los tubos se sujetan con cierto ángulo de manera que el líquido se deslice por el lateral del tubo, o se desechará el recipiente para reducir al mínimo las posibles salpicaduras.
- Se insertará solamente la punta desechable de una micropipeta en un tubo o contenedor; NUNCA se insertará el cilindro de la micropipeta.

Se mantendrá un registro de esos incidentes y de las medidas correctivas adoptadas para la prevención en el futuro.

- Se elaborarán y estarán disponibles en el laboratorio procedimientos operativos normalizados para la gestión de accidentes y derrames. Se ofrecerá capacitación práctica al menos una vez al año para garantizar que el procedimiento se ha adoptado y se convierte en una respuesta automática.
- El empaquetado y el transporte de muestras debe seguir la reglamentación nacional o internacional aplicable.
- Se elaborarán procedimientos operativos normalizados y se formará al personal para que adquiera competencia en su utilización. Los manuales que explican los procedimientos deben estar fácilmente disponibles en distintas partes del laboratorio. Los procedimientos deben revisarse una vez al año. Los procedimientos operativos incluirán detalles de las evaluaciones de riesgos y de las medidas de mitigación y control definidas y aplicadas.

2.1.5 Zonas de trabajo

- El laboratorio debe dividirse en zonas «funcionalmente limpias» y «potencialmente contaminadas»; las zonas limpias se reservan para las tareas administrativas y de preparación. El acceso a las zonas limpias y las zonas contaminadas debe ser decidido y controlado por el director del laboratorio.
- El laboratorio se mantendrá ordenado, limpio y libre del material y el equipo que no se utilicen para realizar las tareas ordinarias. El equipo y el material que no se están utilizando o que no funcionan deben ser retirados de las zonas de trabajo.
- Las superficies de trabajo se descontaminarán después de todo derrame de material potencialmente infeccioso y al final de cada sesión de trabajo. (Para

más información, véase la sección sobre derrames en el capítulo 8.)

2.2 Equipo

El equipo se seleccionará teniendo en cuenta determinados principios generales:

- Estará diseñado para impedir o limitar el contacto entre el operario y el material infeccioso.
- Estará construido de materiales impermeables a los líquidos y resistentes a la corrosión.
- Estará hecho de materiales lisos sin bordes cortantes ni partes móviles no protegidas.
- Estará diseñado, construido e instalado para facilitar un manejo sencillo así como su mantenimiento, limpieza, descontaminación y pruebas de certificación. Deben evitarse el vidrio y otros materiales rompibles siempre que sea posible.

Además del equipo específico necesario para laboratorios de distintos niveles de riesgo (descrito en los capítulos 3, 4 y 5), se ofrece más información sobre las CSB en el capítulo 6 e información sobre otro equipo de seguridad en el capítulo 7. En los laboratorios donde se considera que el riesgo de infección es moderado o alto, la CSB proporciona la contención primaria de los aerosoles infecciosos generados por ciertos procedimientos.

2.3 Diseño e instalaciones

El diseño y la construcción apropiados de las instalaciones del laboratorio contribuyen a la protección de todo el personal del laboratorio y actúa como barrera que protege a la comunidad de los aerosoles tuberculosos que puedan crearse en el laboratorio. Las características concretas del laboratorio, incluida la separación de las distintas zonas y el sistema de ventilación, son medidas de contención secundaria. Las barreras secundarias que se recomiendan para un laboratorio dependen

de los procedimientos que se lleven a cabo y del riesgo de transmisión que lleve asociado.

En un laboratorio de tuberculosis de bajo riesgo, las barreras secundarias incluyen separar del público la zona de trabajo de laboratorio, asegurar una gestión apropiada de los desechos y proporcionar medios para el lavado de manos. En un laboratorio de tuberculosis de alto riesgo, la presencia de una antesala que separe el laboratorio de las zonas públicas sirve como barrera secundaria adicional.

El director del laboratorio es responsable de poner en pie medios proporcionales a las funciones y el nivel de riesgo del laboratorio.

Al diseñar un laboratorio de tuberculosis debe prestarse especial atención a ciertas cuestiones comunes que se sabe plantean problemas de seguridad, como el uso de superficies permeables, el exceso de personal en las zonas de trabajo, la posibilidad de que personas no autorizadas entren en el laboratorio, el flujo de personal y pacientes cerca o dentro de laboratorio, y un flujo de trabajo mal diseñado.

En la lista que sigue se enumeran los rasgos de diseño básicos que se recomiendan para un laboratorio de tuberculosis.

- Se necesitan una ventilación adecuada y un flujo de aire direccional.
- Debe proporcionarse espacio amplio para la realización del trabajo de laboratorio en condiciones de seguridad, así como para la limpieza y el mantenimiento.
- Las paredes, los techos y los suelos deben ser lisos y fáciles de limpiar. Los suelos serán antideslizantes.
- Las superficies de trabajo deben ser resistentes al agua y a las sustancias químicas y los desinfectantes que normalmente se emplean en el laboratorio; también deben ser resistentes al calor moderado.
- La iluminación debe ser suficiente para todas las actividades. Deben evitarse los reflejos y los brillos incómodos. No deben utilizarse cortinas.
- El mobiliario de laboratorio debe ser sólido, estar hecho de materiales resistentes y poder descontaminarse fácilmente. No debe utilizarse ningún mueble tapizado o entelado.
- Los espacios abiertos entre mesas de trabajo, muebles y equipo y los espacios inferiores deben ser accesibles para permitir su limpieza.
- El espacio de almacenamiento debe ser suficiente para contener el material de uso inmediato e impedir la acumulación en las superficies de trabajo y en los pasillos exteriores al laboratorio. Debe ofrecerse espacio adicional para el almacenamiento a largo plazo que se situará de manera cómoda fuera de las zonas de trabajo.
- Se reservará una zona para la preparación, la manipulación y el almacenamiento en condiciones de seguridad de ácidos, tintes y disolventes.
- Se preverá fuera de las zonas de trabajo un lugar donde guardar la ropa de calle y los objetos personales.
- Se dispondrán espacios para comer y beber y para descansar fuera de las zonas de trabajo.
- En cada sala de laboratorio habrá un lavabo para lavar las manos con jabón, de preferencia cerca de la salida. Se recomiendan los grifos automatizados o que puedan manejarse sin las manos. Cerca de cada lavabo habrá un dispensador de toallas de papel.
- Las puertas del laboratorio tendrán un panel de cristal y cumplirán la normativa de incendios; se cerrarán solas automáticamente.
- Habrá un suministro eléctrico fiable y adecuado.

2.4 Capacitación

Los errores humanos y las técnicas descuidadas pueden comprometer las mejores salvaguardias establecidas para proteger a los trabajadores del laboratorio. Un personal bien formado, competente y que tenga presente la seguridad es indispensable para prevenir las infecciones adquiridas en el laboratorio, así como los incidentes y accidentes.

Todo el personal debe estar capacitado en materia de seguridad; la capacitación debe incluir la revisión del código de prácticas y las prácticas y los procedimientos incorporados al manual de seguridad. El director del laboratorio debe velar por que el personal reciba esa capacitación y por que se evalúe su competencia técnica en la realización de diferentes procedimientos. La capacitación siempre incluirá información sobre las prácticas seguras que deben seguirse para evitar o reducir al mínimo los riesgos de inhalación, ingestión e inoculación. También incluirá información sobre cómo descontaminar y desechar debidamente el material infeccioso.

2.5 Manipulación de desechos

Los procedimientos de gestión de desechos deben cumplir todos los requisitos y normas locales o nacionales pertinentes. Se entiende por desecho todo aquello que debe ser eliminado. El principio fundamental en la reducción al mínimo de los riesgos derivados de los desechos es que todo el material infeccioso debe ser descontaminado, incinerado, preparado para ser enterrado o tratado en la autoclave. Deben utilizarse bolsas de basura para separar los desechos. La mayor parte de los recipientes de vidrio, instrumentos y ropas de laboratorio podrán ser reutilizados o reciclados.

Las principales preguntas que hay que hacer antes de retirar cualquier objeto o material de laboratorio son las siguientes:

- ¿Han sido los objetos o materiales eficazmente descontaminados o desinfectados mediante procedimientos apropiados?

- En caso contrario, ¿se han introducido en un recipiente cerrado o bolsa cerrada para ser inmediatamente incinerados *in situ* o para tratarlos en la autoclave?
- ¿Supone la eliminación de materiales contaminados algún peligro o riesgo potencial añadido, sea biológico o de otro tipo, para las personas que llevan a cabo los procedimientos de eliminación o pueden entrar en contacto con esos materiales fuera de las instalaciones?

La incineración resulta útil para eliminar desechos de laboratorio, con independencia de que hayan sido descontaminados o no. La incineración de material infeccioso es una alternativa al tratamiento en autoclave solo si el director del laboratorio puede asegurar que los procedimientos de incineración que se siguen son correctos.

2.5.1 Incineración

La incineración correcta de residuos peligrosos exige un medio eficiente para controlar la temperatura y una cámara de combustión secundaria. Muchos incineradores, especialmente los que solo tienen una cámara de combustión, son insuficientes para tratar material infeccioso o plástico. Si se utiliza este tipo de incineradores, puede suceder que esos materiales no se destruyan por completo y los efluentes de la chimenea pueden contaminar la atmósfera con microorganismos, sustancias químicas y vapores tóxicos. Sin embargo, existen muchas configuraciones satisfactorias para las cámaras de combustión. En condiciones ideales, la temperatura en la cámara primaria debe ser de al menos 800°C, y en la cámara secundaria de al menos 1000°C. Para alcanzar las temperaturas necesarias, los incineradores deben tener un diseño adecuado y manejarse y mantenerse debidamente.

Los materiales destinados a la incineración, aunque hayan sido descontaminados, han de ser transportados hasta el incinerador en bolsas, preferiblemente de plástico. Los operarios han

de recibir las debidas instrucciones acerca de la carga del incinerador y el control de la temperatura. El manejo eficiente de un incinerador depende de que se disponga de la combinación adecuada de materiales en los desechos que se van a incinerar.

Se han manifestado preocupaciones en cuanto a los posibles efectos ambientales negativos de los incineradores y siguen haciéndose esfuerzos para lograr que los incineradores sean menos nocivos para el medio ambiente y eficientes desde el punto de vista energético. Las autoclaves son una alternativa a la incineración.

2.5.2 Tratamiento en autoclave

Deben utilizarse autoclaves diferentes para esterilizar soluciones y recipientes de vidrio (material limpio) y para descontaminar material infeccioso.

Los siguientes materiales son adecuados para el tratamiento en autoclave:

- Instrumentos, objetos de vidrio, medios o soluciones destinados al uso estéril en el laboratorio general de diagnóstico de la tuberculosis;
- Cultivos de micobacterias para ser eliminados como desechos;
- Todo el material infeccioso de laboratorios de contención de la tuberculosis en los que se realizan cultivos de micobacterias.
- Cada vez que se utilice la autoclave debe anotarse el tiempo, la temperatura y la presión para comprobar si está funcionando debidamente. Se utilizarán indicadores biológicos regularmente con el fin de validar la capacidad de la autoclave para lograr la esterilización.

2.5.3 Desinfección

La acción microbicida de los desinfectantes depende de la población de organismos que haya que matar, la concentración utilizada, la duración del contacto y la presencia de residuos orgánicos.

Los desinfectantes registrados cuyo uso se recomienda en los laboratorios de tuberculosis son los que contienen fenoles, cloro o alcohol. En general se seleccionan atendiendo al material que haya que desinfectar.

Fenol

El fenol debe emplearse a una concentración del 5% en agua. Sin embargo, la inhalación y la exposición dérmica al fenol son sumamente irritantes para la piel, los ojos y las mucosas. Se considera que la ingestión de fenol es tóxica. Debido a su toxicidad y su olor, generalmente se utilizan derivados de fenol en lugar de fenol puro.

Las soluciones de fenol se utilizan para descontaminar equipo y objetos de uso único antes de desecharlos.

Cloro

El cloro está ampliamente disponible. Las soluciones de hipoclorito sódico (lejía doméstica) contienen 50 g/l de cloro disponible, por lo que deben diluirse en la proporción 1:50 o 1:10 en agua para obtener concentraciones finales de 1 g/l o 5 g/l. La lejía, sea a granel o diluida, debe almacenarse en una zona oscura y bien ventilada. En buenas condiciones de almacenamiento, la solución de 50 g/l puede conservarse hasta tres meses; las soluciones diluidas deben prepararse cada día.

La lejía puede usarse como desinfectante de uso general y para remojar material contaminado sin metales; dada su naturaleza sumamente alcalina, puede corroer los metales.

