



Comisión Honoraria para la
Lucha Antituberculosa y
Enfermedades Prevalentes

MANUAL DE BIOSEGURIDAD Y BIOCUSTODIA. NIVEL 1

Documentos técnicos de Laboratorio
Laboratorio Nacional de Referencia para
Micobacterias

2026



MANUAL DE BIOSEGURIDAD Y BIOCUSTODIA PARA EL NIVEL 1 DE LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS DE DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS.

Versión: 01

Autores:

Lic. Ivalu Tallac, Laboratorio Nacional de Referencia para Micobacterias.

Revisión:

Lic. Yenifer Acevedo, Laboratorio Nacional de Referencia para Micobacterias.

Dra. María Elena Cardoso, Laboratorio Nacional de Referencia para Micobacterias.

Dra. Cecilia Coitinho, Laboratorio Nacional de Referencia para Micobacterias.

Colaboradores:

Personal del Laboratorio Nacional de Referencia para Micobacterias de la Comisión Honoraria para la Lucha Antituberculosa y Enfermedades Prevalentes.

Personal de la Oficina de Comunicación, Diseño y Promoción de la Comisión Honoraria para la Lucha Antituberculosa y Enfermedades Prevalentes.

Multimedia, edición y diseño:

DI Amalia Rodriguez, Oficina de Comunicación, Diseño y Promoción.



Comisión Honoraria para la
**Lucha Antituberculosa y
Enfermedades Prevalentes**

Av. 18 de Julio 2175 - Montevideo – Uruguay

Tel.: +598 2400 1444 / +598 2409 8498

www.chlaep.org.uy/

lab.bacteriologico@chlaep.org.uy

Primera edición digital, abril 2026

CONTENIDO:

| | |
|---|-----------|
| CONTENIDO: | 2 |
| ABREVIATURAS | 7 |
| DEFINICIONES | 9 |
| OBJETIVO | 11 |
| ALCANCE | 11 |
| CONCEPTOS GENERALES | 12 |
| 1. Micobacterias | 12 |
| 2. Tuberculosis | 13 |
| 2.1 Agente infeccioso:..... | 13 |
| 2.2 Patogenia..... | 13 |
| 2.2.1 Infección primaria..... | 14 |
| 2.2.2 Infección latente..... | 14 |
| 2.2.3 Enfermedad tuberculosa..... | 14 |
| 2.3 Mecanismo de propagación y transmisión..... | 15 |
| 2.3.1 Mecanismo de propagación y transmisión en el laboratorio..... | 15 |
| 2.3.2 Contaminación cruzada..... | 16 |
| 2.3.3 Impacto sobre la bioseguridad, de medidas de limpieza, desinfección y esterilización..... | 16 |
| BIOSEGURIDAD | 19 |
| 1. Introducción | 19 |
| 2. Gestión basada en Riesgo | 21 |
| 2.1 Conceptos..... | 21 |
| 2.2 Riesgo en el laboratorio de TB..... | 21 |
| 2.3 Mapa de riesgo en el trabajo..... | 23 |
| 2.4 Análisis de riesgo..... | 24 |
| 2.4.1 Metodología sugerida para el Análisis de riesgo..... | 25 |
| 2.4.2 Estrategia a seguir una vez realizado el Análisis de riesgo..... | 26 |
| 3. Medidas de contención y niveles de bioseguridad | 29 |
| 3.1 Niveles de bioseguridad en los laboratorios de la RNLTB..... | 31 |
| 3.2 Contención primaria en nivel 1..... | 32 |
| 3.2.1 Buenas prácticas de laboratorio:..... | 32 |
| 3.2.2 EPP..... | 33 |
| 3.2.2.1 Vestimenta en nivel 1 de bioseguridad:..... | 34 |
| 3.2.2.2 Guantes:..... | 35 |
| 3.2.2.3 Mascarillas faciales autofiltrantes N95 y FFP2:..... | 35 |
| 3.2.2.4 Gafas (lentes) de seguridad:..... | 36 |
| 3.2.3 Equipamiento: Manejo seguro de equipos..... | 37 |
| 3.2.3.1 CSB..... | 37 |
| 3.2.3.2 Agitador vortical:..... | 39 |
| 3.2.3.3 Centrífuga..... | 40 |
| 3.2.3.5 Autoclave..... | 41 |
| 3.3 Contención secundaria en nivel 1:..... | 43 |
| 3.3.1 Controles administrativos..... | 43 |
| 3.3.2 Infraestructura..... | 43 |
| 4. Gestión de REAS | 46 |
| 4.1 Clasificación de los residuos..... | 46 |

| | |
|--|-----------|
| 4.2 Descarte de los residuos según su clasificación..... | 47 |
| 5. Accidentes: Derrames..... | 50 |
| 5.1 Derrame de muestra biológica potencialmente infecciosa fuera de CSB con baja probabilidad de producción de aerosoles:..... | 50 |
| 5.2 Derrame de muestra biológica potencialmente infecciosa fuera de CSB con alta probabilidad de generación de aerosoles:..... | 51 |
| 5.3 Derrame de muestra biológica potencialmente infecciosa dentro de una CSB:..... | 52 |
| 5.4 Accidente dentro de centrífuga:..... | 52 |
| BIOCUSTODIA..... | 53 |
| 1. Introducción..... | 53 |
| 2. Definiciones en biocustodia..... | 53 |
| 3. Instalaciones a las que aplican las obligaciones de biocustodia..... | 54 |
| 4. Medidas a implementar desde el punto de vista de la biocustodia..... | 56 |
| 5. Situación de Uruguay..... | 58 |
| ANEXO..... | 59 |
| 1. Ventajas y desventajas de las medidas de contención..... | 59 |
| 2. Inactivación de BAAR con reactivo de muestra de Xpert MTB Rif..... | 59 |
| 3. Ejemplos de mapas de riesgo..... | 60 |
| 4. Instructivo uso y limpieza de CSB..... | 61 |
| 5. Instructivo de uso y limpieza de vortex..... | 63 |
| 6. Instructivo de uso y limpieza de CCB..... | 64 |
| 7. Instructivo de lavado de manos..... | 64 |
| 8. Guantes:..... | 66 |
| 1. Colocación de guantes..... | 66 |
| 2. Remoción de guantes..... | 67 |
| 9. Mascarillas autofiltrantes..... | 68 |
| 9.1 Colocación de las mascarillas..... | 68 |
| 9.2 Remoción de la mascarilla..... | 70 |
| 10. Tiempo estimado para la eliminación de aerosoles..... | 71 |
| 11. Desinfectantes utilizados en el manejo de micobacterias..... | 71 |
| 12. Kit para derrames..... | 73 |
| 13. Planillas para Análisis de Riesgo..... | 74 |
| 14. Equipo para descarga de autoclave:..... | 77 |
| 15. Cómo setear la velocidad de una centrífuga en RPM:..... | 78 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 79 |

ABREVIATURAS.

| | |
|----------------|---|
| BAAR | Bacilos Ácido-Alcohol Resistentes |
| BSL | Niveles de Bioseguridad (por su sigla en inglés) |
| CCB | Centrífuga de Contención Biológica |
| CED | Control Externo de Desempeño |
| CHLA-EP | Comisión Honoraria para la Lucha Antituberculosa y Enfermedades Prevalentes |
| CSB | Cabina de Seguridad Biológica |
| DIM | Dosis Infecciosa Mínima |
| EPP | Equipo de Protección Personal |
| EPC | Equipos de Protección Colectiva |
| ESAT-6 | Antígeno secretado temprano de 6 kDa (por su sigla en inglés) |
| FL | Flujo Laminar |

Xpert MTB/RIF Ultra

Sistema automatizado de diagnóstico molecular avalado por la OMS, que detecta simultáneamente la presencia de tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*) y su resistencia al antibiótico rifampicina. Utiliza PCR en tiempo real, dentro de un cartucho cerrado, evitando el riesgo de contaminación y minimizando la manipulación.

| | |
|-------------|--|
| HEPA | Filtro de aire de alta eficiencia para partículas (por su sigla en inglés). |
| IAH | Intercambio de Aire por Hora |
| IGRA | Ensayos de liberación de interferón gamma en sangre (por su sigla en inglés) |
| LNR | Laboratorio Nacional de Referencia |
| MBV | Materiales Biológicos Valiosos |
| MNT | Micobacterias No Tuberculosas |
| MR | Mapa de Riesgo |
| MTB | <i>Mycobacterium tuberculosis</i> |
| OMS | Organización Mundial de la Salud |
| OPS | Organización Panamericana de la Salud |
| PCR | Reacción en Cadena de la Polimerasa |
| PI | Pruebas de Identificación |
| PNT | Programa Nacional de Tuberculosis |

| | |
|---------------|--|
| POE | Procedimiento Operativo Estandarizado |
| PPD | Derivado Proteico Purificado |
| PSF | Pruebas de Sensibilidad Fenotípicas a fármacos |
| QC | Control de Calidad (por su sigla en inglés) |
| REAS | Residuos en Establecimientos de Atención en Salud |
| RLDT | Red de Laboratorios para el Diagnóstico de Tuberculosis |
| SGB | Sistema de Gestión de Bioseguridad |
| TB | Tuberculosis |
| TB-MDR | Tuberculosis Multidrogorresistente |
| TB-RR | Tuberculosis Resistente a Rifampicina |
| TB-XDR | Tuberculosis extremadamente resistente |
| UPS | Dispositivo de alimentación estabilizada ininterrumpida (por su sigla en inglés) |
| UV | Luz UltraVioleta |

DEFINICIONES.

Aerosol (infeccioso): Suspensión de partículas (de un agente infeccioso) que puede ser inhalada y provocar infección.

Agente biológico: Cualquier organismo microbiológico, celular o no celular, natural o diseñado por ingeniería, capaz de replicarse o de transferir material genético, que pueda provocar una infección, alergia, toxicidad u otros efectos adversos en humanos, animales o plantas. Ej.: bacterias, hongos, virus, viroides, endoparásitos y ectoparásitos. A los fines de este documento, los priones se consideran agentes biológicos.

Bactericida: Método o agente químico capaz de matar o destruir bacterias.

Bacteriostático: Método o agente químico capaz de inhibir el crecimiento bacteriano, pero no necesariamente capaz de matar al microorganismo.

Buenas prácticas y procedimientos microbiológicos: Las buenas prácticas en un laboratorio microbiológico consisten en actividades que dependen de varios principios: técnicas asépticas, control de medios, control de cepas de referencia, operación y control de equipos, registro detallado y evaluación de datos, así como capacitación del personal de laboratorio.