Alcohol

Los alcoholes, por ejemplo el etanol (etanol desnaturalizado, alcoholes metilados) o el isopropil alcohol, se utilizan diluidos al 70%. Son sustancias volátiles e inflamables que no deben utilizarse cerca de una llama. Las soluciones se almacenarán en recipientes adecuados para evitar la evaporación. Las botellas con soluciones de alcohol deben etiquetarse claramente para no introducir las en la autoclave.

En las superficies de trabajo del laboratorio y las CSB puede utilizarse para las tareas rutinarias de descontaminación una solución de alcohol al 70%. Una de las grandes ventajas de las soluciones acuosas de alcohol es que no dejan residuo alguno en los objetos tratados. Cuando se contaminan las manos, un enjuagado con alcohol o isopropil alcohol al 70% seguido por un lavado minucioso con agua y jabón es eficaz.

Ácido peracético

El ácido peracético se caracteriza por una acción rápida contra todos los microorganismos. Sus ventajas especiales son que no genera productos de descomposición nocivos, mejora la eliminación de material orgánico y no deja residuos. Las soluciones de trabajo (concentración al 2%) son estables durante las 48 horas que siguen a la preparación.

2.6 Procedimientos de eliminación de material contaminado

Debe adoptarse un sistema para identificar y separar el material infeccioso y los recipientes que lo contienen. Entre las categorías pueden figurar las siguientes:

- Desechos no contaminados (infecciosos) que pueden utilizarse, reciclarse o eliminarse de la misma forma que los residuos domésticos generales.
- Material punzocortante contaminado (infeccioso), como vidrio roto, jeringuillas y portaobjetos.
- Material infeccioso contaminado que debe eliminarse mediante enterramiento, incineración o tratamiento en la autoclave.

2.6.1 Objetos de vidrio rotos y portaobjetos

Los portaobjetos rotos y los portaobjetos usados deben colocarse en un recipiente para material punzocortante. Estos recipientes deben ser resistentes a los cortes y las perforaciones y

tener una tapadera que encaje perfectamente; no deben llenarse por completo. Cuando estén llenos hasta las tres cuartas partes, se colocarán en recipientes destinados a residuos infecciosos y se incinerarán. Los recipientes para la eliminación de material punzocortante no deben desecharse en un vertedero a menos que hayan sido incinerados o tratados en la autoclave. Los portaobjetos usados no deben reutilizarse.

2.6.2 Material contaminado o potencialmente infeccioso destinado a la eliminación

Todos los cultivos que den resultado positivo para *M. tuberculosis* deben tratarse en la autoclave antes de su eliminación. Debe haber una autoclave en las proximidades o en el interior del laboratorio en el que se realizan cultivos de *M. tuberculosis*.

Todo el material contaminado (es decir, potencialmente infeccioso) salvo el material punzocortante debe introducirse en bolsas de plástico desechables antes de transportarlas para su incineración. Si es posible, el material procedente de laboratorios de tuberculosis no debe desecharse en un vertedero ni siquiera después de la descontaminación.

En cada puesto de trabajo habrá recipientes para desechos o bandejas o tarros irrompibles (por ejemplo, de plástico). Se utilizarán desinfectantes apropiados y eficaces contra *M. tuberculosis*; el material de desecho debe permanecer en contacto con el desinfectante (es decir, no debe estar protegido por burbujas de aire) durante el tiempo apropiado, según el desinfectante que se emplee. Los recipientes para desechos deben descontaminarse y lavarse antes de reutilizarlos.

En los laboratorios en los que el riesgo de infección por *M. tuberculosis* es bajo, los recipientes de plástico para esputos, los cartuchos utilizados para el análisis molecular (por ejemplo, los cartuchos de Xpert MTB/RIF) y los palillos aplicadores de madera deben retirarse del laboratorio en bolsas de desechos selladas y ser incinerados.

3. Laboratorios de tuberculosis de bajo riesgo

Las recomendaciones que figuran en este capítulo son los requisitos **mínimos** necesarios para limitar o reducir los riesgos de infección en los laboratorios que realizan procedimientos concretos que se consideran con bajo riesgo de propagar la tuberculosis. Pueden considerarse necesarias otras medidas después de una evaluación de riesgos del lugar concreto.

Los laboratorios de bajo riesgo que siguen los requisitos mínimos de bioseguridad descritos en este capítulo pueden realizar en condiciones de seguridad ciertos procedimientos con muestras de esputo, dado que el carácter viscoso del esputo no favorece la generación de aerosoles cuando se utilizan buenas técnicas microbiológicas. Los laboratorios de bajo riesgo pueden:

- Manipular muestras de esputo para la baciloscopia directa.
- Manipular muestras de esputo para el ensayo Xpert MTB/RIF® (Cepheid, Sunnyvale Ca., EE.UU.).

Aunque al abrir los recipientes de esputo y preparar un frotis directo pueden producirse aerosoles, el riesgo de transmisión que entrañan esos procedimientos es insignificante en comparación con los aerosoles que se producen en un solo golpe de tos no protegido. Apenas hay pruebas epidemiológicas de que la preparación de un frotis directo lleve asociado un riesgo excesivo medible de adquisición de la infección por *M. tuberculosis*.^{14,15}

Nota: La recogida de muestras de esputo de los pacientes no debe realizarse en el laboratorio.

3.1 Factores que aumentan el riesgo de infección

Además de los riesgos generales que se abordan mediante las medidas de bioseguridad que se describen en el capítulo 2, en el laboratorio de tuberculosis de bajo riesgo también pueden

darse las siguientes situaciones, todas las cuales aumentan el riesgo:

- Uso inadecuado de las zonas de trabajo.
- Fugas y derrames de los recipientes de muestras.
- Falta de cuidado en la manipulación de muestras, lo que puede generar aerosoles más adelante.
- Agitación energética de las muestras.
- Insuficiente ventilación o iluminación.

3.2 Características específicas y medidas de bioseguridad mínimas indispensables

Para hacer frente a riesgos potenciales concretos, en un laboratorio de tuberculosis de bajo riesgo deben establecerse los siguientes requisitos de bioseguridad.^{14,15}

- 1. Uso de los lugares de trabajo:** la mesa utilizada para tratar las muestras para baciloscopia del esputo o el ensayo Xpert MTB/RIF debe estar separada de las zonas utilizadas para recibir las muestras y de las zonas administrativas utilizadas para la documentación y los teléfonos.
- 2. Ventilación:** Los frotis realizados directamente en muestras de esputo y el tratamiento de muestras para el ensayo Xpert MTB/RIF pueden realizarse en una mesa de trabajo que se encuentre en una zona debidamente ventilada siempre que se utilicen técnicas microbiológicas apropiadas.

La **ventilación adecuada** para los laboratorios de tuberculosis se describe típicamente como un flujo de aire direccional con entre 6 y 12 intercambios de aire por hora (IAH) (véase el recuadro 3). El flujo de aire direccional se refiere al aire que fluye de las zonas limpias hacia las

zonas en las que pueden generarse aerosoles; ese aire debe extraerse de manera segura de la habitación. La expresión «intercambios de aire por hora (IAH)» se refiere al número de veces que el volumen de aire de la habitación se evacua y se sustituye por aire limpio cada hora. Cuando se utiliza ventilación mecánica, el cálculo de los IAH es fácil.

Para los procedimientos de bajo riesgo, la ventilación natural debería ser suficiente, siempre que el aire se aleje del técnico y pase sobre la zona del trabajo y el material potencialmente infeccioso, para a continuación dirigirse fuera de las zonas ocupadas de la sala y al exterior del laboratorio; ese flujo debe ofrecer protección de los aerosoles que pudieran generarse en la zona de trabajo. Para tener un control direccional de los contaminantes presentes en el aire, este debe moverse al menos a 0,5 m/s.¹⁶

La ventilación puede lograrse abriendo ventanas si el clima local lo permite. Cuando el clima impida abrir las ventanas, debe estudiarse la posibilidad de utilizar sistemas de ventilación mecánica que proporcionen una entrada de aire hacia el interior sin recirculación en la sala. Solo deben instalarse acondicionadores de aire una vez que se haya examinado la dirección del flujo de aire. Es importante asegurar que el aire del laboratorio circule de modo que se aleje de los técnicos.

Los puestos de trabajo ventilados son otra posibilidad que puede tenerse en cuenta para la contención de aerosoles en la baciloscopia directa del esputo o el ensayo Xpert MTB/RIF en aquellas situaciones en las que la ventilación natural o mecánica no resulte práctica. Existen orientaciones y especificaciones para puestos de trabajo ventilados.¹⁷

RECOMENDACIÓN DEL GRUPO DE EXPERTOS

No se han definido en el plano internacional normas para la adecuada ventilación de los laboratorios. El Grupo de Expertos recomendó como ventilación adecuada para los laboratorios de tuberculosis una definición pragmática del flujo de aire direccional, de modo que incluya entre 6 y 12 intercambios de aire por hora (IAH). El Grupo de Expertos señaló que no hay pruebas que sugieran que un número superior de IAH reduzca el riesgo de infección adquirida en el laboratorio y reconoció que los costos de los sistemas de ventilación de mayor capacidad son considerables.

Recuadro 3. Determinación de las necesidades de ventilación

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

Tasa de ventilación – cantidad de aire exterior que entra en el laboratorio;

Dirección del flujo de aire – dirección general del aire que circula en el laboratorio y que debe dirigirse de las zonas funcionalmente limpias a las zonas sucias;

Diseño del flujo de aire – el aire exterior debe llegar a cada zona del laboratorio y ser evacuado de esta de manera eficiente.

Para ventilar un laboratorio pueden utilizarse tres métodos: natural, mecánico e híbrido (mixto).

Ventilación natural

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

Ventilación mecánica

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

Ventilación híbrida (mixta)

La ventilación híbrida (mixta) depende de las fuerzas naturales para obtener la tasa de flujo de aire deseada. Utiliza ventilación mecánica cuando el flujo de la ventilación natural es demasiado bajo. Cuando la ventilación natural por sí sola no es suficiente, pueden instalarse extractores para aumentar la ventilación en los laboratorios que realizan exámenes microscópicos de bacilos ácidosresistentes. Sin embargo, los ventiladores deben instalarse de modo que el aire de la sala pueda ser expulsado directamente al exterior, a través de una pared o del techo. El número y el tamaño de extractores necesarios depende de la tasa de ventilación deseada, que debe calcularse antes de emplear este método (véase el recuadro 4).

3. Reducir al mínimo la generación de aerosoles:

la preparación de muestras de esputo para la baciloscopia directa o para el ensayo Xpert MTB/RIF en teoría tiene el potencial de generar aerosoles. Sin embargo, dado que las muestras de esputo suelen ser viscosas, la generación de aerosoles puede reducirse al mínimo utilizando buenas técnicas microbiológicas. Debe procederse con cuidado al abrir los recipientes de muestras, que quizá hayan sido agitados durante su transporte al laboratorio. Debe evitarse que el material infeccioso chisporrotee cuando se secan los frotis en un mechero Bunsen. Es preferible que los frotis se sequen al aire y utilizar una llama para fijarlos solo

cuando estén completamente secos. Para preparar los frotis es preferible utilizar palillos aplicadores de madera o asas desechables.

4. Manipulación de recipientes de muestras con fugas:

la integridad de los recipientes de muestras que se llevan al laboratorio debe comprobarse a su llegada. Se desecharán los recipientes que presenten fugas y se obtendrán nuevas muestras. Si una muestra apropiada permanece en un recipiente con fugas, este puede descontaminarse con un desinfectante apropiado antes de su tratamiento. Las muestras deben transportarse al laboratorio en posición vertical para reducir al mínimo los derrames.

5. Equipo de protección personal: cada país y cada laboratorio deben evaluar sus riesgos y decidir el nivel de protección personal apropiado para los distintos procedimientos que se realizan. En todo momento se usarán batas de laboratorio protectoras en el laboratorio. Se usarán guantes en todos los procedimientos que conlleven contacto directo o puedan conllevar un contacto accidental con esputos, sangre, líquidos

corporales u otro material potencialmente infeccioso. Los guantes se cambiarán con regularidad y no deben reutilizarse. El personal se lavará las manos siempre antes de abandonar el laboratorio.

No es necesario utilizar respiradores durante la preparación de frotis de esputo.

Recuadro 4. Cómo determinar la ventilación adecuada en un laboratorio de tuberculosis que utilice ventilación mecánica

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

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

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

Q = tasa volumétrica del flujo de aire en m³/h

V = velocidad del aire en m/s

A = superficie de la abertura en m² (por ejemplo, 10 cm [0,1 m] x 10 cm = 0,01 m²)

3600 = conversión de horas en segundos;

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

$$\text{Vol} = \text{Longitud} \times \text{Anchura} \times \text{Altura} = \text{m}^3 \text{ (medida en metros);}$$
7. calcular los intercambios de aire por hora

$$\text{IAH} = Q/\text{Vol}.$$

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

4. Laboratorios de tuberculosis de riesgo moderado

Las recomendaciones que figuran en este capítulo son los requisitos **mínimos** necesarios para limitar o reducir los riesgos de infección en los laboratorios que realizan procedimientos concretos que se consideran con riesgo moderado de propagar la tuberculosis. Pueden considerarse necesarias otras medidas después de una evaluación de riesgos del lugar concreto.

Los laboratorios de riesgo moderado que aplican los requisitos mínimos de bioseguridad descritos en el presente capítulo pueden realizar en condiciones seguras ciertos procedimientos que entrañan un riesgo moderado de aerosolización de muestras con una concentración relativamente reducida de partículas infecciosas. Los laboratorios de riesgo moderado pueden:

- Tratar muestras para la inoculación en medios de cultivo sólido primario;
- Realizar antibiogramas directos (por ejemplo, ensayos directos de sonda en línea, observación microscópica de la farmacosenibilidad (MODS), ensayo de la nitrato reductasa en espumo tratado).

4.1 Factores que aumentan el riesgo de infección

Además de los riesgos generales que se abordan mediante las medidas de seguridad descritas en el capítulo 2 (como la presencia de personas no autorizadas en el laboratorio, el pipeteo con la boca, el desorden en los puestos de trabajo, la gestión indebida de los desechos), en el laboratorio de tuberculosis clasificado como de riesgo moderado también pueden presentarse las siguientes situaciones, todas las cuales aumentan el riesgo:

- Se trabaja en zonas mal ventiladas o mal iluminadas.
- Mantenimiento inadecuado o falta de certificación de las CSB.

- Conductos mal instalados en las CSB.
- Presencia en el entorno de trabajo de polvo que obstruye los filtros de partículas de alta eficiencia (HEPA) de las CSB.
- Poco cuidado en la manipulación de las muestras, lo que puede producir aerosoles.
- Utilización indebida del agitador vorticial (por ejemplo, si se utiliza fuera de la CSB).
- Roturas o fugas de los recipientes que contienen las muestras durante las operaciones de centrifugación.
- Abertura de las cubetas de la centrifugadora fuera de la CSB.
- Falta de advertencias adecuadas respecto de los peligros biológicos o información sobre la persona de contacto durante una emergencia.
- Mal funcionamiento de los sistemas de refrigeración o de calefacción.

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

4.2 Características específicas y medidas de bioseguridad mínimas indispensables

En los laboratorios donde existe un riesgo moderado de infección hay dos niveles de contención: la cámara de seguridad biológica (CSB) (contención primaria) y el laboratorio propiamente dicho (contención secundaria). Para hacer frente a los riesgos específicos asociados a un laboratorio de riesgo moderado, deben establecerse las siguientes medidas de mitigación y control.

1. **Cámaras de seguridad biológica:** todas las operaciones de tratamiento

y digestión de las muestras de esputo y la manipulación de muestras de esputo licuado deben llevarse a cabo en una CSB. La CSB es la forma primaria de contención mientras las muestras están siendo tratadas para la inoculación de cultivos o para la realización de antibiogramas. Por consiguiente, una buena técnica microbiológica y el uso adecuado de las CSB son fundamentales para que el trabajo se realice en condiciones de seguridad. El uso indebido de las CSB permite que se liberen aerosoles al laboratorio. (Véase el capítulo 6 para más información sobre las CSB.)

Las CSB deben situarse lejos de las zonas de paso y fuera de las corrientes cruzadas de puertas y sistemas de entrada de aire. El aire expulsado de una CSB debidamente mantenida habrá pasado por los filtros HEPA situados en la parte superior y de ese modo podrá ser expulsado a la sala o conducido hasta el exterior, según el grado de complicación del sistema de ventilación que se haya instalado.

Debe haber espacio suficiente entre la CSB y el techo para asegurar la libre circulación del aire que sale de ella.

Se recomiendan CSB de las clases I o II; deben estar diseñadas por un fabricante certificado y ser objeto de un mantenimiento periódico. Debe certificarse que funcionan debidamente *in situ* al menos una vez al año. Son preferibles las CSB de clase II tipo A2 porque protegen tanto al personal como los medios que se están inoculando (protección del producto).

Las CSB de clase II tipo B son adecuadas pero no se recomiendan en los laboratorios de tuberculosis nuevos porque requieren conductos rígidos. Además, son más difíciles de equilibrar y mantener para asegurar su debido funcionamiento. Los conductos rígidos exigen que el sistema de extracción de aire del edificio esté exactamente adaptado a los requisitos de flujo de aire del fabricante.

En aquellos lugares donde el suministro eléctrico sea poco fiable, hay que contar con un suministro eléctrico ininterrumpido para la cámara y el ventilador del extractor, de modo que el personal del laboratorio tenga tiempo suficiente para terminar con seguridad toda tarea peligrosa y para que el aire contaminado que se encuentra dentro de la cámara sea expulsado al exterior. En los conductos de las CSB deben instalarse dispositivos que impidan el retroceso del aire con el fin de que el aire potencialmente contaminado no vuelva a entrar en el laboratorio en caso de corte eléctrico. Conviene disponer de un generador de reserva para la CSB y otro equipo esencial, como las incubadoras y los congeladores.

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

Un medio sencillo de crear un flujo de aire unidireccional es colocar una abertura de ventilación que permita que el aire entre en la zona limpia del laboratorio y obligue a funcionar de manera continua una o más CSB equipadas con acopladores de tipo «dedal» para llevar el aire hacia la zona sucia, evacuar el aire del laboratorio y expulsarlo fuera del edificio. Debe instalarse un dispositivo de control visual con o sin alarma de modo que el personal pueda asegurar en todo momento que se mantiene el debido flujo de aire direccional en el laboratorio (véase el recuadro 5).

Conectar la CSB con el exterior mediante una conexión en dedal ayuda a crear un flujo de aire unidireccional hacia el laboratorio y a que todo aire contaminado de la CSB sea expulsado de esta a través de los filtros HEPA de la cámara. Cuando se enciende la CSB, el ventilador exterior extrae aire tanto de la cámara como de la sala. Cuando se apaga, el aire expulsado será extraído solo de la sala. Puede instalarse un ventilador externo con o sin conexión al estado de

funcionamiento de la cámara. La mejor solución es que el ventilador externo tenga un interruptor independiente de la CSB, o acoplarlo con un circuito de relé de modo que el ventilador exterior siga funcionando durante un tiempo determinado después de que se haya apagado la CSB, a fin de asegurar que todo el aire evacuado de esta se lleva al exterior. La principal ventaja de una CSB con conexiones en dedal es que no es preciso realizar ajustes en la cámara y que la dirección del aire que circula desde el laboratorio hasta el exterior se mantiene.

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

Cuando el aire evacuado del laboratorio se expulsa al exterior del edificio, deberá dispersarse de modo que se aleje de edificios ocupados y entradas de aire.

En los laboratorios de tuberculosis de riesgo moderado y riesgo elevado las ventanas se mantendrán cerradas en todo momento.

- **Equipo de protección personal:** cada laboratorio debe evaluar sus riesgos (por ejemplo, valorando las actividades y la carga de trabajo del laboratorio, la prevalencia de la tuberculosis y la prevalencia de cepas farmacorresistentes) y decidir cuál es el grado apropiado de protección para el personal. En los laboratorios en los que existe un riesgo de infección moderado el personal llevará en todo momento batas de laboratorio y guantes de protección.

Durante el tratamiento de las muestras, éstas se licuan, lo que aumenta la probabilidad de que se generen aerosoles;

por ello, es indispensable adoptar medidas para reducir al mínimo la producción de aerosoles.

- Los guantes deberán cambiarse con frecuencia. El personal siempre se lavará las manos antes de salir del laboratorio.
- No se necesitan respiradores siempre que las muestras se traten dentro de una CSB debidamente mantenida y utilizando buenas técnicas microbiológicas. Los respiradores no deben considerarse una alternativa a las CSB.
- **Diseño del laboratorio:** el laboratorio debe estar separado de las zonas abiertas al tránsito sin restricciones dentro del edificio. Debe disponerse un lugar para lavarse las manos en las proximidades de la salida del laboratorio.
- **Descontaminación y eliminación de desechos:** todos los desechos infecciosos deben ser retirados de los laboratorios de riesgo moderado para evacuarlos debidamente. Los desechos se transportarán en bolsas o recipientes de plástico cerrados siguiendo la normativa local apropiada. Todo material que se reutilice debe descontaminarse con un desinfectante adecuado o tratarse en la autoclave antes de retirarlo del laboratorio.
- **Reducción al mínimo de la generación de aerosoles:** la formación del personal incluirá siempre información sobre los métodos más seguros que deben utilizarse en los procedimientos de cultivo a fin de prevenir la inhalación de aerosoles generados cuando se utilizan asas y pipetas, se abren recipientes de muestras, se manipulan recipientes dañados o con fugas, en la centrifugadora y en los agitadores vorticiales. Se evitará la posibilidad de que el material infeccioso provoque salpicaduras al utilizar la llama de un mechero Bunsen utilizando un microincinerador eléctrico cerrado

para esterilizar las asas reutilizables. Se recomienda utilizar asas de transferencia y pipetas de transferencia desechables estériles.

- Las centrifugadoras deberán llevar cubetas de seguridad o rotores de contención. El

material infeccioso puede ser centrifugado en el laboratorio abierto siempre que se utilicen recipientes de seguridad cerrados y que las cubetas sean cargadas y descargadas dentro de una CSB.

Recuadro 5. Cómo calcular el número de intercambios de aire por hora en un laboratorio que utilice una CSB con conexiones de dedal

- Determinar el volumen de la sala del laboratorio (superficie del suelo x altura de la sala).
- Determinar el volumen de IAH que se necesitan (multiplicar el volumen de la sala por 6 para obtener el número mínimo de intercambios de aire, y por 12 para obtener el número máximo).
- Determinar el número de CSB y el aire evacuado de cada una de ellas. El aire expulsado de una CSB de 150 cm de ancho será de unos 500 m³/h, (es decir, superficie de entrada de aire 1,50 m x 0,2 m x velocidad del aire 0,38 m/s o 0,5 m/s x 3600 s = 410–540 m³/h). Este cálculo se hará para cada tipo de cámara que se utilice.
- Determinar la potencia del ventilador de extracción externo instalado al final de los conductos; debe superar la tasa de flujo volumétrica de cada CSB en un 30%-50% y debe ser controlable y estar conectado a un suministro eléctrico ininterrumpido. El aire procedente de la CSB debe estar contenido en tuberías de ventilación de un diámetro superior a 20 cm.

Por ejemplo: una superficie de laboratorio de 5 m x 10 m con un techo de 2,5 m de alto requeriría que cada hora se evacuasen entre 750 m³ y 1500 m³ de aire para que se realizasen los 6 a 12 intercambios del volumen de la sala requeridos. Así, dos CSB con conexiones en dedal expulsarían 1300–1500 m³ de aire del laboratorio cada hora.

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

5. Laboratorios de tuberculosis de alto riesgo (laboratorios de contención)

La expresión **laboratorio de contención de tuberculosis** se refiere a un laboratorio que cuenta con las características de diseño mínimas necesarias para manipular cultivos de *M. tuberculosis* en condiciones de seguridad. Este tipo de establecimiento puede cumplir o no todos los requisitos del laboratorio de nivel 3 de bioseguridad que se describe en el Manual de bioseguridad en el laboratorio de la OMS.² Todas las instalaciones de laboratorio deben cumplir la normativa local y nacional.

Las recomendaciones del presente manual son los requisitos **mínimos** necesarios para limitar o reducir los riesgos de infección en los laboratorios que realizan procedimientos concretos que se considera tienen un riesgo elevado de propagar la tuberculosis. Pueden considerarse necesarias otras medidas después de una evaluación de riesgos del lugar concreto.

Los laboratorios de alto riesgo (también denominados laboratorios de contención de tuberculosis) que sigan los requisitos mínimos de bioseguridad descritos en este capítulo están diseñados para trabajar con grandes volúmenes y concentraciones de *M. tuberculosis* y para realizar procedimientos que conlleven un riesgo mayor de propagación de aerosoles. Los laboratorios de tuberculosis de alto riesgo pueden:

- Manipular cultivos para identificar *M. tuberculosis*;
- Manipular cultivos o suspensiones de bacilos tuberculosos para todos los métodos indirectos de determinación de la farmacosenibilidad y ensayos moleculares.