CBS: Son equipos que han sido diseñados para mantener un área denominada zona de trabajo, libre de partículas o de probables contaminantes, como agentes patógenos, que puedan alterar el producto con el cual se trabaja, afectar la salud del trabajador, o afectar el medio ambiente. La protección se logra mediante la combinación de elementos electromecánicos/electrónicos (motor, ventilador, filtro, ductos, iluminación, etc.), y procesos físicos (flujo laminar, diferencias de presiones) que impulsan el aire a través de filtros HEPA (eficiencia mínima de retención de partículas del 99,97%).

Cepas: Grupos de microorganismos recuperados en los cultivos bacterianos.

Contaminación cruzada: Transferencia no planificada de material de una muestra o un cultivo/reactivo a otra muestra u otro cultivo/reactivo.

Contaminado: Se refiere a toda superficie, animada o inanimada, donde hay presencia de microorganismos.

Cultivo bacteriano: Conjunto de bacterias crecidas en un medio de cultivo artificial con el objetivo de detectar la presencia de un microorganismo.

Enfermedad: Alteración y desviación del estado fisiológico en una o varias partes del cuerpo, por causas en general conocidas, manifestada por *síntomas* y *signos* característicos, y cuya evolución es más o menos previsible.

ESAT-6: es una proteína secretada por *Mycobacterium tuberculosis*. Es un importante antígeno de células T y se utiliza en pruebas diagnósticas de tuberculosis, como el ensayo QuantiFERON-TB Gold, junto con CFP-10.

Filtros HEPA: Filtros que tienen una eficiencia de retención de partículas del 99,97%. Dichos filtros se conocen internacionalmente como filtros HEPA y resultan adecuados para retener los aerosoles.

Flujo de trabajo: es una descripción ordenada de "la forma en que sucede" la tarea dentro del laboratorio, estableciendo una serie de pasos para indicar cómo deben tener lugar los acontecimientos durante un periodo de tiempo, con el fin de optimizar los procedimientos y prevenir accidentes.

Infeción: Entrada y desarrollo de gérmenes patógenos en un organismo.

Limpio: Zona o artículo que tiene menos probabilidades de contener bacilos de TB o de estar contaminado con ellos u otros agentes infecciosos.

Linfocitos Th1: Desempeñan un papel crucial en la inmunidad mediada por células, especialmente contra patógenos intracelulares. Están involucrados en la activación de macrófagos y linfocitos citotóxicos, y producen citocinas como IFN- γ e IL-2 para potenciar la respuesta inmune celular.

Material biológico: Cualquier material compuesto por, o que contenga o que pueda contener, *agentes biológicos* y/o sus productos perjudiciales, como toxinas y alérgenos. Ej.: sangre, secreciones o tejidos de origen humano o animal. Otros materiales biológicos incluyen residuos o material orgánico provenientes de la naturaleza, cultivo o medios de conservación y/o cultivos celulares provenientes de humanos, animales y plantas.

Mitigación de riesgo: La mitigación del riesgo es el proceso de comprender ciertos riesgos y amenazas, aceptar que existen y tomar las medidas adecuadas para reducir sus efectos en caso de que se produzcan.

POEs: Procedimientos operativos estandarizados, que establecen las instrucciones paso a paso que el personal del laboratorio debe seguir meticulosamente en cada actividad.

Quanta: El término "quanta" se refiere a la cantidad mínima de una entidad física que participa en una interacción. Aplicado en microbiología hace referencia a la cantidad mínima necesaria de microorganismos capaz de provocar una infección. Se utiliza como sinónimo de DIM.

Riesgo relativo: Es la medida de riesgo de que suceda algo en determinado grupo de personas expuestas a un factor, comparado con otro grupo no expuesto al mismo factor.

Saprofita: Organismo que obtiene sus nutrientes y energía a partir de la descomposición de materia orgánica muerta. Las bacterias saprofitas se pueden encontrar normalmente en la piel, boca, nariz, oídos, ojos e intestinos, y se las conoce como microbiota saprófita, y superan en número a nuestras propias células en una proporción de 10 a 1.

Sucio: Un zona o artículo que tiene más probabilidades de contener bacilos de TB o de estar contaminado con ellos u otros agentes infecciosos.

Toxina: Sustancia producida por plantas, animales, protistas, hongos, bacterias o virus, que en pequeñas o moderadas cantidades producen un efecto adverso en humanos, animales o plantas.

TB-MDR: La tuberculosis multidrogorresistente se define como la resistencia simultánea a isoniacida y rifampicina.

TB-XDR: La tuberculosis extremadamente resistente o de resistencia extendida implica resistencia al menos a rifampicina, isoniacida, quinolonas y por lo menos uno de los siguientes: linezolid y/o bedaquilina.

OBJETIVO.

Este manual tiene por objetivo constituir una guía para el personal de los laboratorios Nivel 1 de la RNLDT, para el desarrollo del trabajo en forma segura, reduciendo el riesgo de infección, accidentes o lesión tanto para el personal como para la comunidad.

ALCANCE.

El presente manual aplica al personal técnico y auxiliar de los laboratorios Nivel 1 de la RLDT:

- Auxiliares de laboratorio
- Licenciados en laboratorio clínico
- Bioquímicos clínicos
- Médicos microbiólogos
- Médicos patólogos clínicos

Así como al personal administrativo y auxiliar de servicio de los laboratorios e instituciones, encargados de la limpieza y desinfección del área de microbiología en particular, y del laboratorio en general.

CONCEPTOS GENERALES.

1. Micobacterias

El género *Mycobacterium* comprende más de 100 especies que se distribuyen actualmente en tres grandes grupos:

El primero, es el **complejo M. tuberculosis**, que incluye a las especies causantes de la tuberculosis humana o animal no siendo saprofitas. El complejo está formado por: *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti* y otras menos frecuentes, como *M. canetti*, *M. pinnipedii*, *M. mungi*, *M. orygis* y *M. suricattae*.

En el segundo, se encuentran las **micobacterias no tuberculosas**, también llamadas **micobacterias atípicas**, con amplia distribución en la naturaleza en diversos ecosistemas. No son patógenas primarias en condiciones habituales, comportándose entonces como micobacterias oportunistas, sobre todo en los casos de personas con inmunodeficiencias. Algunos ejemplos son: *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, entre otros, con diferentes presentaciones clínicas (ver tabla 1).

En el tercer grupo se incluye a *M. leprae* y *M. lepromatosis*, micobacterias no saprofitas, causante de la lepra, también llamada enfermedad de Hansen.

La presentación clínica de la enfermedad es muy variable y corresponde a un espectro de manifestaciones resultantes de la interacción del bacilo y la respuesta inmune del paciente.

Tabla 1. Diferentes presentaciones clínicas

| Especie | Infección | | | | | |
|------------------------------|-----------|---------------------------|--------------------|----------------|----------------------------|---------------------------|
| | Pulmonar | Ganglionar ⁽¹⁾ | Cutánea Subcutánea | Osteoarticular | Post quirúrgica/traumática | Diseminada ⁽²⁾ |
| Complejo <i>M. avium</i> | +++ | ++ | - | - | - | +++ |
| <i>M. abscessus</i> | + | - | + | - | + | - |
| <i>M. chelonae</i> | - | - | ++ | - | + | - |
| Complejo <i>M. fortuitum</i> | + | - | + | + | + | - |
| <i>M. haemophilum</i> | - | + | +++ | + | - | - |
| <i>M. kansasii</i> | +++ | + | - | - | - | + |
| <i>M. malmoense</i> | + | + | - | - | - | - |
| <i>M. marinum</i> | - | - | +++ | + | - | - |
| <i>M. ulcerans</i> | - | - | +++ | - | - | - |
| <i>M. xenopi</i> | +++ | - | - | - | - | - |
| <i>M. goodii</i> | - | - | + | - | - | - |
| <i>M. scrofulaceum</i> | - | ++ | - | - | - | + |

(1) Linfadenitis (2) Infección diseminada en el paciente inmunodeprimido

2. Tuberculosis

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa y contagiosa causada por micobacterias del complejo *M. tuberculosis*. A menudo tiene un período latente asintomático después de la infección inicial. Afecta con mayor frecuencia los pulmones, aunque puede alojarse en cualquier órgano. Los síntomas incluyen tos productiva, fiebre, pérdida de peso y malestar general.

2.1 Agente infeccioso:

Complejo *M. tuberculosis*.

| | |
|---------------------------------|---|
| Reservorio: | Humano (principal). También hay reservorios animales en algunas especies del complejo (especialmente ganado bovino). |
| Hospedero: | Humano (principal). Animales susceptibles: ganado bovino, caprino, otros mamíferos domésticos y silvestres. |
| Distribución geográfica: | Global. |
| Supervivencia ambiental: | Capaz de sobrevivir durante meses en el esputo mantenido en un lugar fresco y oscuro; semanas en cadáveres, alfombras, papel, ropa, o formando parte del polvo. Es muy sensible al calor, a la luz solar y a la luz ultravioleta, pero es resistente al frío, la congelación y la desecación. |
| Vías de entrada: | Respiratoria, mucosa, percutánea. |
| DIM: | Menos de 10 bacilos por inhalación. |

2.2 Patogenia.

Dependiendo de la virulencia del germen, de su concentración y de las defensas del huésped, se puede desarrollar una enfermedad infecciosa (causada por una lesión celular local, secreción de toxinas o por la reacción antígeno anticuerpo), una enfermedad subclínica, una convivencia inocua o una resolución: curación.

La evolución entre la infección por *Mycobacterium tuberculosis* y la tuberculosis activa o enfermedad tuberculosa, es multifactorial e implica diferentes escalas biológicas. La síntesis de ESAT-6 o la inducción de la necrosis de los macrófagos alveolares son claves, debiendo tenerse en cuenta también las dinámicas de reinfección endógena y exógena, el drenaje del parénquima pulmonar y la mecánica respiratoria, los procesos de fibrosis locales y la irrigación sanguínea. Paradójicamente, la respuesta inmune generada por la infección es altamente protectora (90%) contra la tuberculosis activa, pero al basarse esencialmente en la proliferación de linfocitos Th1 no puede evitar la reinfección. La inmunosupresión severa tan sólo puede explicar un 10% de los casos de tuberculosis activa, mientras que el resto es favorecido por comorbilidades, un ambiente proinflamatorio y una propensión genética desconocida.