5.1 Factores que aumentan el riesgo de infección

Además de los peligros descritos en el capítulo 4 respecto de los laboratorios de tuberculosis clasificados como de riesgo moderado y los riesgos generales que se abordan mediante las medidas de bioseguridad descritas en el capítulo

2, en los laboratorios de tuberculosis clasificados como de alto riesgo (o de contención) también se dan las situaciones siguientes, todas las cuales aumentan el riesgo:

- El personal debe abrir viales de cultivos positivos.
- El personal debe preparar frotis a partir de cultivos positivos.
- Debe realizarse la extracción de ADN en cultivos positivos.
- Deben manipularse cultivos para la identificación y los antibiogramas por medios indirectos.
- Deben desecharse los recipientes de cultivos rotos.
- Deben descontaminarse los cultivos o las zonas en las que se han producido derrames.

5.2 Características y medidas de bioseguridad específicas necesarias

Al igual que en el laboratorio de riesgo moderado, hay dos niveles de contención en un laboratorio de alto riesgo: la CSB (contención primaria) y el propio laboratorio (contención secundaria).

En los laboratorios de tuberculosis clasificados como de alto riesgo, todos los procedimientos de manipulación de cultivos de *M. tuberculosis* viables y suspensiones acuosas de bacilos tuberculosos para la identificación, los antibiogramas indirectos y los ensayos moleculares deben realizarse dentro de una CSB en un laboratorio de contención de tuberculosis.

Además de los elementos de seguridad necesarios en un laboratorio de riesgo moderado, un laboratorio de tuberculosis de alto riesgo (o de contención) ha de aplicar las siguientes medidas de mejora.

1. Diseño del laboratorio: es indispensable contar con dos conjuntos de puertas de entrada para crear una antesala al laboratorio de contención. Este diseño crea una barrera física entre la sección de contención y otras zonas del laboratorio. También permite un flujo de aire unidireccional hacia el laboratorio.

La antesala debe tener instalaciones para separar la ropa limpia de la ropa sucia. Las puertas de la antesala deben cerrarse por sí solas y estar dispuestas de forma que solo pueda estar abierta una de ellas en un momento dado. Puede instalarse un panel especial que pueda romperse para salir en caso de emergencia. El aire puede entrar en el laboratorio de contención de tuberculosis por la antesala; pueden instalarse rejillas con prefiltros en los paneles inferiores de las puertas de la antesala para asegurar que en el laboratorio de contención solo entra aire limpio.

Debe instalarse un panel de vidrio que permita ver el laboratorio de contención desde las otras zonas del laboratorio.

2. Equipo de protección personal: cada instalación debe evaluar sus riesgos y decidir el nivel de protección individual más apropiado para el personal.

Deben vestirse batas de laboratorio protectoras. No tendrán aberturas al frente y deben ser impermeables a los líquidos. Las batas de laboratorio deben tener manga larga y puño elástico (de al menos 30 mm de largo) y abrocharse a la espalda.

Debe llevarse guantes. El personal siempre se lavará las manos antes de abandonar el laboratorio.

Es optativo el uso de artículos para cubrir el pelo o los zapatos y de calzado especial; pueden utilizarse como medidas de protección adicional. Sin embargo, la vestimenta de protección que se utilice en el laboratorio de contención de tuberculosis no debe llevarse puesta en las otras zonas del laboratorio.

El equipo respiratorio proporciona protección adicional durante los procedimientos de alto riesgo, como la manipulación de cultivos líquidos para la identificación y los antibiogramas, que generan aerosoles con altas concentraciones de partículas infecciosas. No debe considerarse que el equipo de protección respiratoria puede utilizarse para sustituir una CSB que no funcione debidamente o una CSB sin certificar. En todos los casos, es indispensable utilizar buenas técnicas microbiológicas para reducir al mínimo el riesgo de infecciones adquiridas en el laboratorio.

3. Descontaminación y eliminación de desechos: debe haber una autoclave *in situ* en las proximidades del laboratorio de contención de tuberculosis para permitir la esterilización de tubos y viales con cultivos de bacilos tuberculosos antes de retirarlos para su eliminación. Todos los demás desechos infecciosos deben retirarse del laboratorio de contención de tuberculosis para eliminarlos debidamente. Se transportarán en bolsas o recipientes de plástico sellados, siguiendo la normativa local apropiada. Todo material que se reutilice debe descontaminarse con un desinfectante adecuado o tratarse en la autoclave antes de sacarlo del laboratorio.

RECOMENDACIÓN DEL GRUPO DE EXPERTOS

El Manual de bioseguridad en el laboratorio de la OMS² recomienda que sea posible sellar los laboratorios de contención de modo que puedan descontaminarse por fumigación.

El Grupo de Expertos observó que no es indispensable que el laboratorio de contención de tuberculosis se pueda sellar para la descontaminación, pues es poco probable que las partículas infecciosas de las bacterias que se han secado sobre las superficies se conviertan en aerosoles. Por consiguiente, el Grupo de Expertos concluyó que los procedimientos de descontaminación de superficies son suficientes para los laboratorios de contención de tuberculosis y que la capacidad de fumigar el laboratorio de contención no es obligatoria.

6. Equipo de seguridad

El equipo de seguridad puede utilizarse para eliminar o reducir ciertos riesgos en los laboratorios de tuberculosis (*cuadro 4*). Ese equipo no ofrece garantías de protección a menos que el operario sea competente y utilice las técnicas apropiadas. El equipo debe ser comprobado periódicamente para asegurar que sigue funcionando de manera segura.

6.1 Cámaras de seguridad biológica

Debido a su pequeño tamaño, ciertos procedimientos de laboratorio pueden generar aerosoles formados por núcleos de gotículas sin que lo advierta el trabajador del laboratorio. Esto puede dar lugar a la inhalación de agentes infecciosos o a la contaminación cruzada de superficies de trabajo o materiales. Las CSB están diseñadas para proteger a las personas y el entorno de los agentes infecciosos y, atendiendo a su clasificación, ofrecen distintos grados de protección frente a la contaminación de muestras y cultivos.

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

Hay tres clases de CSB: I, II y III (correspondientes a las normas AS/NZS 2252.1:1994, AS/NZS 2252.2:1994, y NSF/ANSI 49 – 2008).^{18,19,20} Según la norma NSF/ANSI 49 – 2008, las CSB de la clase II pueden ser de varios tipos (conocidos como A1, A2, B1, B2); sirven para clasificar las variaciones en los flujos de aire, las velocidades, la ubicación del filtro HEPA en la cámara, las tasas de ventilación y los métodos de evacuación del aire.

6.1.1 Selección de una CSB para un laboratorio de tuberculosis

Los dos tipos de CSB que se describen a continuación son los más indicados para los laboratorios de tuberculosis de riesgo moderado y de alto riesgo (laboratorios de contención de tuberculosis).

Clase I

- Este tipo de CSB ofrece protección personal y del entorno, pero no del producto. Esto puede contribuir a que se produzcan mayores tasas de contaminación, especialmente cuando se preparan e inoculan cultivos líquidos (véase la *figura 1*).

Clase II

- Una CSB de clase II ofrece protección personal, del entorno y del producto; en los modelos de tipo A2 todos los conductos contaminados se encuentran a presión negativa o están rodeados de conductos de presión negativa (véase la *figura 2*). **(Este es el tipo PREFERIDO de CSB.)**
- Las CSB de clase II tipo A1 no son la opción más adecuada porque los conductos pueden contaminarse y las cámaras de distribución del extractor tienen presión positiva respecto de la sala.
- Las CSB de la clase II tipos B1 y B2 deben estar conectadas con el exterior por conductos rígidos; esto significa que el sistema de evacuación de aire del edificio debe ajustarse exactamente a los requisitos de flujo de aire especificados por el fabricante en relación con el volumen y con la presión estática. La certificación, la operación y el mantenimiento de estos tipos de CSB son por consiguiente más difíciles, de modo que estas cámaras no se recomiendan en las instalaciones nuevas de laboratorios de tuberculosis.

Las CSB deben llevar filtros HEPA que cumplan las normas internacionales pertinentes (por ejemplo, las normas europeas EN12469 o estadounidenses NSF/ANSI Standard 49 – 2008).^{20,21}

Cuando se adquieran nuevas CSB, se recomiendan las de clase II tipo A2 con hoja de ventana móvil.

Las CSB deben seleccionarse atendiendo sobre todo al tipo de protección que se necesita: protección del producto o protección del personal contra el riesgo de infección. Seleccionar el tipo correcto de cámara, su instalación, su uso apropiado y la certificación anual de su funcionamiento son procesos complejos. Se recomienda encarecidamente que esos procesos sean realizados por profesionales bien adiestrados y con experiencia que estén familiarizados con todos los aspectos de las CSB.

Las CSB deben ir conectadas a un suministro eléctrico ininterrumpido para asegurar que el personal disponga de tiempo suficiente para completar un procedimiento en caso de corte del suministro.

Las CSB deben ser certificadas en el momento de la instalación, siempre que sean trasladadas y después de toda reparación o cambio de filtro; también requieren un mantenimiento periódico (anual) para garantizar un funcionamiento apropiado. Retrasar el mantenimiento o utilizar personal insuficientemente calificado para llevar a cabo el mantenimiento puede poner en riesgo a los trabajadores del laboratorio. (Véase la sección 6.1.5.)

expulsándolo a través de un conducto de salida.

Estas CSB protegen a los trabajadores pero no protegen los productos (como muestras o cultivos) de la contaminación, porque sobre la superficie de trabajo circula aire de la sala no esterilizado.

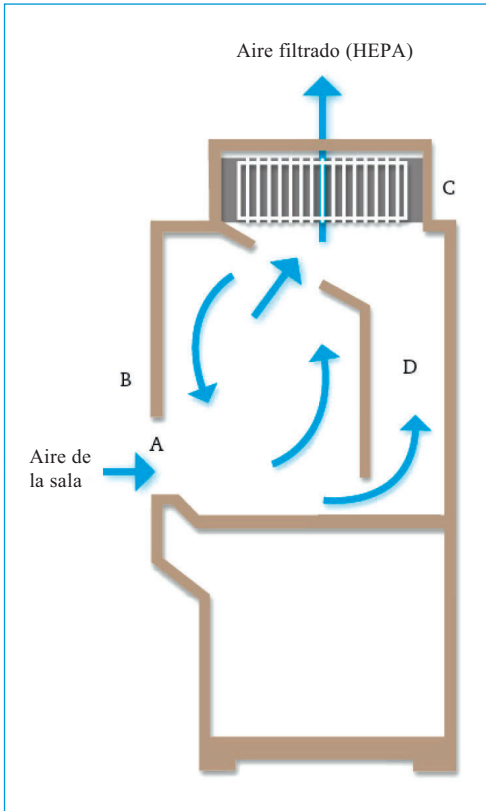
En la *figura 1* se presenta un esquema de una CSB de clase I. El aire de la sala es succionado por la abertura frontal a una velocidad mínima de 0,38 m/s (NSF/ANSI)²⁰ o 0,4 m/s (EN12469).²¹ A continuación pasa por encima de la superficie de trabajo y es evacuado de la cámara por el conducto de salida. El flujo de aire direccional transporta las partículas en forma de aerosol que puedan generarse en la superficie de trabajo alejándolas del técnico hacia el conducto de salida. La abertura frontal permite que los brazos del técnico lleguen a la superficie de trabajo del interior de la cámara mientras observa la superficie a través de una ventana de cristal. La hoja de la ventana también puede levantarse por completo para dar acceso a la superficie de trabajo con fines de limpieza u otros.

El aire de la CSB es evacuado a través de un filtro HEPA: a) al laboratorio y después al exterior del edificio a través del sistema de evacuación de aire de este; o 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 el sistema de evacuación de aire del edificio. Algunas de estas cámaras están equipadas con un ventilador de extracción integrado, mientras que otras utilizan el extractor del sistema del edificio.

6.1.2 Cámaras de seguridad biológica de clase I

Las CSB de clase I funcionan succionando aire no filtrado de la sala por la abertura frontal, haciéndolo pasar sobre la superficie de trabajo y

Figura 1. Esquema de una CSB de clase I
A. Abertura frontal; B. Ventana; C. Filtro HEPA de evacuación; D. Cámara de distribución del extractor.



6.1.3 Cámaras de seguridad biológica de clase II tipo A2

Las CSB de clase II difieren de las de clase I en que solo permiten que sobre la superficie de trabajo circule aire que haya atravesado un filtro HEPA (aire estéril).

En la figura 2 aparece una CSB de clase II tipo A2. Un ventilador interno succiona aire de la sala hacia el interior de la cámara por la abertura frontal y a continuación hacia la rejilla frontal. La velocidad de entrada de este aire debe

ser de al menos 0,38 m/s en el plano de la abertura frontal. Después de atravesar la rejilla, el aire de entrada es conducido hacia arriba y a través de un filtro HEPA antes de pasar en sentido descendente por encima de la superficie del trabajo.

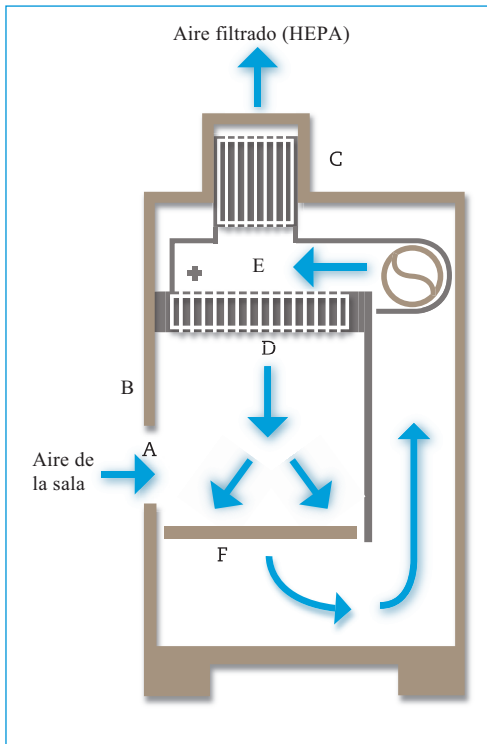
Al circular en sentido descendente a unos 6-18 cm sobre la superficie de trabajo, el aire se divide de modo que aproximadamente la mitad del volumen atraviesa la rejilla de salida frontal y la otra mitad atraviesa la rejilla de salida trasera. Las partículas de aerosol que se hubieran generado en la superficie de trabajo son inmediatamente captadas por esta corriente de aire descendente y salen por la rejilla de evacuación delantera o trasera, con lo que se logra la máxima protección del producto. A continuación el aire se evacua a través de la cámara de distribución posterior hacia el espacio comprendido entre el filtro de suministro y el filtro de evacuación situados en la parte superior de la cámara. Debido al tamaño relativo de esos filtros, el 60%-70% del aire vuelve a circular a través del filtro HEPA de suministro y regresa a la zona de trabajo; el 30%-40% restante atraviesa el filtro de evacuación hacia la sala o el exterior.

El aire de salida de una cámara de este tipo puede reciclarse en la sala o evacuarse al exterior del edificio por medio de un acoplador de tipo «dedal» conectado a un conducto dedicado exclusivamente a este fin; NO debe evacuarse por medio del sistema de evacuación de aire del edificio.

En un laboratorio de contención en el que el aire procedente de una CSB de clase II se recicla en la sala, se necesita un sistema de ventilación exclusivo e independiente para garantizar el flujo de aire unidireccional hacia el laboratorio con 6-12 IAH. El reciclaje del aire de salida hacia la sala tiene la ventaja de reducir los costos energéticos del edificio ya que no se evacua aire calentado o refrigerado al entorno exterior.

Figura 2. Esquema de una CSB de clase II tipo A2

A. Abertura frontal; B. Ventana; C. Filtro HEPA de salida; D. Filtro HEPA de entrada; E. cámara de distribución con presión positiva; F. cámara de distribución con presión negativa.



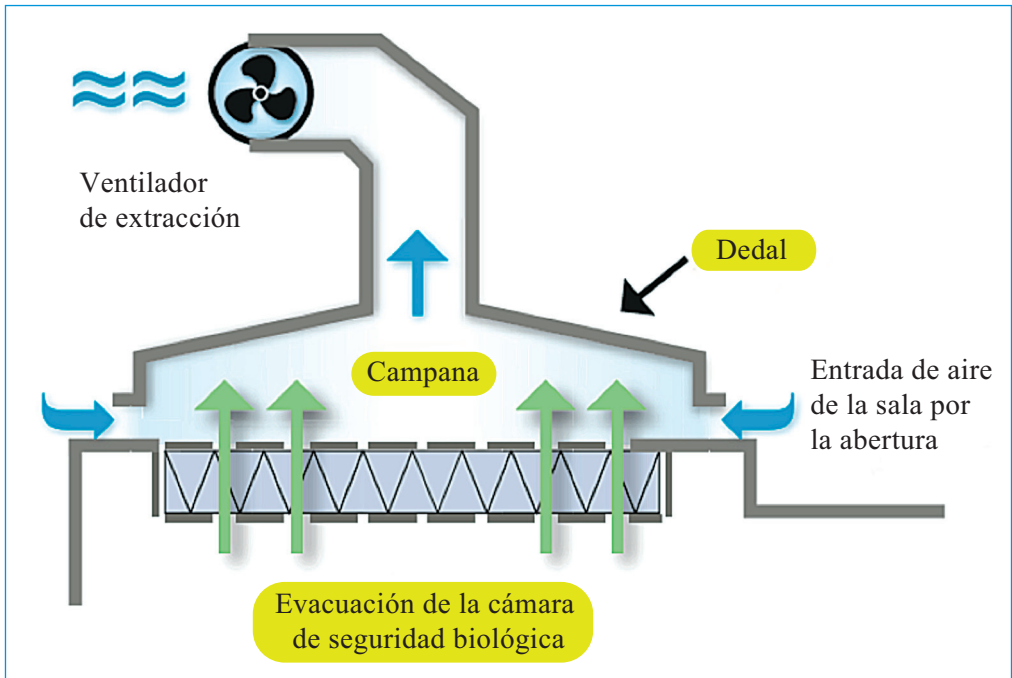
6.1.4 Conexiones de tipo dedal

Las conexiones mediante acopladores de tipo dedal (véase la *figura 3*) se utilizan con las CSB de clase II tipo A2 conectadas al exterior. El

acoplador se ajusta a la salida de aire de la cámara, succionando el aire expulsado de la cámara hacia los conductos que llevan al exterior. Se mantiene una pequeña abertura (generalmente de 5 cm de ancho) entre el acoplador y la salida de aire de la cámara que permite succionar aire de la sala hacia el sistema de evacuación de aire. La capacidad del sistema de evacuación de aire debe ser suficiente para captar aire procedente tanto de la sala como de la cámara. El acoplador de tipo dedal debe ser extraíble o estar diseñado de modo que permita 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.

Una ventaja de utilizar una conexión en dedal es que la CSB no necesita ajuste alguno y la presión en la sala se mantendrá prácticamente constante. Para mantener una presión controlada, constante y reducida dentro de la sala de contención, normalmente se necesita un control de regulación del sistema de evacuación para permitir que el flujo de aire a través de la conexión en dedal esté equilibrado con la capacidad de evacuación del ventilador de extracción situado al final de los conductos. Otra ventaja de utilizar este tipo de conexión es que en caso de corte eléctrico, el aire que vuelve a la sala en la que existe una presión menor pasará casi exclusivamente a través de la entrada del acoplador en dedal, y no arrastrará bacterias del filtro HEPA. La instalación de una válvula que impida el retroceso en el conducto asegura que el aire que entra lo hará por la entrada de aire limpio.

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



6.1.5 Uso de CSB en el laboratorio

Ubicación

La integridad del flujo direccional de aire es frágil y puede verse alterada fácilmente por las corrientes de aire que generan las personas al caminar en las proximidades de la cámara, por ventanas abiertas o registros de suministro de aire y por la apertura y el cierre de puertas. En condiciones ideales, las CSB deben situarse de acuerdo con las recomendaciones del fabricante en un lugar alejado del tránsito y de posibles corrientes de aire. Siempre que sea posible, debe dejarse un espacio de 30 cm por detrás y a cada lado de la CSB para permitir el acceso en caso de mantenimiento. Puede necesitarse un espacio de 30-35 cm por encima de la CSB para medir con exactitud la velocidad del aire a través del filtro de salida y para cambiar los filtros de salida.

Operarios

Cuando una CSB no se utiliza correctamente, sus efectos protectores pueden verse gravemente disminuidos, provocando incluso un mayor riesgo para los trabajadores del laboratorio. Deben ponerse a disposición del personal protocolos escritos así como un manual de bioseguridad. Además, los trabajadores deben firmar un formulario en el que confirmen que han leído y comprendido los protocolos exigidos. Todas las personas que trabajan en CSB deben ser observadas para asegurar que siguen prácticas de trabajo correctas antes de que realicen pruebas rutinarias en las cámaras. Los operarios deben mantener la integridad del aire que circula a través de la abertura frontal cuando introducen y sacan los brazos en las cámaras. Deben mover los brazos lentamente y asegurarse de que los tienen situados perpendicularmente a la abertura central. Esperarán unos dos minutos después de introducir las manos y los brazos en la cámara

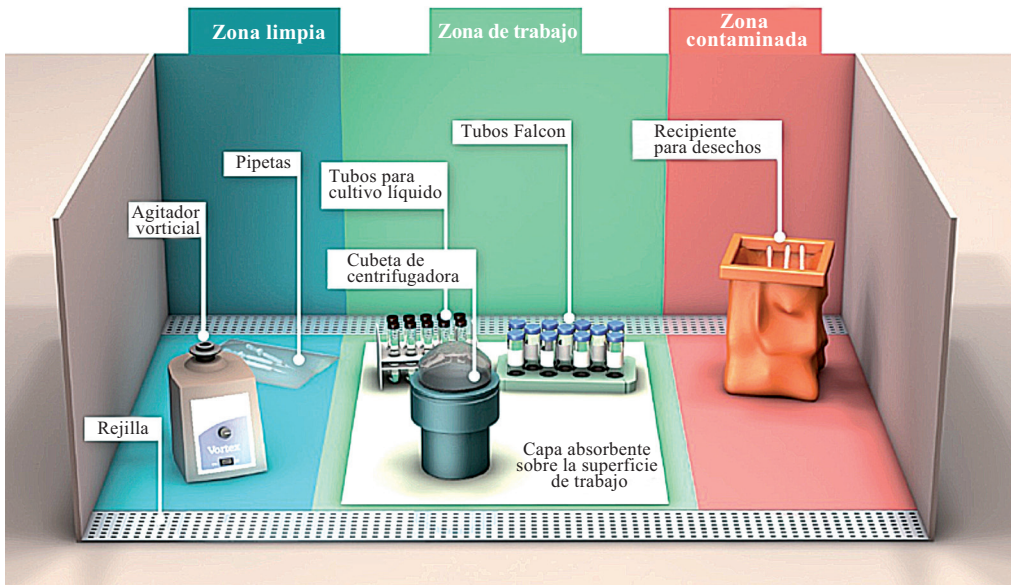
antes de comenzar a manipular los materiales; esto permitirá que se ajuste el flujo de aire dentro de la cámara y que el aire barra la superficie de sus manos y brazos. El número de movimientos que se hagan a través de la abertura central debe reducirse al mínimo colocando todos los artículos necesarios dentro de la CSB antes de iniciar las manipulaciones.

Colocación del material

La rejilla frontal de entrada de las CSB de clase II no debe estar bloqueada con papeles, instrumentos u otros objetos. Se recomienda que todos los trabajos se realicen sobre toallas absorbentes empapadas en desinfectante y colocadas de modo que recojan todas las salpicaduras y

derrames. Todos los materiales deben colocarse lo más dentro posible de la CSB, es decir, hacia el borde posterior de la superficie de trabajo, sin bloquear la rejilla posterior. El material que pueda generar aerosoles (como agitadores vorticiales y centrifugadoras) debe situarse hacia el fondo de la cámara. Los artículos voluminosos, como las bolsas específicas para peligros biológicos y los recipientes de desecho, deben colocarse a un lado del interior de la CSB. El trabajo debe proceder desde las zonas limpias hacia las zonas contaminadas sobre la superficie del trabajo. Nunca deben introducirse documentos dentro de la CSB. La cámara no debe sobrecargarse porque la sobrecarga puede influir en la eficiencia del flujo de aire (véase la *figura 4*).

Figura 4. Organización típica del trabajo para trabajar desde las zonas limpias hacia las sucias en una CSB de clase II. El material limpio se coloca a la izquierda; las muestras se inoculan en el centro, y las pipetas contaminadas y otro material se colocan en los recipientes para desechos en la parte derecha. Esta disposición puede invertirse para las personas zurdas.



Luz ultravioleta

No se recomiendan las lámparas de luz ultravioleta en las CSB que se emplean en los laboratorios de tuberculosis.