Si bien actualmente se considera el desarrollo de la tuberculosis como un proceso dinámico y continuo, puede entenderse en 3 etapas:

:

- Infección primaria
- Infección latente
- Enfermedad tuberculosa

2.2.1 Infección primaria

Los bacilos inhalados son fagocitados por los macrófagos a nivel pulmonar (ver punto 2.3). Aquellos bacilos que no logran ser destruidos por estos macrófagos se replican dentro de los mismos, y una vez que se da la destrucción de la célula hospedera, son liberados al espacio intersticial. La respuesta inflamatoria en el área, producto de una reacción de hipersensibilidad retardada, provoca necrosis granulomatosa típica con aspecto histológico de necrosis caseosa (ver 2.2), causando una neumonitis localizada con lesiones cavitarias, en especial en pacientes inmunodeficientes con compromiso de la hipersensibilidad retardada.

Durante las primeras semanas de la infección, algunos macrófagos infectados migran a los ganglios linfáticos regionales (ej: hiliar, mediastínico), donde acceden al torrente sanguíneo. Luego, se diseminan por vía hematogena hacia cualquier parte del organismo, en especial la porción apicoposterior de los pulmones, las epífisis de los huesos largos, los riñones, los cuerpos vertebrales y/o meninges, pudiendo infectar cada uno de los órganos y desarrollar la enfermedad o permanecer latentes.

La infección primaria en la mayoría de los casos es asintomática. Un porcentaje desconocido de éstas se resuelve espontáneamente, aunque la mayoría evoluciona a una fase de latencia asintomática, y entre el 5 y 10% de las infecciones latentes se reactiva con signos y síntomas, progresando finalmente a la enfermedad clínica, de gravedad variable (enfermedad tuberculosa).

2.2.2 Infección latente

En aproximadamente el 95% de los casos, el sistema inmune inhibe la replicación bacilar, generalmente antes de que aparezcan signos o síntomas. Los focos de bacilos en los pulmones u otros sitios se transforman en granulomas de células epitelioides, que pueden tener centros caseosos y necróticos. Los bacilos tuberculosos pueden sobrevivir en estas condiciones por años, y el balance entre la resistencia del huésped y la virulencia del microorganismo determina la posibilidad de que la infección se resuelva sin tratamiento, permanezca latente o se active, pasando a desarrollar la enfermedad.

Los sitios de infección latente son procesos dinámicos y no están completamente inactivos como se creía antes.

Tanto el PPD como el IGRA se positivizan durante esta fase, siendo las únicas pruebas útiles para el diagnóstico de la infección latente.

2.2.3 Enfermedad tuberculosa

Una vez que se produce la infección, entre el 2 y el 5% de las personas padecerá la enfermedad en un plazo de 2 años, y otro 2 a 5% padecerá la enfermedad en algún momento de su vida. Las personas inmunodeprimidas tienen un riesgo mucho mayor de progresión de la infección a la enfermedad. Los factores de riesgo incluyen coinfección por el VIH, diabetes, tratamientos con quimioterapia, desnutrición, consumo de tabaco y enfermedades crónicas, entre otros.

En la enfermedad tuberculosa, el foco primario progresa causando en la mayoría de los casos una enfermedad aguda con neumonía (a menudo cavitaria), derrame pleural y aumento significativo del tamaño del mediastino o los ganglios linfáticos hiliares.

La tuberculosis extrapulmonar puede aparecer en cualquier sitio y manifestarse sin evidencias de compromiso pulmonar. Las adenopatías tuberculosas son la manifestación extrapulmonar más común y la meningitis tuberculosa la presentación con tasa de mortalidad más elevada en los extremos de la vida.

Cualquier órgano afectado por la infección primaria puede alojar un foco de reactivación aunque se identifican con mayor frecuencia en los vértices pulmonares, lo que puede deberse a las condiciones más favorables, como la tensión elevada de oxígeno. Las patologías que deterioran la inmunidad celular (esencial para la defensa contra la tuberculosis) facilitan significativamente la reactivación.

En algunos pacientes, la enfermedad se desarrolla cuando son re infectados, en lugar de darse una reactivación de la enfermedad latente. Es más probable que la reinfección sea el mecanismo en áreas donde la tuberculosis es prevalente y los pacientes están expuestos a un gran inóculo de bacilos. La reactivación de la infección latente predomina en zonas de baja prevalencia. En un paciente en particular, es difícil determinar si la enfermedad activa es resultado de la reinfección o la reactivación.

2.3 Mecanismo de propagación y transmisión.

La TB se transmite de persona a persona, por los aerosoles aerotransportados (10-100 μm) emanados al toser, estornudar, hablar o cantar: **gotas de Flügge**. Estos aerosoles, pueden ser inhalados llegando a los bronquios, pudiendo provocar infección. A su vez, si se desecan, se transforman en aerosoles más pequeños (2 a 5 μm de diámetro) o **núcleos de Wells** que pueden contener entre 1 y 3 bacilos tuberculosos. Por su tamaño, el mecanismo de infección resulta ser más efectivo que las gotas de Flügge, ya que permanecen en el aire más tiempo y pueden ser inhalados más fácilmente, llegando rápidamente hasta los conductos alveolares. Éstos núcleos logran permanecer en el aire horas o incluso días, pasando de un sector a otro a través de corrientes de aire o de circuitos de aire acondicionado.



La DIM o *quanta* liberada al medio, difiere según las condiciones del ambiente, y las personas expuestas requerirán mayor o menor tiempo de exposición para infectarse. Si la *quanta* liberada es elevada se necesitará un menor tiempo de exposición o permanencia en el área.

Otras formas menos frecuentes de transmisión son el contacto de las mucosas con materiales que contengan BAAR o la inoculación accidental.

2.3.1 Mecanismo de propagación y transmisión en el laboratorio.

*El mayor riesgo de infección por TB en el laboratorio está asociado a la **inhalación de aerosoles generados** en los **procedimientos técnicos**.*

Menos del 20% de las infecciones adquiridas en el laboratorio pueden atribuirse a un accidente reconocido. El resto no tiene una causa identificable, pero la inhalación de aerosoles es la más probable, por lo que todos los aerosoles deben considerarse potencialmente infecciosos.

Un buen procedimiento técnico que **minimice** la formación de **aerosoles** resulta ser la mejor protección, y posiblemente el medio más eficaz para mantener la seguridad del personal.

Es importante tener en cuenta que estos aerosoles también pueden provocar contaminación de materiales, medios de cultivo, reactivos, aislamientos y de otras muestras, dando lugar a desperdicio de recursos, horas de trabajo y la posibilidad de emisión de resultados falso positivo, con el impacto que esto puede tener en la salud de los pacientes.

Existe una serie de actividades que aumentan el riesgo de producción de aerosoles debido a la fuerza mecánica del procedimiento:

- Agitación vortical (vortex)
- Centrifugado
- Mezclado (inversión)
- Pipeteo

En estas actividades se debe extremar tanto las buenas prácticas de seguridad como la limpieza y mantenimiento de los equipos involucrados, temas que se desarrollan más adelante (Ver puntos 3.2 y 3.3).

2.3.2 Contaminación cruzada.

La contaminación cruzada es la transferencia *no planificada* de un microorganismo, desde un objeto a otro, pudiendo tener distintas consecuencias dependiendo de el objeto al que sean transferidos:

- BAAR de guantes contaminados transferidos a objetos (dispositivos móviles, puertas, teclados, etc.): confiere **riesgo para la salud** del personal.
- BAAR en aerosoles de una muestra positiva, transferidos a otra: afecta el resultado de una muestra y/o paciente.
- BAAR de una muestra transferidos a un reactivo: puede contaminar varios cultivos y/o pruebas.

2.3.3 Impacto sobre la bioseguridad, de medidas de limpieza, desinfección y esterilización.

Para mantener un ambiente seguro, es fundamental minimizar la contaminación microbiana de las superficies y equipos. Para ello se requiere una correcta limpieza y desinfección.

Se observó que los microorganismos pueden persistir viables en superficies y equipos por períodos prolongados (Tabla 2).

Tabla 2: Ejemplos de microorganismos y su permanencia en el ambiente. (Kramer y col)

| Microorganismo | Permanencia en el ambiente |
|-----------------------------------|----------------------------|
| <i>Mycobacterium tuberculosis</i> | 1 día a 4 meses |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 7 días a 7 meses |
| <i>Escherichia coli</i> | 90 minutos a 16 meses |
| <i>Candida albicans</i> | 1 día a 3 meses |

Como se puede ver en la tabla 2, *Mycobacterium tuberculosis* es capaz de permanecer vivo en el ambiente de 1 a 120 días. Por lo tanto, una buena limpieza y desinfección de las áreas es fundamental en los laboratorios de tuberculosis.

Conceptos generales:

Limpieza: es la **remoción** de material extraño como suciedad, tierra, polvo y material orgánico (ej: sangre, secreciones, excreciones) de una superficie u objeto. La limpieza física ayuda a reducir el número de microorganismos en una superficie. Se realiza con agua, detergentes y la acción mecánica necesaria para remover los microorganismos y desechos.

Desinfección: es un proceso que se aplica a objetos inanimados y superficies para **inactivar** agentes biológicos viables o reducir su número hasta niveles seguros.

Para la desinfección se utilizan métodos químicos: desinfectantes. (Ver anexo 11). Este método se utiliza en caso de que los materiales no resistan el calor (ej: plástico) o su naturaleza no lo permita (ej: superficies, pisos).

Esterilización: La esterilización **destruye** toda vida microbiana en un objeto o superficie, y se realiza por medio del calor, presión o métodos químicos.

La esterilización a vapor es el procedimiento de esterilización más común y eficaz (excepto para los materiales que no resisten el calor y la humedad), y el equipo que se utiliza es el **autoclave**. Este método se debe considerar de elección cada vez que los materiales lo permitan.

Importante: sólo se puede desinfectar o esterilizar aquello que está previamente limpio.



En el caso de objetos contaminados con materiales potencialmente infecciosos, se debe realizar una esterilización previa a la limpieza húmeda, con el fin de eliminar los microorganismos presentes en el material y así evitar el riesgo de infección.



Para profundizar en el tema de limpieza, desinfección y esterilización en el laboratorio Nivel 1, se recomienda el *MANUAL PARA LA LIMPIEZA, DESINFECCIÓN, ESTERILIZACIÓN Y GESTIÓN DE RESIDUOS*. Versión 01. Dra. María Elena Cardoso, Laboratorio Nacional de Referencia para Micobacterias. 2024.

BIOSEGURIDAD.

1. Introducción.

Definimos **Bioseguridad** como el conjunto de medidas eficaces reconocidas internacionalmente, tanto preventivas como correctivas, orientadas a proteger la salud y la seguridad del personal y su entorno, para evitar el contagio accidental de infecciones con patógenos contenidos en las muestras y/o cultivos, así como los riesgos relacionados con la exposición a agentes químicos, físicos o mecánicos a los que está expuesto el personal en los laboratorios.