Llamas desnudas

Debe evitarse las llamas desnudas en las proximidades de las CSB porque el calor altera la corriente de aire de su interior. Para

esterilizar las asas bacteriológicas, es preferible utilizar microincineradores u hornos eléctricos. Se recomienda utilizar asas y pipetas de transferencia desechables.

Derrames

Se colocará en lugar visible una copia del protocolo del laboratorio para tratar los derrames, que deberán leer y comprender todos los trabajadores del laboratorio. Cuando se produzca un derrame dentro de una CSB, debe procederse de inmediato a su limpieza mientras la cámara sigue en funcionamiento. Se utilizará un desinfectante eficaz que se aplicará de manera que se evite en lo posible la formación de aerosoles. Todo el material que entre en contacto con el agente derramado debe ser desinfectado y eliminado debidamente.

Certificación

El funcionamiento y la integridad de cada CSB deben estar certificados en consonancia con las normas de funcionamiento nacionales o internacionales en el momento de la instalación, después de cada cambio de ubicación en el laboratorio, y después de forma periódica (al menos una vez al año) por técnicos cualificados y de acuerdo con las especificaciones del fabricante. La evaluación de la eficacia de contención de la CSB debe incluir: pruebas de la integridad de la cámara; pruebas de la integridad de los filtros HEPA; evaluaciones del perfil de velocidad del flujo de aire descendente, la velocidad del aire en la apertura de la cámara, la presión negativa y la tasa de ventilación, las características del flujo de aire y las alarmas e interruptores de interbloqueo.

La velocidad del aire que pasa por la apertura central hacia el interior de una CSB debe ajustarse a las especificaciones del fabricante. También pueden realizarse pruebas facultativas de la instalación eléctrica, la intensidad de la iluminación, la luz ultravioleta y el nivel de ruido y vibración. Para efectuar estas pruebas se requieren capacitación, conocimientos y equipo especiales; se recomienda encarecidamente que las realice un profesional experimentado.

Este profesional debe estar familiarizado y capacitado en todos los aspectos de las CSB.

Limpieza y desinfección de la zona de trabajo

Una vez terminado el trabajo, todos los materiales que se encuentren dentro de la CSB, incluido el equipo, deben ser objeto de una limpieza de superficies y extraerse de la cámara.

Las superficies interiores de las CSB deben descontaminarse antes y después de cada uso. Las superficies de trabajo y las paredes interiores se limpiarán con un desinfectante que inactive los microorganismos que pudieran encontrarse en el interior. Al final del día, la descontaminación final de superficies se realizará pasando un paño con desinfectante por la superficie de trabajo y por los laterales, la parte trasera y el interior del cristal. Habrá que realizar una segunda limpieza con agua estéril cuando se emplee un desinfectante corrosivo como la lejía.

Antes de apagarla, la CSB debe dejarse en funcionamiento durante 15 minutos después de terminar el trabajo con el fin de purgar la atmósfera de su interior.

Descontaminación

Las CSB deberán descontaminarse minuciosamente antes de cambiar los filtros y antes de trasladarlas a otro lugar; la descontaminación debe incluir los espacios de las cámaras de distribución y los filtros. Véase la norma NSF/ANSI 49 – 2008 para consultar los procedimientos y detalles de la descontaminación.²⁰ La descontaminación debe ser realizada por un profesional cualificado.

Alarmas

Las CSB pueden venir equipadas con uno de los dos tipos siguientes de alarma. Las alarmas de apertura solo se encuentran en las cámaras que tienen ventana de cristal corredera; suenan cuando el operario ha colocado la ventana en una posición incorrecta. Cuando suena la alarma, la ventana debe colocarse en la posición adecuada. Las alarmas de flujo de aire señalan perturbaciones de las características normales del flujo de aire en la cámara. Esta

alarma advierte de un peligro inmediato para el operario o para el producto. Cuando suene esta alarma, se interrumpirá inmediatamente el trabajo y se avisará al director del laboratorio. Los manuales de instrucciones del fabricante dan más detalles sobre la forma de atender este tipo de alarma. La capacitación en el uso de las CSB incluirá información sobre la respuesta necesaria ante este tipo de alarma.

6.2 Centrifugadoras con cubetas de seguridad

Durante el proceso de centrifugado pueden producirse aerosoles, de modo que las medidas de seguridad deben seguirse estrictamente cuando se maneja la centrifugadora.

Durante el funcionamiento, la tapa de la centrifugadora debe estar completamente cerrada. El uso de un sello no poroso amplio asegurará que la tapa queda herméticamente cerrada. La tapa no se abrirá hasta que el rotor se haya detenido por completo. Los rotores apropiados tienen cierres de seguridad para cada compartimento. Las tapas de cada cubeta y cada tubo deben cerrarse debidamente antes de poner en marcha la centrifugadora. Para contener los aerosoles, cada cubeta de centrifugadora sellada debe cargarse y descargarse en una CSB. Para el tratamiento de cultivos de *M. tuberculosis*, se recomiendan las centrifugadoras refrigeradas con cubetas oscilantes.

Cuando se utiliza una microcentrifugadora para la extracción de ADN, se necesita un rotor de seguridad con una tapadera sellada; la microcentrifugadora debe cargarse y descargarse en el interior de una CSB.

Las centrifugadoras deben inspeccionarse periódicamente para comprobar su estado de desgaste y de uso; el mantenimiento debe seguir las especificaciones del fabricante.

6.3 Autoclaves

En general, lo más eficiente para esterilizar instrumentos, material de vidrio y soluciones de medios en los laboratorios de tuberculosis que realizan pruebas de diagnóstico es una autoclave que utiliza vapor saturado a presión. También se utiliza para descontaminar material biológico (como cultivos de micobacterias). Para que una autoclave funcione de manera óptima hay dos factores esenciales: 1) todo el aire en la cámara debe ser sustituido por vapor, y 2) la temperatura debe ser de 121 °C.

Las autoclaves deben situarse lejos de la zona principal del trabajo del laboratorio porque pueden ser ruidosas y emitir calor y vapor. Una autoclave destinada a la descontaminación de material infeccioso debe tener una válvula de salida de aire dotada de un filtro bacteriano. El filtro estéril tratable en la autoclave debe estar formado de un cartucho de filtro con una membrana (poros de 0,2 µm) alojado en un receptáculo resistente a la presión; el filtro debe ser fácil de cambiar. El filtro se esteriliza automáticamente en cada proceso de esterilización. Es OBLIGATORIO contar con una autoclave en todos los laboratorios donde se realicen cultivos de *M. tuberculosis*, y situarla preferiblemente en el laboratorio de contención de tuberculosis.

En todo momento se seguirán las instrucciones del fabricante en cuanto al manejo y la limpieza de la autoclave.

Cuadro 4. Equipo de seguridad utilizado para procesar muestras en laboratorios de tuberculosis, peligros potenciales y características de seguridad asociadas

Equipo	Peligro o riesgo potencial	Características de seguridad
CSB		
Clase I	Aerosoles y salpicaduras	<ul style="list-style-type: none"> • Flujo de aire mínimo hacia el interior (velocidad en el plano de la entrada) en la abertura de acceso de trabajo según las recomendaciones del fabricante; el aire evacuado atraviesa un filtro HEPA • Protege al personal y el medio ambiente
Clase II	Aerosoles y salpicaduras	<ul style="list-style-type: none"> • Flujo de aire mínimo hacia el interior (velocidad en el plano de la entrada) en la abertura de acceso de trabajo según las recomendaciones del fabricante; el aire evacuado atraviesa un filtro HEPA • Protege al personal, los productos y el medio ambiente
Puesto de trabajo ventilado	Aerosoles y salpicaduras	<ul style="list-style-type: none"> • No sustituye a una CSB • Flujo de entrada de aire mínimo (velocidad en el plano de la abertura) en la abertura de acceso de trabajo según las especificaciones • Sin filtro HEPA • Ofrece protección limitada al personal
Centrifugadoras con cubetas de seguridad o rotores sellados	Aerosoles y derrames	<ul style="list-style-type: none"> • Contención de aerosoles
Material de pipeteo	Peligros propios de pipetear con la boca (por ejemplo, ingestión de patógenos, inhalación de aerosoles provocados por la succión de la boca en la pipeta, soplado o goteo de líquido de la pipeta, contaminación del extremo de succión de la pipeta)	<ul style="list-style-type: none"> • Facilidad de uso • Controla la contaminación del extremo de succión de la pipeta, protege el material de pipeteo, al usuario y la línea de vacío • Puede esterilizarse • Controla la fuga de líquido del extremo de la pipeta

Equipo	Peligro o riesgo potencial	Características de seguridad
Microincineradores para asas, asas desechables	Salpicaduras de las asas de transferencia	<ul style="list-style-type: none"> • Los microincineradores encierran las asas en tubos de vidrio o cerámicos abiertos; se calientan por gas o electricidad • Las asas desechables hacen innecesarios los microincineradores
Recipientes a prueba de fugas para recoger y transportar material infeccioso destinado a la esterilización en un laboratorio	Aerosoles, derrames y fugas	<ul style="list-style-type: none"> • Diseño a prueba de fugas con tapadera o cierre • Duradero • Esterilizable en autoclave
Recipientes para desecho de material punzocortante	Heridas por punción o cortes	<ul style="list-style-type: none"> • Esterilizables en autoclave • Sólidos, a prueba de perforaciones
Recipientes para el transporte entre laboratorios o instituciones	Liberación de microorganismos	<ul style="list-style-type: none"> • Robustos • El almacenamiento estanco primario y secundario contiene los derrames • El material absorbente contiene los derrames
Autoclave (manual o automática)	Cultivos positivos esterilizados antes de sacarlos del laboratorio	<ul style="list-style-type: none"> • Diseño aprobado • Eficaz esterilización por calor

7. Equipo y ropa de protección personal

El equipo y la ropa de protección personal pueden actuar como barrera para reducir al mínimo el riesgo de exposición a aerosoles, salpicaduras e inoculaciones accidentales. El tipo de ropa y equipo más adecuado depende de las características del trabajo. El personal que trabaja en el laboratorio siempre debe

llevar ropa protectora (véase el *recuadro 6*). Antes de abandonar el laboratorio, el personal debe quitarse la ropa protectora y lavarse las manos. En el *cuadro 5* se resumen los tipos de equipo de protección personal que se usan en los laboratorios y la protección que ofrece cada uno de ellos.

Cuadro 5. Ropa y equipo de protección que pueden utilizar los trabajadores de los laboratorios de tuberculosis

Equipo	Peligro potencial	Características de seguridad
Batas de laboratorio (abertura frontal)	Contaminación de la ropa de calle	<ul style="list-style-type: none"> Batas de laboratorio con abertura frontal y manga larga para cubrir la ropa de calle Se utilizan en actividades en las que hay bajo riesgo de infección por <i>M. tuberculosis</i>
Batas de laboratorio (abertura a la espalda)	Contaminación de la ropa de calle	<ul style="list-style-type: none"> Batas de laboratorio con manga larga y puño elástico (longitud mínima 30 mm) Abertura a la espalda Deben cubrir la ropa de calle
Respiradores	Inhalación de aerosoles	<ul style="list-style-type: none"> Entre los diseños disponibles figuran el N95 (norma de los EE.UU.) y el FFP2 (norma europea); modelos de purificación del aire de cara completa o media cara;
Guantes	Contacto directo con microorganismos	<ul style="list-style-type: none"> Guantes desechables de látex, vinilo o nitrilo, aprobados para uso microbiológico

7.1 Batas de laboratorio (abertura a la espalda)

Las batas de laboratorio tendrán manga larga y se abrirán por la espalda. Cuando el técnico de laboratorio esté de pie, el borde inferior de la bata deberá quedar por debajo de la altura del puesto de trabajo; cubrirá por completo su regazo cuando esté sentado. Las batas reutilizables se esterilizarán en la autoclave antes de lavarlas. No se llevarán a casa para lavarlas,

sino que habrá un servicio de lavandería en las instalaciones o sus proximidades. Las batas de laboratorio se cambiarán al menos una vez a la semana y de forma inmediata si se produce un incidente manifiesto de contaminación.

Las batas no deben llevarse puestas fuera del laboratorio. Debe existir una zona de vestuario en la que puedan almacenarse las batas. Todo el personal del laboratorio así como las demás personas que entren en el laboratorio deben

vestir una bata. La ropa de laboratorio no debe guardarse en los mismos armarios o taquillas que la ropa de calle. Debe disponerse de batas de reserva en caso de contaminación.

7.2 Respiradores

Normalmente no se necesitan respiradores para el trabajo en un laboratorio de tuberculosis. Sin embargo, pueden ser recomendados después de una evaluación de riesgos en un laboratorio de contención de tuberculosis si se manipulan cultivos. Aunque no se utilicen normalmente, deben estar disponibles en los laboratorios en los que se manipulan cultivos en caso de que se produzca un peligro biológico accidental (como un derrame) fuera de la CSB. Los respiradores deben formar parte del kit de limpieza de derrames del laboratorio.

Los respiradores nunca deben usarse en sustitución de una CSB que funcione debidamente y sea objeto de un mantenimiento adecuado. Si una evaluación de riesgos así lo indica, deben utilizarse respiradores N95 (norma de los EE.UU. NIOSH N95) o FFP2 (norma europea EN149:2001). Esos respiradores son ligeros y desechables, cubren la nariz y la boca y filtran el 94%-95% de las partículas de $\geq 0,3-0,4 \mu\text{m}$.

Si se utilizan respiradores en un laboratorio, todo el personal debe ser instruido y capacitado para utilizarlos y ajustarlos correctamente, así como advertido de sus limitaciones. En condiciones ideales, el personal debe pasar una prueba de ajuste para asegurar que no se producen fugas. Los respiradores no deben utilizarse en personas con vello en la cara. Deben almacenarse en un lugar práctico, limpio, seco e higiénico y no se usarán fuera del laboratorio. Una vez que se ha colocado el respirador, el usuario nunca deberá tocar su parte frontal. No lo colocará debajo de la barbilla ni sobre la cabeza cuando hable o conteste al teléfono.

Los respiradores deben ser inspeccionados antes de cada uso para comprobar que no hay orificios además de los correspondientes a las grapas, y para asegurar que no han sufrido daños (los orificios dados de sí con material de

filtro desgarrado o roto alrededor de los agujeros de las grapas se consideran daños). También hay que comprobar las cintas y las válvulas. Un respirador dañado debe ser desechado y sustituido de inmediato.

Las máscaras quirúrgicas no son respiradores, no están certificadas como tales y no ofrecen una protección suficiente a la persona que realiza pruebas de diagnóstico de la tuberculosis capaces de generar aerosoles. No están concebidas para proteger al usuario de la inhalación de pequeños aerosoles infecciosos, por lo que no deben utilizarse.

7.2.1 Ajuste de un respirador

El personal que usa respiradores debe recibir capacitación. Debe enseñárseles lo siguiente:

- Sujetar el respirador con la mano en forma de copa, situando la pieza nasal en la punta de los dedos; las cintas de la cabeza deben quedar colgando libremente;
- Colocar el respirador bajo la barbilla con la pieza nasal hacia arriba; pasar la cinta superior por encima de la cabeza y colocarla en la parte posterior alta de la cabeza; tirar de la cinta inferior por encima de la cabeza y colocarla alrededor del cuello, por debajo de las orejas;
- Colocar las puntas de los dedos de ambas manos en la parte superior de la pieza nasal metálica; utilizando las dos manos, moldear la zona nasal para adaptarla a la forma de su nariz presionando hacia el interior, al tiempo que se mueven las yemas de los dedos a lo largo de la pieza nasal; si se hace con una sola mano, puede suceder que la pieza no se ajuste correctamente y la eficacia del respirador sea menor. Siempre deben utilizarse ambas manos.

7.2.2 Retirada del respirador

- El técnico se quitará los guantes y se lavará concienzudamente las manos antes de retirar el respirador. Solo se manipularán

las bandas; no se tocará la parte frontal del respirador.

7.3 Guantes

Los guantes deben utilizarse en todos los procedimientos que entrañen contacto directo o puedan entrañar contacto accidental con esputos, sangre, líquidos corporales u otro material potencialmente infeccioso. Después de utilizarlos, los guantes deben ser retirados de manera aséptica y a continuación deben lavarse las manos.

Los guantes contaminados (y las manos sin lavar) pueden ser fuente de infección para otros trabajadores del laboratorio si se utilizan para manejar o manipular equipo en el laboratorio (como una centrifugadora o el teléfono).

Un lavado de manos regular es indispensable para prevenir muchos tipos de infecciones adquiridas en el laboratorio, incluidas las provocadas por agentes patógenos transmitidos por la sangre.

Pueden utilizarse guantes desechables de látex, vinilo sin látex (transparente) o nitrilo, y todos los trabajadores deben tener a su disposición la talla adecuada. Los guantes deben ajustarse con la mayor comodidad posible y deben cubrir las muñecas.

Los guantes desechables no deben reutilizarse nunca; una vez usados, deben eliminarse con

los desechos infecciosos del laboratorio. Debe contarse con un suministro fiable de guantes. Los guantes no deben llevarse puestos fuera del laboratorio.

Los trabajadores se quitarán los guantes y se lavarán las manos concienzudamente con agua y jabón después de manipular material infeccioso o trabajar en una CSB y antes de salir del laboratorio.

7.3.1 Retirada de los guantes

El personal del laboratorio debe ser adiestrado para retirarse los guantes siguiendo estos pasos:

1. Retirar un guante agarrándolo por debajo del puño y obligándolo a enrollarse para sacarlo de la mano de modo que salga con el interior hacia fuera. Con esto se consigue que la mayor parte de la contaminación quede dentro;
2. Sujetar el guante usado en la otra mano, aún enguantada. Deslizar cuidadosamente los dedos desnudos bajo el puño del guante de la mano enguantada, cuidando de no tocar la superficie del guante contaminado. Enrollar el guante hacia fuera, por encima del otro guante usado para hacer una pequeña bolsa de guantes usados con la contaminación hacia el interior.
3. Deseche los guantes debidamente y en condiciones de seguridad.

Recuadro 6. Directrices para el empleo de guantes y respiradores según el nivel de riesgo del laboratorio de tuberculosis

Estas directrices resumen los requisitos mínimos para la utilización de este material en los distintos niveles de bioseguridad de los laboratorios de tuberculosis.

Respiradores

Normalmente no se necesitan respiradores para trabajar en un laboratorio de tuberculosis, pero su utilización depende de la evaluación de riesgos realizada en el nivel local o nacional. Esa evaluación puede recomendar su utilización en los laboratorios que manipulan cultivos o realizan antibiogramas en un laboratorio de contención. Los respiradores no deben considerarse un sustituto del trabajo en una CSB.

Guantes

Es obligatorio usar guantes cuando se maneje cualquier muestra potencialmente infecciosa o se manipulen cultivos que contengan bacilos tuberculosos.

Equipo de protección personal	Laboratorio de bajo riesgo	Laboratorio de riesgo moderado	Laboratorio de alto riesgo (laboratorio de contención)
Respiradores	No se necesitan	No se necesitan	Pueden necesitarse después de una evaluación de riesgos
Mascarillas quirúrgicas	No están diseñadas para proteger al usuario de la inhalación de aerosoles infecciosos, por lo que no deben usarse como protección respiratoria		
Guantes	Necesarios	Necesarios	Necesarios

8. Planes de preparación y respuesta en emergencias

En todo establecimiento que trabaje con aislados de *M. tuberculosis* o los almacene es imprescindible contar con un plan escrito de preparación para emergencias.

8.1 Plan de preparación para emergencias

El plan debe prever procedimientos operacionales para lo siguiente:

- Respuestas a desastres naturales, como incendios, inundaciones, terremotos o explosiones.
- Evaluaciones de riesgos asociadas a todo procedimiento nuevo o revisado.
- Gestión de casos de exposición y descontaminación.
- Evacuación de emergencia del personal de los locales.
- Tratamiento médico de emergencia de las personas expuestas y heridas.
- Vigilancia médica de las personas expuestas en un incidente.
- Manejo clínico de las personas expuestas en un incidente.
- Investigación epidemiológica.
- Continuación del funcionamiento después de un incidente.

En la elaboración de este plan, debe estudiarse la inclusión de los siguientes aspectos:

1. Localización de las zonas de alto riesgo, como los laboratorios y las zonas de almacenamiento.
2. Identificación del personal y de las poblaciones expuestas.
3. Identificación de los procedimientos según su nivel de riesgo.

4. Identificación del personal responsable y sus obligaciones, como el oficial de bioseguridad, el personal de seguridad, las autoridades sanitarias locales, clínicos, microbiólogos, veterinarios, epidemiólogos, servicios de bomberos y de policía.
5. Establecimientos de tratamiento y seguimiento que pueden atender a las personas expuestas o infectadas.
6. Transporte de las personas expuestas o infectadas.
7. Provisión de material de emergencia, como ropa protectora, desinfectantes, kits para derrames químicos y biológicos, material y suministros para la descontaminación.

8.2 Procedimientos de respuesta a emergencias en los laboratorios de tuberculosis

8.2.1 Derrames infecciosos (fuera de una CSB)

El derrame de material infeccioso fuera de una CSB se considera un incidente grave. Los derrames de líquidos infecciosos generarán aerosoles infecciosos. Todas las personas deben abandonar de inmediato la zona afectada del laboratorio. Se informará al director del laboratorio inmediatamente sobre el incidente y se impedirá que el personal vuelva a entrar en el laboratorio durante al menos una hora para permitir que los aerosoles sean eliminados por el sistema de ventilación del laboratorio y que se depositen las partículas más pesadas.

Se colocarán signos para indicar que la entrada está prohibida durante las operaciones de limpieza. Es OBLIGATORIO llevar ropa protectora apropiada y protección respiratoria.

Se utilizará el siguiente procedimiento para la limpieza de derrames.

1. Ponerse guantes, una bata de laboratorio protectora con abertura trasera y un respirador.
 2. Entrar en la zona afectada.
 3. Cubrir el derrame con paños o toallas de papel absorbente con el fin de contenerlo.
 4. Verter un desinfectante apropiado sobre las toallas de papel y la zona inmediatamente circundante (en general sirven las soluciones de lejía al 5%).
 5. Aplicar desinfectante de forma concéntrica, comenzando por el borde exterior del derrame y trabajando hacia el centro.
 6. Dejar tiempo suficiente para que el desinfectante actúe antes de retirar ningún material para eliminarlo. Si hay vidrios rotos u otros objetos punzocortantes, utilizar un recogedor o trozo de cartón rígido para reunir el material y colocarlo en un recipiente a prueba de perforaciones para eliminarlo.
 7. Recoger otro material contaminado en una bolsa cerrada para eliminarlo debidamente.
 8. Limpiar y desinfectar la zona del derrame.
3. Dejar las zonas afectadas cubiertas con desinfectante durante 30 a 60 minutos.
 4. Recoger cuidadosamente el material punzocortante contaminado y colocar en un recipiente a prueba de perforaciones para su eliminación.
 5. Todo elemento de equipo o material reutilizable (por ejemplo, cubetas de centrifugadora) que haya recibido salpicaduras debe ser limpiado con el mismo desinfectante.
 6. El equipo eléctrico debe ser comprobado cuidadosamente antes de utilizarse; hay que verificar la integridad de los interruptores y las tomas de tierra.
 7. Recoger otro material contaminado en una bolsa cerrada para eliminarlo debidamente.

8.2.3 Rotura de tubos dentro de cubetas de centrifugadora de cierre hermético (de seguridad)

Siempre deben utilizarse cubetas de centrifugadora de cierre hermético; se cargarán y descargarán en una CSB. Si se produce una rotura durante la centrifugación, los tubos rotos deben eliminarse en un recipiente resistente a las perforaciones y desecharse de inmediato.

Hay que descontaminar las cubetas de centrifugadora sumergiéndolas en un desinfectante apropiado. No debe utilizarse lejía para desinfectar piezas metálicas debido a su efecto corrosivo. También pueden descontaminarse las cubetas en la autoclave.

8.3 Kit de limpieza de derrames

El director del laboratorio será responsable de mantener kits de respuesta en caso de derrames. Se prepararán dos kits de este tipo: uno se situará fuera del laboratorio de contención y el otro en el interior. Los kits constarán de los elementos que se enumeran a continuación.

Todas las personas que hayan estado expuestas al derrame deben acudir a la consulta médica; se mantendrá un registro del incidente.

8.2.2 Derrames infecciosos (contenidos en una CSB)

Cuando se produzca un derrame de material infeccioso dentro de una CSB, el procedimiento de limpieza debe comenzar de inmediato; la cámara debe seguir en funcionamiento.

1. Disponer toallas de papel absorbente sobre la zona del derrame y aplicar solución desinfectante generosamente.
2. Si hay salpicaduras en las paredes de la CSB, limpiar con una capa de papel absorbente bien empapada en solución desinfectante.

Kit de limpieza de derrames:

- Solución de hipoclorito (u otro desinfectante adecuado) almacenada en un frasco opaco.^º
 - Respiradores (una caja).
 - Guantes (una caja).
 - Batas de laboratorio de abertura trasera (4 a 6 batas desechables).
 - Cepillo y recogedor (para la eliminación en caso necesario).
 - Pastillas de cloramina (10 pastillas).
- Toallas de papel absorbente.
 - Jabón.
 - Recipiente imperforable.
 - Bolsas para peligros biológicos.
 - Gafas protectoras (dos pares).