El Manual de Bioseguridad para el Nivel 1 de la Red de Laboratorios para el Diagnóstico de Tuberculosis (ver punto 3.1), es un documento con pautas y estándares de bioseguridad que permiten realizar las tareas correspondientes a dicho nivel como son la baciloscopia y las pruebas automatizadas de PCR en tiempo real, de manera adecuada y segura.

La existencia de un mayor riesgo de infección por tuberculosis para los trabajadores de la salud, el aumento sostenido de casos y la circulación de cepas resistentes, hace imprescindible adherirse estrictamente a las medidas de bioseguridad en el laboratorio. Trabajar de manera segura reduce el riesgo de infección o lesión tanto para el funcionario que las realiza, como para el resto del personal y la comunidad.

Dado el aumento en la carga de trabajo a la que se enfrentan los laboratorios de Nivel 1 resulta de vital importancia que las tareas se desarrollen de manera segura, y que todo el personal del laboratorio tenga una buena capacitación técnica, utilice los equipos de seguridad y EPP adecuados, conozca los riesgos que existen y esté preparado para tomar medidas correctivas inmediatas frente a la detección de riesgo o cualquier accidente ocurrido en el laboratorio.

Es responsabilidad de la dirección del laboratorio el cumplimiento de las normas de bioseguridad dentro de los laboratorios de Nivel 1 de la red, y asegurar que cada trabajador tenga formación correcta en:

- Conocimiento de los síntomas de la enfermedad.
- Importancia de la distribución de áreas del laboratorio, la ventilación y el conocimiento de la planta física.
- Prácticas de manejo adecuado y seguro de las muestras biológicas.
- Uso de CSB.
- Uso de EPP.
- Procedimientos frente a accidentes y derrames.
- Manejo de REAS.

Es importante tender hacia la implementación de un **Sistema de Gestión de Bioseguridad**, por el cual entendemos al conjunto de elementos de una *organización*, que interactúan para dirigir y controlar atendiendo el riesgo biológico, estableciendo *políticas, objetivos, y procesos* para lograr esos *objetivos*.

Los elementos del SGB incluyen la estructura de la organización/laboratorio, los roles, las responsabilidades, la planificación y la operación.

Se basa en el concepto de mejora continua a través de un ciclo de planificación, implementación y revisión de procesos, así como en prácticas y procedimientos

adecuados para trabajar con seguridad en los laboratorios. Todas estas medidas deben ser evaluadas mediante revisión y actualización periódica.

Los factores clave para implementar este sistema de gestión incluyen:

- Compromiso de la alta dirección para brindar recursos adecuados.
- Priorizar y comunicar la política de bioseguridad y biocustodia.
- Determinar las causas de incidentes y prevenir la recurrencia.
- Identificar oportunidades de mejora.

Es importante contar en el laboratorio con un **referente de bioseguridad**, que gestione la mejora continua, mediante la planificación, implementación y revisión de los procesos, con la finalidad de brindar prácticas adecuadas para trabajar de manera segura. Es necesario que este funcionario cuente con un horario protegido para esta tarea, pautado con la dirección respetando las necesidades del servicio.

Es imprescindible la adhesión por parte de todo el personal, tanto técnico, como administrativo y de servicio, a las prácticas de bioseguridad y la evaluación de las competencias técnicas en forma periódica.

2. Gestión basada en Riesgo.

2.1 Conceptos

Se hace necesario precisar algunos conceptos, con el propósito de unificar criterios respecto de los términos frecuentemente empleados en la gestión integral del riesgo:

| | |
|----------------------|---|
| Peligro: | fuente, situación o acto con potencial para causar daño o deterioro de la salud, o una combinación de estos. |
| Probabilidad: | grado de posibilidad de que ocurra un suceso adverso. |
| Consecuencia: | efecto de un suceso adverso que puede tener distintos grados de gravedad. |
| Riesgo: | probabilidad de que se produzca un suceso adverso en el que interviene un peligro y/o una amenaza concretos, y que tiene una consecuencia dada. |
| Incidente: | suceso no deseado que puede generar o no un daño y puede comprometer la calidad de los resultados. |
| Accidente: | suceso relacionado con un peligro, que da lugar a que se produzca daño, con diferentes consecuencias. |

Un peligro configura un **riesgo** sólo en presencia de un entorno o una situación concreta.

Ejemplo: teniendo en cuenta la definición anterior, un tiburón configura un **peligro**, pero implica un **riesgo** únicamente si la persona se encuentra en su hábitat, de lo contrario, la **probabilidad** de que ocurra un suceso adverso con **consecuencias**, es nula.

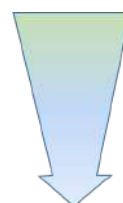
2.2 Riesgo en el laboratorio de TB

El objetivo principal de un SGB, es reducir al mínimo el **riesgo**, y para ello la primera regla es la eliminación o sustitución del **peligro**. Cuando esto no es posible, lo que se debe hacer es modificar las **circunstancias** de manera de disminuir la probabilidad de que ocurra un suceso adverso.

En el laboratorio de TB nivel 1, el mayor **peligro** es *Mycobacterium tuberculosis*, la aerosolización es el mayor **riesgo**, y la enfermedad tuberculosa la **consecuencia** más grave.

En este caso, el peligro no puede eliminarse o sustituirse, así que las actividades o procedimientos se evalúan de acuerdo al riesgo de **generar aerosoles** y la **carga bacilar** de las muestras, y se ponen en marcha las medidas de contención (capítulo 4) en el siguiente orden, que deriva de la eficacia e impacto directo que tienen sobre la seguridad (ver anexo 1):

1. Eliminación o sustitución del peligro
2. Controles de ingeniería
3. Controles administrativos
4. Prácticas y procedimientos
5. EPP



En un estudio realizado por Kim SJ y colaboradores, se comparó al personal administrativo sin contacto directo con el laboratorio con personal que realiza baciloscopías, cultivos, PI y PSF. Los resultados muestran que el personal administrativo tiene un riesgo relativo similar al de la comunidad en general: 1.0 (ver tablas 3 y 4). Dado al número relativamente pequeño de personal por actividad, los intervalos de confianza son necesariamente amplios:

Tabla 3. Riesgo Relativo según actividad en el laboratorio de TB. Estudio retrospectivo realizado por Kim SJ y colaboradores.

| Actividad | Riesgo relativo | Intervalo de confianza del 95% |
|-------------------|-----------------|--------------------------------|
| Administración | 1.0 | |
| Solo baciloscopía | 1.4 | 0.2 – 10.0 |
| Solo cultivo | 2.0 | 0.2 – 13.3 |
| Cultivo y PSF | 7.8 | 1.7 – 34.9 |
| Solo PSF | 21.5 | 4.5 – 102.5 |

Tabla 4. Riesgo Relativo (OMS-OPS)

| Actividad | Riesgo Relativo | Proceso |
|---------------------|-----------------|--|
| Xpert MTB/RIF Ultra | ≤ 1.4 | Equivalente a baciloscopia. La solución amortiguadora de lisis reduce la viabilidad de los BAAR en 10 ⁶ en 15 minutos. (ver anexo 2) |
| LPAs en muestras | ≤ 2.0 | Equivalente al cultivo. Procesamiento de las muestras igual a cultivo. El paso de extracción de ADN inactiva los BAAR. |
| LPAs en cultivo | ≤ 21.5 | Puede ser tan alto como para la prueba de sensibilidad a fármacos. Requiere manipulación de un cultivo positivo. El paso de extracción de ADN inactiva los BAAR. |

Estos datos confirman que tanto la técnica de baciloscopía como la realización de Xpert MTB/RIF Ultra u otras técnicas de diagnóstico molecular rápido, implican un riesgo **bajo** de contaminación. En aquellos casos donde se deba concentrar mediante proceso de centrifugación, el riesgo aumenta a riesgo **medio**.

Por lo tanto, los laboratorios de Nivel 1 estarán ubicados dentro de BSL 2 (ver 3.1) y se aplicarán las medidas de contención primaria y secundaria correspondientes (ver puntos 3.2 y 3.3).

Anteriormente, se asignaba un microorganismo a un grupo de riesgo sobre la base de la virulencia, la transmisibilidad y la disponibilidad de tratamientos, y con ésto se determinaba el BSL necesario para el laboratorio. Actualmente se incorpora un enfoque de evaluación de riesgos, que toma en cuenta además qué tipo de **actividades** se realizan, contemplando así la **formación de aerosoles**, el **volúmen de muestras** que se maneja y la potencial **carga bacilar**. (ver tabla 5).

Tabla 5. Niveles de riesgo dentro del laboratorio, según actividad.

| Nivel de riesgo | Actividad de laboratorio | Evaluación del riesgo |
|---------------------|---|---|
| Riesgo bajo | Baciloscopia directa de esputo, preparación de muestras para Xpert MTB/RIF Ultra (*). | Riesgo bajo de generar aerosoles infecciosos durante la manipulación de la muestra; concentración baja de partículas infecciosas. |
| Riesgo medio | Procesamiento y concentración de muestras para inoculación en medios de cultivos primarios; pruebas moleculares directas de esputo procesado mediante pruebas de ensayo en línea (LPA) entre otras. | Riesgo moderado de generar aerosoles infecciosos de las muestras; baja concentración de partículas infecciosas. |
| Riesgo alto | Manipulación de aislamientos para PI, PSF o LPAs de cultivos | Riesgo alto de generar aerosoles infecciosos de los cultivos; alta concentración de partículas infecciosas. |

(*) En aquellos casos en los que se deba concentrar una muestra para Xpert MTB/RIF Ultra, mediante proceso de centrifugación, se considerará una actividad de riesgo medio, debido a la generación de aerosoles que implica este procedimiento, y se deberán tomar las medidas necesarias (ver puntos 5.4 y anexo 6).

2.3 Mapa de riesgo en el trabajo.

Resulta una **herramienta preventiva** para reconocer y evitar eficazmente los peligros que rodean cada tarea, permitiendo conocer y difundir los riesgos y probables daños o enfermedades profesionales a los que pueden estar expuestos los trabajadores.

Debe ser de conocimiento de todos los funcionarios del laboratorio y estar disponible en cada una de las áreas o sectores.

Un mapa de riesgo es, ante todo, una herramienta de análisis esencial que, entre otros usos, permite identificar zonas de mayor o menor riesgo frente a diferentes peligros.

Es un mapa, gráfico o croquis que se elabora a partir de la observación visual, conocimiento previo y proyección sobre determinado ambiente de trabajo, tarea o situación dada, ubicando e identificando las áreas o zonas del laboratorio y sus diferentes niveles de riesgo. (ver anexo 3)

Debe ser producto de un trabajo conjunto entre el funcionario que realiza cada tarea, un referente de gestión de residuos y el encargado de bioseguridad.

El resultado es un instrumento dinámico y cambiante, que debe ser revisado y actualizado con periodicidad.

El MR permite valorar la posibilidad de la sustitución o eliminación del peligro, y de no ser así, evaluar y definir las medidas de contención tanto primarias como secundarias que serán tomadas según el área o tarea. (ver 3)

El MR es un instrumento fundamental al momento de establecer los **flujos de trabajo**, tanto de personas como de materiales y residuos.

El flujo de trabajo describe de manera secuencial, cómo las personas llevan a cabo su trabajo de principio a fin, visualizándose como una serie de pasos.

Es importante analizar estos movimientos en función del horario y cantidad de funcionarios presentes en el área de trabajo, manteniendo de ser posible en todo

momento, el flujo desde las áreas más limpias a las más sucias o contaminadas, y nunca a la inversa.

El MR evidencia muchas veces procedimientos que aumentan la contaminación dentro del laboratorio, y se logra identificar determinada ubicación de superficies de trabajo, de equipamiento o maniobras, que al ser modificadas contribuyen a la bioseguridad de modo significativo. (ver anexo 3)

Éste incluye entre otros:

- movimientos del personal al realizar las tareas
- movimientos del personal de limpieza y mantenimiento
- movimientos de los residuos
- movimientos de reposición de materiales de laboratorio (gestión de stock)
- movimientos de muestras, cultivos, cepas

2.4 Análisis de riesgo

Este es un tema amplio que de por sí justifica un manual propio. En este punto se intenta brindar algunas herramientas y conceptos básicos para poder iniciar este camino en los laboratorios.

Los marcos normativos nacionales y/o institucionales pueden influir en la forma de identificar, evaluar y controlar los riesgos, y el cumplimiento de las normativas debe ser un objetivo primordial. Por consiguiente, los resultados de las evaluaciones del riesgo y las medidas de control aplicadas pueden variar considerablemente según el laboratorio, la institución, la región y el país.

Es importante reconocer que el trabajo que se realiza en los laboratorios, manipulando muestras potencialmente infecciosas, tiene beneficios considerables tanto para la atención de salud como para la seguridad sanitaria mundial que justifican asumir un cierto grado de riesgo.

En el laboratorio nunca habrá un riesgo cero, a menos que el trabajo no se lleve a cabo en absoluto, por lo que hay que gestionar cuidadosamente el **equilibrio** entre la realización del trabajo y la garantía de que el personal y la comunidad estén tan seguros como sea posible frente a la liberación de agentes biológicos o a la exposición inadvertida a ellos.

El peligro (ej. MTB), por sí solo no supone un riesgo para las personas, por consiguiente, el verdadero riesgo asociado a un agente biológico debe determinarse teniendo en cuenta sus características patogénicas, y los procedimientos que se llevarán a cabo con él y el entorno en el que tendrán lugar.

Cuando hablamos de Análisis de riesgo, nos referimos al proceso escalonado en el que se valoran los riesgos derivados del trabajo con determinados peligros y en el que se utiliza la información resultante para determinar si se puede aplicar medidas de control que reduzcan ese riesgo a un **nivel aceptable**: bajo/muy bajo (ver tabla 5).

La evaluación permite reunir información, valorarla y utilizarla para justificar la aplicación de procesos, procedimientos y tecnologías destinadas a controlar los riesgos presentes, lo que debe realizarse siempre de forma normatizada y sistemática para garantizar que sea repetible y comparable en un mismo contexto. Se comienza por la recopilación de información, y se sigue con las siguientes etapas, como se muestra en la figura 1.

Las etapas del proceso de evaluación de riesgo se pueden observar en la figura 1:

Figura 1. Etapas de la evaluación de riesgo.



2.4.1 Metodología sugerida para el Análisis de riesgo

1. En primer lugar se debe recabar la información necesaria del área o tarea concreta que se va a evaluar.
Para ello se sugiere el uso de plantillas preestablecidas (ver ejemplos en anexo 13), donde se establezca previamente qué información se requiere, de manera que resulte lo más objetivo posible.
Se utilizarán dos tipos de planillas:
 - Específicas de la **realización** del procedimiento técnico: que deberán completarse por parte del funcionario que realiza la tarea habitualmente.
 - De **observación** de la realización del procedimiento técnico: serán completadas por el encargado del análisis de riesgo, en lo posible que sea un funcionario que no realice la tarea habitualmente. En este documento deben figurar observaciones, preguntas y sugerencias.
2. Una vez obtenida ésta información, se procede a evaluar en cada tarea:
 1. Microorganismo/s potencialmente presentes
 2. Número de procedimientos de riesgo: ej.: cuántas veces se destapa una muestra, utilización de centrifuga o vortex
 3. Volumen de trabajo
 4. Condiciones adecuadas en cuanto a espacio, luz, etc

Con estos datos, se estima la **probabilidad de exposición o liberación** del microorganismo (peligro) para ese procedimiento técnico.
3. Se utiliza una matriz de evaluación de riesgo, que permite visualizar y -en algunos casos- semi cuantificar los riesgos:

Tabla 6: Matriz de evaluación de riesgo.

| | | | | |
|--|---------------|------------|---------|----------|
| Consecuencias de la exposición o liberación | Graves | Medio | Alto | Muy alto |
| | Moderadas | Bajo | Medio | Alto |
| | Despreciables | Muy bajo | Bajo | Medio |
| | | Improbable | Posible | Probable |
| Probabilidad de exposición o liberación | | | | |

Esta matriz nos permite ubicar las tareas dentro de un determinado nivel de riesgo. Siempre debemos trabajar en los niveles “verdes”: **muy bajo a bajo**. Si la tarea resulta ubicarse dentro de un nivel “amarillo”: **medio**, debe analizarse en primer lugar la posibilidad de eliminar el peligro, y si ésto no es posible, se determina cuáles medidas de seguridad adicionales se van a tomar (ver punto 2.4.2) para bajar el nivel de riesgo. Si a pesar de las medidas implementadas el riesgo sigue siendo medio, se requiere como mínimo la comunicación a los funcionarios, de los peligros (ej: agentes biológicos) presentes, de los riesgos asociados a los procedimientos llevados a cabo, y de la forma exacta en que las medidas de control del riesgo utilizadas pueden reducirlos de la manera más eficaz.

Nunca se desarrollarán procedimientos técnicos que se clasifiquen como de riesgo **alto o muy alto**: “anaranjado/rojo”, hasta que se modifiquen las condiciones, y su clasificación baje. Las medidas adicionales de control del riesgo seleccionadas en estas circunstancias para reducir el riesgo residual a un nivel aceptable se denominan medidas de control reforzadas, y en muchos casos implican un BSL 2 (ver tabla 8).

De no ser posible modificar los procedimientos o contar con las medidas adicionales de control, corresponde informar, por parte de la dirección, que el laboratorio no cuenta con las condiciones mínimas necesarias de bioseguridad y biocustodia que garanticen un trabajo seguro, por lo que no se realizará dicho procedimiento.

2.4.2 Estrategia a seguir una vez realizado el Análisis de riesgo

Si bien, como ya se expuso en el punto 2.1, las tareas a realizarse en los laboratorios Nivel 1 de la RNLDT son clasificadas como de **riesgo bajo** (pudiendo en algunos casos pasar a moderado), es igualmente necesario realizar una evaluación de riesgo en cada laboratorio, ya que puede haber diferentes circunstancias que estén alterando los procesos. Ejemplos:

- Infraestructura, ventilación, espacio disponible para el desarrollo de los procedimientos técnicos
- Sobrecarga de personal en los horarios de manipulación de muestras potencialmente infecciosas
- Fallas en la metodología de los procedimientos técnicos
- Deficiencias en las medidas de control o protección
- Falta de pautas a seguir frente a accidentes
- Insuficiente formación del personal

Para controlar eficazmente los riesgos de la mayor parte de los procedimientos que se realizan en los laboratorios de análisis clínicos y de diagnóstico, sólo será necesario asegurar las **buenas prácticas de laboratorio**, y la implementación de las **medidas de contención primaria y secundaria** correspondientes, que se desarrollan en los puntos 3.2 y 3.3.

Si realizada la evaluación de riesgo se decide que es necesario implementar medidas de control, se debe establecer *cuáles* (ejemplos: ver tabla 7), y proceder de la siguiente manera:

1. Comunicar por escrito y de manera clara las nuevas medidas a todos los funcionarios involucrados.
2. Implementar las medidas, a partir de un momento dado, dejando un tiempo mínimo prudencial para la reorganización de los funcionarios, si se requiere, a partir del cual se controlará que esté en funcionamiento.
3. Re evaluar el riesgo y verificar que efectivamente se haya bajado el nivel.
Las siguientes preguntas son una guía que pueden servir de ayuda al re evaluar:
 - Se ha reducido la posibilidad de que se produzca una exposición o liberación?
 - Se ha reducido la gravedad de las consecuencias?
 - En caso contrario, ¿existen más medidas de control del riesgo?
 - Debe realizarse el trabajo? ¿Con o sin qué medidas de control del riesgo?
 - Quién tiene autoridad para aceptar el riesgo residual y aprobar la realización del trabajo?
4. Registrar las nuevas medidas en los POEs correspondientes.
Éste es un proceso dinámico, y existen actividades o sucesos que afectan al riesgo y requieren su reevaluación. Entre ellas podemos encontrar:
 - Los cambios en los agentes biológicos o la disponibilidad de nueva información sobre los agentes biológicos actuales.
 - Los cambios o incorporación de personal.
 - Los cambios en los procedimientos y prácticas.
 - Los cambios en los equipos de laboratorio.
 - Los cambios en las normativas o directrices internacionales, nacionales o regionales.
 - Los cambios en la situación nacional o regional de la enfermedad (su endemidad o erradicación).
 - La introducción de nuevas tecnologías.
 - La reubicación o renovación del laboratorio.
 - Los incidentes, accidentes e infecciones adquiridas en el laboratorio o cualquier suceso que pueda producir daños.
 - Las revisiones periódicas.

Corresponde agregar que el Análisis de riesgo no impacta únicamente sobre la bioseguridad, sino también sobre la biocustodia (ver sección Biocustodia), ya que permite hacer un diagnóstico de situación de partida y brinda un marco de medidas a tomar para lograr un manejo seguro y responsable tanto de los agentes biológicos de los que se dispone, como el equipamiento y la información confidencial, entre otros.

Ver sección Biocustodia, punto 5.