^º El hipoclorito en solución tiene un tiempo de conservación muy corto. En caso de que el derrame haya sido importante, quizá sea preferible preparar la solución desinfectante en el momento de la limpieza.

9. Referencias

1. WHO handbook for guideline development. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 2012.
2. Manual de bioseguridad en el laboratorio, tercera edición. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 2004 (WHO/CDS/CSR/LYO/2004.11). (Disponible también en: http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/CDS_CSR_LYO_2004_11SP.pdf.)
3. Laboratory biorisk management standard: CEN workshop agreement. Bruselas, Comité Europeo de Normalización, 2008 (CWA 15793:2008). (Disponible también en: <ftp://ftp.cenorm.be/public/CWAs/workshop31/CWA15793.pdf>.)
4. Styblo K. *Epidemiology of tuberculosis*. La Haya, Royal Netherlands Tuberculosis Association, 1991.
5. Olsen AM et al. Infectiousness of tuberculosis. *American Review of Respiratory Disease*, 1967, 96:836–870.
6. Qian Y et al. Performance of N95 respirators: reaerosolization of bacteria and solid particles. *AIHA Journal*, 1997, 58:876–880.
7. Segal-Maurer S, Kalkut GE. Environmental control of tuberculosis: continuing controversy. *Clinical Infectious Diseases*, 1994, 19:299–308.
8. Miller JM et al. Guidelines for safe work practices in human and animal medical diagnostic laboratories: recommendations of a CDC-convened, biosafety blue ribbon panel. *MMWR Surveillance Summaries*, 2012, 61(Suppl.):1-102.
9. Rieder L et al. *Priorities for tuberculosis bacteriology services in low-income countries*, 2.º ed. París, Unión Internacional contra la Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias, 2007.
10. Kim SJ et al. Risk of occupational tuberculosis in national tuberculosis programme laboratories in Korea. *International Journal of Tuberculosis and Lung Diseases*, 2007, 11:138–142.
11. *Laboratory services in tuberculosis control. Part II: microscopy*. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 2008 (WHO/TB/98.258).
12. *Acid-fast direct smear microscopy training package*. Atlanta, GA, Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, 2006 (<http://wwwn.cdc.gov/dls/ila/acidfasttraining>, consultado el 12 de octubre de 2012)
13. *Five steps to risk assessment*. Londres, Health and Safety Executive, 2011. (Disponible también en: <http://www.hse.gov.uk/risk/expert.htm>.)
14. Collins HC. *Laboratory-acquired infections*, 2nd ed. Londres, Butterworth, 1988.
15. Rieder HL et al. *The public health service national tuberculosis reference laboratory and the national laboratory network: minimum requirements, role and operation in a low-income country*. París, Unión Internacional contra la Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias, 1998.

16. *Tuberculosis infection-control in the era of expanding HIV care and treatment: addendum to WHO guidelines for the prevention of tuberculosis in health care facilities in resource-limited settings*. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 1999 (Disponible también en: http://whqlibdoc.who.int/hq/1999/WHO_TB_99.269_ADD_eng.pdf.)
17. *Ventilated workstation manual for AFB smear microscopy: manufacturing, validation and user guide*. Silver Spring, MD, Association of Public Health Laboratories, 2011 (http://www.aphl.org/aphlprograms/global/Documents/GH_2011July_VentilatedWorkstationGuidance.pdf, accessed 12 October 2012).
18. Standards Australia International. AS/NZS2252.1:1994, *Biological safety cabinets – biological safety cabinets (Class I) for personal and environment protection*. Sydney, Standards Australia International, 1994.
19. Standards Australia International. AS/NZS 2252.2:1994, *Biological safety cabinets – laminar flow biological safety cabinets (Class II) for personnel, environment and product protection*, Sydney, Standards Australia International, 1994.
20. NSF/ANSI 49 – 2008. *Biosafety cabinetry: design, construction, performance, and field certification*. Ann Arbor, MI, NSF International, 2008. (Disponible también en: http://standards.nsf.org/apps/group_public/download.php/3604/NSF_49-08e-rep-watermarked.pdf.)
21. BS EN 12469:2000. *Biotechnology: Performance criteria for microbiological safety cabinets*. Londres, British Standards Institution, 2000.

Anexo 1: Participantes en la reunión

Grupo de Expertos

Jenny Allen

Medical Research Council
491 Ridge Road, Durban 4000
Sudáfrica

Heather Alexander

Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades
1600 Clifton Road
MS-G35, NE
Atlanta, GA 30333
Estados Unidos de América

Daniela Cirillo

Dependencia de Patógenos Bacterianos Emergentes
Fundación San Raffaele del Monte Tabor (HSR)
Via Olgettina 60
20132- Milán
Italia

Philippe Dubois

Grupo de Intervención Biológica de Urgencia
Institut Pasteur
25 rue du Docteur Roux
75015 París
Francia

Jean Joly

Centro de Salud y Servicios Sociales de la Haute-Yamaska
250 boulevard Leclerc Oeust
Granby, QC J2G 1T7
Canadá

Scott Kreitlein

CUH2A
120 Peachtree Street, NE
Atlanta, GA 30303
Estados Unidos de América

Knut Feldmann

Foundation for Innovative New Diagnostics
16 Avenue de Budé
1202 Ginebra
Suiza

Christopher Gilpin

Organización Internacional para las Migraciones
Route de Morillons
Ginebra 1211
Suiza

Sang Jae Kim

Unión Internacional contra la Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias
101-703 Unjeongmaul, 621 Mabukri
Guseongup, Yongsin
449-560- Kyeonggido
República de Corea

Moses Joba

Laboratorio Nacional de Referencia de Tuberculosis
Ministerio de Salud
16041, Plot 2 Lourdel Road
7062 - Wandegeya
Uganda

Paul Jensen

Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades
1600 Clifton Road
MS-G35, NE
Atlanta, GA 30333
Estados Unidos de América

Shana Nesby

Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades
1600 Clifton Road
MS-G35, NE
Atlanta, GA 30333
Estados Unidos de América

CN Paramasivan

Foundation for Innovative New Diagnostics
16 Avenue de Budé
1202 Ginebra
Suiza

John Ridderhof

Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades
1600 Clifton Road
MSG35, NE
Atlanta, GA 30333
Estados Unidos de América

Thomas M Shinnick

Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades
1600 Clifton Road
MSG35, NE
Atlanta, GA 30333
Estados Unidos de América

Peter van't Erve

Particle Measurement and Validation (PMV)
Kuipersweg 37
3446 JA Woerden
Países Bajos

Funcionarios de la sede de la OMS

May Chu, Reglamento Sanitario Internacional
Sébastien Cognat, Reglamento Sanitario Internacional
Nicoletta Previsani, Reglamento Sanitario Internacional
Jean Iragena, Fortalecimiento de Laboratorios, Alto a la Tuberculosis
Veronique Vincent, Fortalecimiento de Laboratorios, Alto a la Tuberculosis
Karin Weyer, Fortalecimiento de Laboratorios, Alto a la Tuberculosis

Programa Especial de Investigaciones y Enseñanzas sobre Enfermedades Tropicales (TDR)

Andy Ramsay

Anexo 2: Declaraciones de intereses

No declararon intereses:

John Ridderhof
Thomas M Shinnick
Knut Feldmann
CN Paramasivan
Daniela Cirillo
Sang Jae Kim
Christopher Gilpin
Moses Joboba
Shanna Nesby
Jenny Allen
Philippe Dubois

Declararon intereses no significativos (condición de observador)

Jean Joly: Consultor del Programa Especial UNICEF/PNUD/Banco Mundial/OMS de Investigaciones y Enseñanzas sobre Enfermedades Tropicales (TDR) sobre sífilis en 2007.

Paul Jensen: Empleado de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos desde 1987. La bioseguridad es una de las funciones básicas de su cometido en los Centros y ha publicado al respecto. Nunca ha recibido apoyo financiero o en especie de entidades comerciales del sector de la bioseguridad.

Declararon intereses significativos (condición de observador)

Peter van't Erve: Empleado de Particle Measurement and Validation desde 1989. Se trata de una empresa de validación de salas blancas, laboratorios, CSB y cámaras de flujo laminar.

Scott Kreitlein: Empleado de CUH2A desde 2001. Se trata de una empresa de arquitectura e ingeniería de laboratorios. El Sr. Kreitlein declaró su participación en el establecimiento de directrices sobre bioseguridad.

Anexo 3: Cuadro de examen colegiado

Heather Alexander

Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades
1600 Clifton Road
MS-G35, NE
Atlanta, GA 30333
Estados Unidos de América

Pawan Angra

Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades
1600 Clifton Road
MS-G35, NE
Atlanta, GA 30333
Estados Unidos de América

Daniela Cirillo

Dependencia de Patógenos Bacterianos Emergentes
Fundación San Raffaele del Monte Tabor (HSR)
Via Olgettina 60
20132- Milán
Italia

Gerrit Coetsee

Laboratorio Nacional de Referencia de Tuberculosis
Servicio Nacional de Laboratorios de Salud
P.O. Box 1038
Cnr Hospital De Karte Street
Braamfontein 2000 Johannesburgo
Sudáfrica

Edward Desmond

Sección de Micobacteriología y Micología
Laboratorio de Enfermedades Microbianas
Departamento de Salud Pública de California
850 Marina Bay Parkway
Richmond, CA 94804
Estados Unidos de América

Sara Irène Eyangoh

Encargada de Investigaciones
Jefa del Servicio de Micobacteriología
LNR du PNLT
Centre Pasteur du Cameroun
BP 1274 Yaundé
Camerún

Knut Feldmann

Foundation for Innovative New Diagnostics
16 Avenue de Budé
1202 Ginebra
Suiza

Rumina Hasan

Departamento de Patología y Microbiología
Universidad Aga Khan
Stadium Road
P.O. Box 3500
Karachi, 748000
Pakistán

Moses Joloba

Laboratorio Nacional de Referencia de Tuberculosis
Ministerio de Salud
16041, Plot 2 Lourdel Road
7062 - Wandegeya
Uganda

Satoshi Mitarai

Instituto de Investigación de la Tuberculosis
3-1-24 Matsuyama
Kiyose-Shi
204-8533 Tokyo
Japón

Rick O'Brien

Foundation for Innovative New Diagnostics
16 Avenue de Budé
1202 Ginebra

Suiza

Daniel Orozco

Foundation for Innovative New Diagnostics
16 Avenue de Budé
1202 Ginebra
Suiza

CN Paramasivan

Foundation for Innovative New Diagnostics
16 Avenue de Budé
1202 Ginebra
Suiza

Leen Rigouts

Instituto de Medicina Tropical
Nationalestraat 155
B-2000 Amberes
Bélgica

Thomas M Shinnick

Centros para el Control y la Prevención de
Enfermedades
1600 Clifton Road
MS-G35, NE
Atlanta, GA 30333
Estados Unidos de América

Akos Somoskovi

Foundation for Innovative New Diagnostics
16 Avenue de Budé
1202 Ginebra
Suiza

Maria Alice da Silva Telles

Laboratorio de Referencia Nacional
Centro de Referência Prof. Hélio Fraga
Estrada de Curicica no. 2000
Jacarepaguá
RJ 22780-192 Río de Janeiro
Brasil

Elsie Van Schalkwyk

Centro Africano de Capacitación Integrada en
Laboratorios (ACILT)
Servicio Nacional de Laboratorios de Salud
Instituto Nacional de Enfermedades Transmisibles
1 Modderfontein Rd

Private Bag X8
Sandringham 2131
Johannesburgo
Sudáfrica

Funcionarios de la sede de la OMS

Nicoletta Previsani, Reglamento Sanitario
Internacional

Magdi Samaan, Reglamento Sanitario
Internacional

Jean Iragena, Fortalecimiento de Laboratorios,
Alto a la Tuberculosis

Fuad Mirzayev, Fortalecimiento de Laboratorios,
Alto a la Tuberculosis

Wayne van Gemert, Fortalecimiento de
Laboratorios, Alto a la Tuberculosis

Christopher Gilpin, Fortalecimiento de
Laboratorios, Alto a la Tuberculosis



**Organización
Mundial de la Salud**

Global TB Programme

World Health Organization
20 Avenue Appia, 1211-Geneva-27, Switzerland

Information Resource Centre HTM/GTB:

Email: tbdocs@who.int

Website: www.who.int/tb



ISBN 978 92 4 350463 6



9 789243 504636