Tabla 7. Estrategias para reducir los riesgos

| ESTRATEGIA | EJEMPLOS |
|----------------------------------|--|
| Eliminación | <p>Eliminar el peligro:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Utilizar un agente biológico inactivado ● Utilizar un sustituto inofensivo |
| Reducción | <p>Reducir el riesgo:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Sustituir el agente biológico por otro atenuado o menos infeccioso ● Reducir el volumen/título utilizado ● Cambiar el procedimiento por otro menos peligroso, como la PCR en lugar del cultivo. |
| Aislamiento | <p>Aislar el peligro:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● La eliminación y la reducción pueden no ser posibles, especialmente en el entorno clínico, por lo que hay que aislar los agentes biológicos (por ejemplo, en un dispositivo de contención primaria: CSB) |
| Protección | <p>Proteger el personal y el medio ambiente:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Utilizar controles técnicos, como las CSB ● Utilizar EPP |
| Observancia y conformidad | <p>Disponer de controles administrativos y de una gestión eficaz del programa de bioseguridad, como:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Correcto manejo de las buenas prácticas de laboratorio por parte del personal ● Buena comunicación sobre los peligros, los riesgos y las medidas para controlarlos ● Formación técnica adecuada ● POEs claros y actualizados |

3. Medidas de contención y niveles de bioseguridad.

Una vez realizado el análisis de riesgo se procede a la implementación de las medidas de contención que se estimen necesarias.

El elemento más importante para la seguridad del personal, es el cumplimiento estricto de las buenas prácticas de laboratorio y técnicas microbiológicas estándar en el procesamiento de las muestras. Cuando las buenas prácticas de laboratorio no son suficientes para controlar los riesgos asociados con un agente o con un procedimiento de laboratorio en particular, es necesario aplicar medidas adicionales de contención.

Se entiende como **medidas de contención** al conjunto de medidas y métodos utilizados para el manejo seguro de materiales infecciosos, tendientes a reducir o eliminar la exposición a agentes potencialmente peligrosos, en el medio ambiente del laboratorio donde son manipulados o conservados.

Estas medidas adicionales son conocidas como **CONTENCIÓN PRIMARIA** y **SECUNDARIA**, y se muestran en la tabla 8:

Tabla 8. Contención primaria y secundaria

| | | | | |
|------------------------------|---|--|--------------------------|----------------------|
| CONTENCIÓN PRIMARIA | Protege al técnico y al ambiente cercano | Buenas prácticas de laboratorio | | E P C |
| | | Equipamiento de seguridad | CSB | |
| | | | Centrífuga de contención | |
| | | | Autoclave | |
| EPP | | | | |
| CONTENCIÓN SECUNDARIA | Protege al técnico y al ambiente externo al laboratorio | Análisis de riesgo | | |
| | | Infraestructura del laboratorio | | |
| | | Controles administrativos | | |
| | | Gestión de residuos | | |
| | | Transporte de materiales | | |

EPP: cualquier elemento destinado a ser llevado o sujetado por el trabajador para que lo proteja de uno o varios riesgos. (ver tabla 11).

EPC: elemento de seguridad cuyo objetivo es la protección simultánea de varios trabajadores expuestos a un determinado riesgo (ver tabla 9).

Tabla 9. Ejemplos de EPC

| | |
|------------------------------------|-------------------------------------|
| Barandillas, pasarelas y escaleras | Señalética e indicativos |
| Sistema de ventilación | Marquesinas contra caída de objetos |
| Barrera de protección acústica | Vitrinas para sustancias peligrosas |
| Extintores de incendio | Elementos de limpieza |

De forma general se definen 4 Niveles de Bioseguridad o BSL según sus siglas en inglés, que apuntan a la contención necesaria para proteger al personal y al medio ambiente, teniendo en cuenta el tipo de microorganismos y las técnicas a desarrollarse.

Tabla 10. Esquema comparativo entre niveles de bioseguridad.

| Medidas de Bioseguridad: | BSL | | | |
|---|-------------|-------------|---------------------------|-----------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Lugar de trabajo separado del resto del edificio. | No | Aconsejable | Si | Si |
| Solo se permite acceso a personal designado. | Aconsejable | Si | Si | Estricto |
| El lugar de trabajo debe poder precintarse para posible desinfección. | No | Aconsejable | Si | Si |
| Procedimientos de desinfección específicos. | Si | Si | Si | Si |
| Lugar de trabajo con presión negativa respecto a la presión atmosférica | No | Aconsejable | Si | Si |
| Superficies resistentes a ácidos, álcalis y desinfectantes. | Aconsejable | Si | Si | Si |
| Almacenamiento de seguridad para agentes biológicos | Si | Si | Si, de acceso restringido | Muy restringido |
| Ventanilla de observación o dispositivo en zonas para poder ver a sus ocupantes | No | Aconsejable | Si | Si |

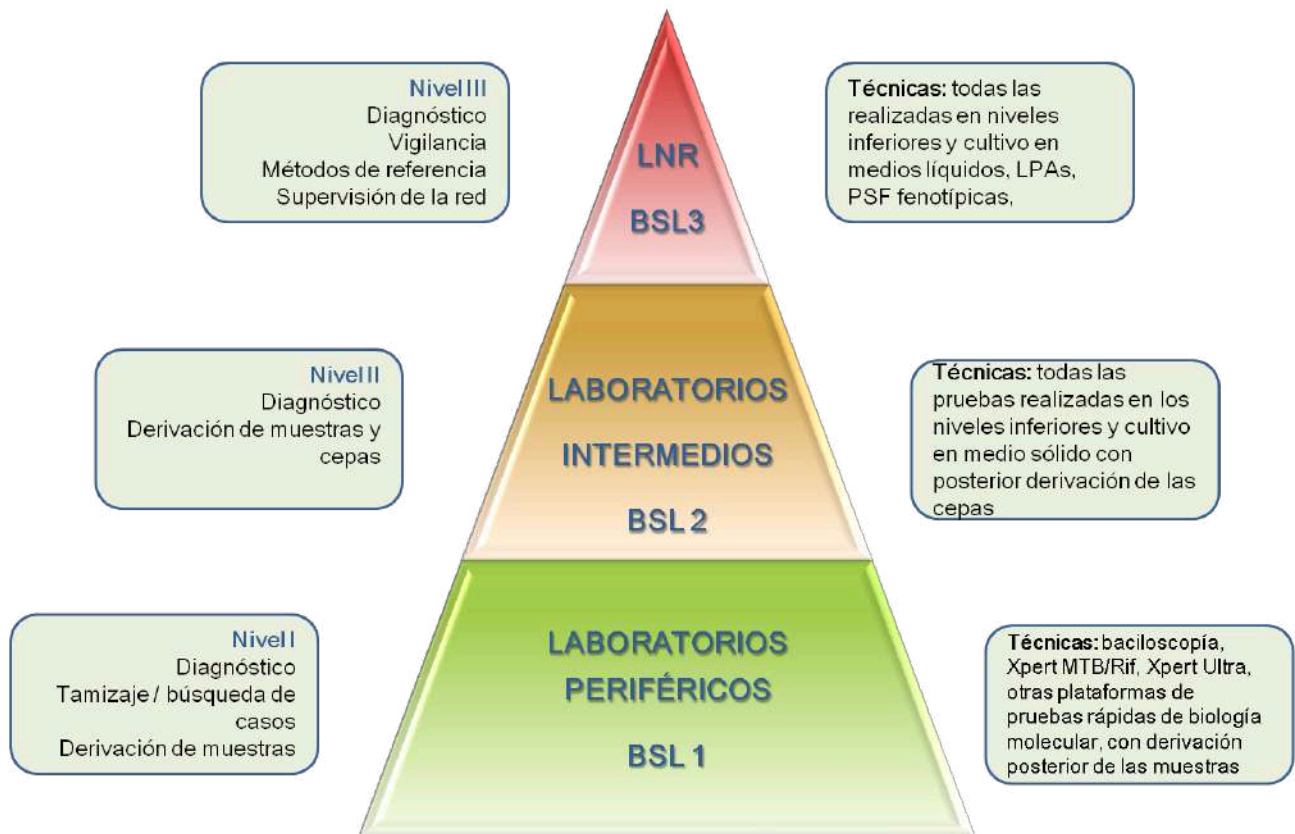
| | | | | |
|--------------------------|-------------------------------------|-------------------------|-------------------------|----------------------|
| CSB | Aconsejable: Clase II tipo A2 | Si: Clase II tipo A2 | Si: Clase II tipo A2 | Si: Clase III |
| Vestimenta | Ambo | Ambo + sobretúnica | Ambo + Tyvek | Traje presurizado |
| Tratamiento de efluentes | No | No | Si | Si |

3.1 Niveles de bioseguridad en los laboratorios de la RNLTB

Como respuesta al aumento de prevalencia de la TB en Uruguay, en el año 2018 surge la RNLTB dando respuesta a la necesidad de contribuir al control de la enfermedad con un diagnóstico rápido, oportuno y de calidad a nivel periférico. Ésto deriva en un diagnóstico más rápido de los casos de pacientes bacilíferos que son, desde el punto de vista de la salud pública, los que mantienen y transmiten la infección en la comunidad, y por tanto el principal objetivo del PNT. La experiencia de todos los países del mundo sirve como apoyo, y está ampliamente documentado que el modelo de **red de laboratorios** con diferentes niveles de complejidad y de técnicas que realizan, tiene más beneficios que el modelo centralizado que se utilizó en nuestro país hasta ese momento.

La actual RNLDT se estructura de la siguiente manera, ubicando a los laboratorios según la complejidad de las tareas que realizan, la infraestructura y el equipamiento de seguridad que necesitan para desarrollarlas.

Figura 2. Esquema representativo de la organización de la RNLDT



Nivel III: LNR

El LNR de la CHLA-EP, además de las tareas técnicas, de investigación y vigilancia que realiza, tiene como objetivo las siguientes actividades de sostén de la red:

- **Normatizar** las acciones programáticas con una función predominantemente rectora.
- **Capacitar** en forma continua a los RRHH de los laboratorios de la red.
- **Garantizar la calidad**, tanto de la microscopía estándar como de las técnicas de biología molecular rápida, y sus respectivos informes, mediante CED, que permiten también contribuir y asegurar la sustentabilidad de los cambios.
- **Asesorar** a los laboratorios de la red tanto en las técnicas y plataformas diagnósticas, como en materia de bioseguridad y biocustodia, ya sea tomando acciones preventivas y/o correctivas.

Nivel II: Actualmente en el país existe un único laboratorio en esta categoría, que realiza cultivo y aislamiento de cepas de expectoraciones diagnósticas, que posteriormente envía al LNR con el fin de continuar con los correspondientes estudios de identificación y pruebas de sensibilidad.

Nivel I: Teniendo en cuenta lo expuesto en el punto 3.1, los laboratorios de análisis clínicos de la RNLTB **requieren un BSL 2** para el desarrollo de sus tareas: realización de baciloscopías y pruebas de biología molecular rápidas, y se denominan *Laboratorios Nivel 1 de la RNLTB*.

A continuación desarrollaremos las buenas prácticas de laboratorio y las medidas de contención correspondientes a un laboratorio nivel 1 de la RNLDT:

3.2 Contención primaria en nivel 1

3.2.1 Buenas prácticas de laboratorio:

Hábitos personales:

- Realizar un correcto lavado de manos siempre que haya un cambio de guantes, se vaya a salir del laboratorio y/o cuando haya contacto directo con productos químicos o materiales biológicos. (ver anexo 7).
- Usar el EPP sólo en áreas de trabajo, y adecuados al riesgo de la tarea a desarrollar.
- Mantener el puesto de trabajo siempre limpio y en orden.
- No comer, beber o fumar dentro del laboratorio.
- No guardar o almacenar alimentos ni bebidas en áreas de trabajo.

Manipulación de productos y procedimientos técnicos:

- Antes de usar un producto químico, deben conocerse sus posibles riesgos y los procedimientos seguros para su manipulación.
- Adoptar las precauciones correspondientes en caso de manipular productos cancerígenos, tóxicos y/o infecciosos (materiales biológicos, muestras o cultivos).
- Etiquetar todo envase que contenga productos químicos o soluciones generados en el laboratorio. La etiqueta debe contener: identificación del producto y concentración, fecha de elaboración, fecha de vencimiento, identificación de los funcionarios que lo prepararon.
- Mantener las etiquetas de los productos en buen estado, no superponerlas con otras, ni escribir o roturar sobre la original.

- Comprobar que el material de vidrio esté en perfecto estado antes de utilizarlo, descartar si presenta algún defecto (riesgo o fisura).
- Siempre verter el líquido de un recipiente a otro haciendo correr el líquido por la pared interna del recipiente
- Siempre verter el líquido de una pipeta a un recipiente haciendo correr el líquido por la pared interna del recipiente
- Alejar todos los materiales inflamables (alcohol etílico) y combustibles de los equipos calefactores.
- No mezclar hipoclorito de sodio con amoníaco.
- Minimizar la producción de aerosoles.
- Minimizar el efecto de las salpicaduras, utilizando papel absorbente en las superficies de trabajo.
- Limitar el uso de agujas, jeringas, objetos corto-punzantes.
- Lavar y autoclavar semanalmente los porta-tubos de las centrifugas.
- Mantener flujos de trabajo en dirección “limpio” a “sucio”. (ver anexo 3)

Limpeza y disposición de residuos:

- Todo material que contenga materia orgánica debe manejarse como altamente infeccioso.
- Nunca barrer superficies en seco, ya que favorece la dispersión de microorganismos que son vehiculizados a través de las partículas de polvo.
- Utilizar el barrido húmedo que puede ser realizado con trapeadores, mopas y paños de limpieza de pisos.
- Todos los equipos deben estar limpios al término de la jornada de trabajo.
- Utilizar cartelería para señalar y mantener los materiales organizados a fin de evitar accidentes y contaminación visual.
- Mantener flujos de trabajo en dirección “limpio” a “sucio”.
- Descartar el material de vidrio en contenedores rígidos.
- Gestionar correctamente los residuos, separando el material biológico contaminado y los elementos químicos, por tipo de residuo, para su eliminación final (ver anexo 13).
- Limpiar y desinfectar las superficies de trabajo al inicio y término de la jornada laboral y cada vez que ocurra un derrame. La limpieza debe realizarla el mismo operador que haya efectuado los procedimientos técnicos.
- Utilizar procesos seguros de descontaminación de equipamiento y materiales reutilizables.
- Establecer procedimientos de limpieza general de techos, paredes, ventanas, vidrios, heladeras y estufas, mensual o semestralmente.

Emergencias:

- Conocer los protocolos sobre la actuación correcta en casos de emergencia y accidentes.

3.2.2 EPP

Los EPP proporcionan una barrera física para minimizar el riesgo de exposición a aerosoles, salpicaduras e inoculación accidental. La función del EPP es evitar la exposición del técnico al agente infeccioso, cuando todas las medidas de bioseguridad que se toman con el fin de evitar ésta exposición, fallan.

El personal debe usar rutinariamente los EPP apropiados cuando se realicen actividades que los exponga directamente a agentes biológicos, y serán seleccionados

en función del máximo nivel de riesgo que se espera encontrar al desarrollar esa actividad.

Un EPP mal ajustado, inadecuado o usado de forma incorrecta es menos eficaz y puede crear una falsa sensación de seguridad, aumentando así el riesgo.

Los EPP en ningún caso se podrán sacar fuera del laboratorio para usar, lavar o eliminar.

3.2.2.1 Vestimenta en nivel 1 de bioseguridad:

Ambo o túnica:

Utilidad: sustituye la ropa de calle dentro del laboratorio.

- Debe cambiarse semanalmente.
- Debe ser lavado en la institución.
- Debe estar disponible en todos los talles.
- Debe renovarse cada 2 años.

Sobretúnica:

Utilidad: protección del cuerpo: parte delantera.

- Debe ser descartable.
- Debe sujetarse por la parte posterior.
- Debe cambiarse diariamente o después de un derrame evidente.
- Debe estar disponible en tamaños pequeño, mediano y grande.
- Debe tener lazos en el cuello y la cintura.
- Debe tener puños elásticos de 30 mm mínimo.
- Debe ser de un largo suficiente para cubrir completamente el regazo al sentarse.

Tabla 11. EPP: vestimenta

| | Elemento | | Recambio sugerido | Tarea o lugar de uso |
|-------------|---|---|---|---|
| Ambo | Casaca y pantalón o túnica |  | Semanal o frente a accidente o derrame. | Siempre, desde que se llega al laboratorio hasta que se retira, sustituye la ropa de calle. |
| Sobretúnica | Descartable, con puño elastizado mínimo 30 mm |  | Diario o frente a accidente o derrame. | Todas aquellas tareas que impliquen manipulación de muestras biológicas, o cepas. |

3.2.2.2 Guantes:

Utilidad: protección de las manos, evitando riesgos biológicos, físicos y químicos.

- Debe haber suministro disponible acorde al consumo.
- Se sugiere el uso de guantes de nitrilo porque rara vez causan reacciones alérgicas.
- Deben ser utilizados en todos los procedimientos que impliquen contacto con muestras o elementos del laboratorio utilizados en la manipulación de muestras.
- Los guantes deben sobrepasar la muñeca por lo menos 30 mm.
- Se debe escoger el tipo de guante según el riesgo al que se está expuesto (microorganismos, calor, agentes químicos) y de la talla adecuada, ya que de lo contrario se pierden habilidades de motricidad fina.
- El uso de los guantes **debe quedar restringido** a las operaciones frente a las que es necesario, no se debe tocar superficies, puertas, teléfonos, ordenadores, equipos, etc, con los guantes puestos.
- Lavar las manos obligatoriamente al quitarse los guantes.
- Su uso es obligatorio cuando el funcionario presenta heridas no cicatrizadas o lesiones dérmicas exudativas o rezumantes, cortes, etc. (Ver anexo 8).

3.2.2.3 Mascarillas faciales autofiltrantes N95 y FFP2:

Las mascarillas NO son sustitutos de una CSB.

Utilidad: protección respiratoria frente a enfermedades transmitidas por vía aérea .

Las mascarillas faciales filtrantes N95 y FFP2 tienen una eficacia de filtración muy elevada: micropartículas > 0,2 µm, por lo que se utilizan en ambientes de alto riesgo de contagio de enfermedades por vía aérea.

Capacidad filtrante:

- Mascarillas FFP2: 94 %
- Mascarillas N95: 95 %

En el laboratorio de tuberculosis está recomendado, según el volumen de trabajo, el uso de mascarillas FFP2 o la N95, las cuales difieren en la capacidad de filtración certificada según las normas internacionales. Los modelos pueden ser con o sin válvula. La válvula permite que el aire espirado se mueva fácilmente desde los pulmones al medio ambiente (logrando que su uso resulte más cómodo para el personal), y se cierra cuando se inspira.

Antes de su uso es necesario comprobar la integridad de la mascarilla, verificando que:

- No tenga orificios
- La sujeción de las tiras no esté dañada
- La superficie de la mascarilla autofiltrante esté limpia y no haya fibras sueltas
- Las tiras no se hayan estirado demasiado.

Recomendaciones:

- No es obligatorio su uso para trabajar en un laboratorio Nivel 1. Se dispondrá de una unidad en el área de trabajo, en un lugar accesible, para el caso de que ocurra un accidente.
- El personal debe ser instruido en el uso correcto de la mascarilla y su cuidado.
- Se pueden reutilizar siempre que se usen, almacenen y cuiden adecuadamente. (ver anexo 9)
- Se deben utilizar siempre cuando se realice la limpieza profunda de una CSB.

Las mascarillas **N94** y los **tapabocas quirúrgicos** no proporcionan ninguna protección respiratoria eficaz contra aerosoles y no deben usarse dentro del laboratorio como EPP

Figura 3: Mascarillas FFP2 (modelo sin válvula) y N95 (modelo con válvula).



3.2.2.4 Gafas (lentes) de seguridad:

Las gafas graduadas y las lentes de contacto no proporcionan protección.

Utilidad: Protección ocular frente a salpicaduras.

- Deben estar hechas de plástico irrompible y curvado en los lados (Imagen 1)
- Pueden ser de uso comunitario y compartirse con las demás áreas del laboratorio.
- Uso:
 - . Preparación de soluciones de trabajo: colorantes.
 - . Manipulación de hipoclorito de sodio.
 - . Descontaminación en derrames (un par en kit para derrames).
 - . Durante el proceso de coloración.
- Ubicación:
 - . Mesada de trabajo.
 - . Kit para derrames.

Imagen 1: Gafas de seguridad



3.2.3 Equipamiento: Manejo seguro de equipos

La falta de mantenimiento y/o el uso inseguro de los equipos supone riesgo para el personal del laboratorio, por producción de aerosoles o lesión física, y riesgo para los pacientes, por la emisión de resultados erróneos por contaminación.

El equipamiento de seguridad que se puede encontrar en los laboratorios de nivel 1 de la Red es la CSB, y los equipos de riesgo son las centrífugas y los vortex.

3.2.3.1 CSB

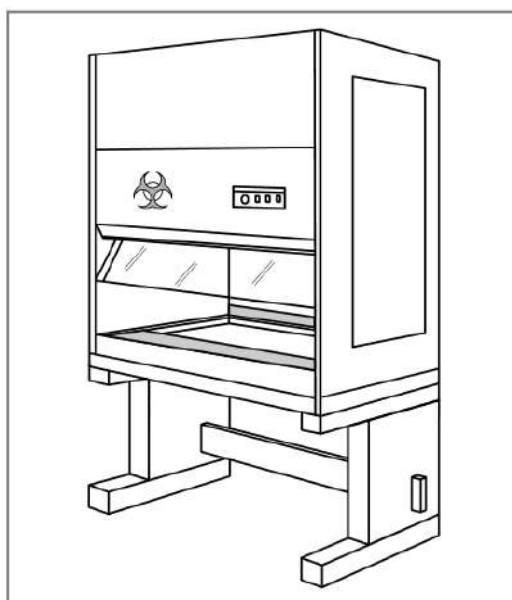
Es importante destacar, que la CSB proporciona la contención primaria de los aerosoles infecciosos generados en ciertos procedimientos, y su correcto uso y limpieza son fundamentales en el laboratorio.

Requerimiento para manejo de TB: CSB Clase II Tipo A2

Las **CSB Clase II**, son equipos diseñados para mantener el área de trabajo libre de partículas y contaminantes, garantizando la protección del usuario y evitando a su vez la contaminación del instrumental de laboratorio y los MBV que se manipulan en su interior.

Esta protección se logra mediante la combinación de elementos electromecánicos /electrónicos (motor, ventilador, filtro, ductos, iluminación, etc.), y procesos físicos (flujo laminar, diferencias de presiones) que impulsan el aire a través de filtros con una eficiencia de retención de partículas del 99,99%. Dichos filtros se conocen internacionalmente como filtros HEPA y resultan adecuados para retener los aerosoles que se generan al realizar procedimientos con agentes biológicos como apertura de tapas/tapones, agitación, centrifugación o mezcla.

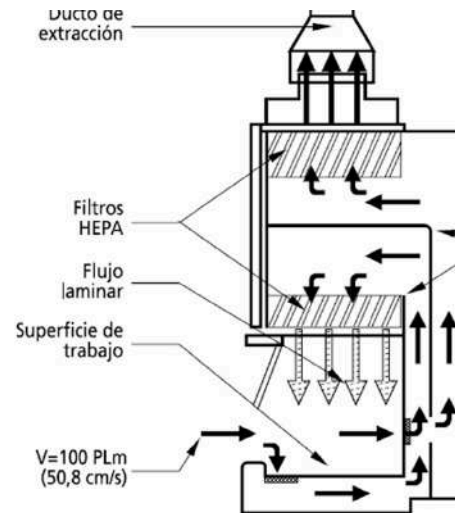
Figura 4. Cabina de Seguridad Biológica



En las cabinas **Clase II Tipo A2**, el aire entrante por la abertura frontal constituye la barrera que impide la salida de cualquier partícula de la cámara de trabajo, protegiendo al operario. De este aire, un 70% se recircula dentro de la cabina en forma de FL filtrado, para proteger las muestras de contaminaciones externas y/o cruzadas, y el otro 30% restante es expulsado por la parte superior, previa filtración HEPA garantizándose así también la protección del ambiente.

La expulsión del 30% que realizan las cabinas de Clase II Tipo A2 es suficiente para crear una **velocidad de barrera frontal** siempre superior a 0,5 m/s, establecido por normativa, para que la protección del usuario esté garantizada.

Figura 5. Diagrama de flujo de aire en CSB Clase II Tipo A2



La CSB debe contar con:

- UPS exclusiva con capacidad suficiente para garantizar que la cabina pueda seguir funcionando durante al menos 15 minutos cuando se produce un corte de energía. En ese caso, el trabajador debe detener inmediatamente la tarea, y se utilizarán los 15 minutos de autonomía de la UPS para cerrar/tapar muestras y/o cultivos, con la circulación de aire asegurada dentro de la CSB y así eliminar los aerosoles existentes.
- Manual de operación del equipo.
- POE de uso y limpieza.
- Registros de uso, limpieza, certificación y mantenimiento del equipo, con un responsable de control de estos registros.

Ubicación:

Circulación de aire:

Distancia mínima a los acondicionadores de aire: 3 metros.

Éstos fuerzan el flujo de aire a través de la habitación, poniendo en riesgo la eficacia del FL de la CSB. No debe usarse ventiladores en el área.

Tránsito de personas:

Caminar crea movimientos de aire que pueden interferir con el FL. Se debe dejar 1,5 metros entre una CSB y las zonas del laboratorio en las que hay más movimiento. En laboratorios pequeños, restringir el movimiento de personas dentro del área mientras se utiliza la CSB.

Puertas y ventanas:

La apertura y el cierre de puertas y ventanas puede crear suficiente movimiento de aire como para interrumpir el FL. Las ventanas abiertas permiten un flujo de aire problemático dentro y fuera del laboratorio. Siempre se deben cerrar y bloquear las ventanas en los laboratorios de TB de riesgo moderado o alto.

Otros equipos:

El escape de otra CSB u otro equipo puede interferir con el FL. La distancia mínima entre 2 CSB debe ser de 70 cm.

Distancias:

Paredes laterales y trasera: distancia mínima 35 cm.

Techo: si la CSB no está conectada por un ducto al exterior, se requiere un espacio mínimo de 15,24 cm libre entre la parte superior de la CSB y el techo para que exista una adecuada extracción de aire.

Ubicar una CSB demasiado cerca de una pared o techo puede crear contrapresión y comprometer la función de la misma.

La CSB no debe:

- Interferir con las rutas de circulación del personal.
- Estar ubicada cerca de las tomas de suministro y extracción de aire acondicionado o ventilación.
- Estar expuesta a corrientes de convección de aire originadas por diferencias térmicas.
- Estar ubicada cerca de las ventanas.
- Generar alteraciones de los patrones de flujo de aire.

Limpieza y mantenimiento: ver anexo 4.

3.2.3.2 Agitador vortical:

El agitador vortical (vortex) es el mayor generador de aerosoles que encontramos en los laboratorios nivel 1 de la red: siempre debe usarse dentro de una CSB cuando se agitan muestras biológicas.

- Si no se cuenta con una CSB, no debe usarse el agitador; las muestras deben ser mezcladas por inversión.
- Usar sólo tubos/recipientes con tapón a prueba de pérdidas.
- No abrir muestras sometidas a agitación vortical durante por lo menos 10 minutos después de terminado el ciclo.
- Cuidados del equipo: Leer el manual de instrucciones del fabricante.
- Antes de usarlo, verificar siempre que la almohadilla de goma no esté dañada.

Limpieza y mantenimiento: ver anexo 5.

3.2.3.3 Centrífuga

Requerimiento para el manejo de TB: CCB

El centrifugado es un procedimiento de riesgo por la alta generación de aerosoles, que debe ser llevado a cabo en una CCB, que cuente con canastas de bioseguridad extraíbles, con tapa sellada (imagen 2), permitiendo ser retiradas de la centrífuga y abiertas dentro de las CSB.

Imagen 2. Canastas de bioseguridad extraíbles de una CCB



Si el laboratorio cuenta con CSB pero no con una CCB, se aconseja no realizar procedimientos de concentración de muestras (LBA), y enviar las mismas al LNR. La pauta del MSP para Nivel 1 es el procesamiento de *expectoraciones diagnósticas*.

*Si de todas maneras el laboratorio realiza este procedimiento, deberá tener en cuenta que la centrífuga **debe permanecer con la tapa cerrada durante 20 minutos** una vez terminado el ciclo de centrifugación, tiempo necesario para que los aerosoles decanten y se depositen en las superficies internas, de donde serán removidos durante el proceso de limpieza (ver anexo 6).*

La CCB debe alcanzar y mantener 3000 g (ver anexo 15) durante 20 minutos, condiciones necesarias para sedimentar la mayoría de los BAAR.

Es aconsejable que la forma de la base de los tubos a utilizar coincida con la forma de las camisas, a fin de evitar el daño de los mismos y posibles derrames.

Ubicación:

- Se debe ubicar en el sector “sucio” del laboratorio cerca de la CSB, reduciendo las distancias de traslados de muestras potencialmente infecciosas
- Sobre una superficie sólida y estable, capaz de soportar el peso y las vibraciones que se generan durante su uso
- Lejos del agua, piletas o sustancias químicas, para evitar salpicaduras
- En zona libre de polvo

Limpieza y mantenimiento: ver anexo 6

3.2.3.4 Pipetas

El uso de pipetas supone siempre un alto riesgo de producción de aerosoles, ya que bajo presión del aire del bulbo o émbolo de una micropipeta, el líquido que se mueve desde la cabina de almacenamiento o cuerpo, a través de la punta, puede acelerarse a alta velocidad y crear aerosoles, como se observa en la figura 6.

Los 2 tipos de pipetas que podemos encontrar en los laboratorios de nivel 1 son:



Imagen 3. Pipeta Pasteur: partes
automática: partes



Imagen 4. Micropipeta

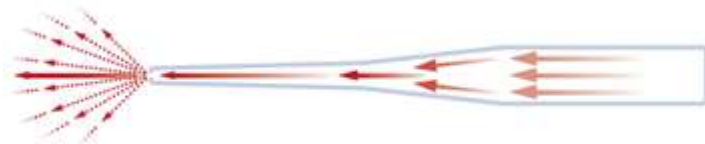


Figura 6. Efecto que se produce al pasar un líquido bajo presión, desde un espacio de mayor a uno de menor calibre, generando aerosoles.

Para la minimización de producción de aerosoles es importante tener en cuenta los siguientes puntos, que aplican para ambos tipos de pipeta:

- Sustener la pipeta de manera firme y cómoda
- No introducir la pipeta en un líquido más allá de la punta de la misma
- Mover lentamente la pipeta cargada, y siempre en posición horizontal, para evitar goteos involuntarios
- Expulsar lentamente el líquido de la pipeta
- Dirigir el líquido hacia abajo por la pared interior del recipiente
- Asegurar que la punta de la pipeta esté siempre por encima del menisco
- Descartar la pipeta Pasteur o la punta de la micropipeta en un recipiente rígido, inmediatamente después de ser utilizadas.

3.2.3.5 Autoclave

Requerimiento para manejo de TB: Autoclave tipo B

Los esterilizadores de vapor saturado, también llamados autoclaves, realizan esterilización por calor húmedo bajo presión y son los indicados en los laboratorios de tuberculosis debido a que son fiables, eficaces y de fácil empleo.

Los autoclaves de tipo B son esterilizadores de vapor de gama alta que cumplen con la norma europea EN 13060, y se caracterizan por utilizar prevacío fraccionado para

eliminar todo el aire, permitiendo esterilizar instrumental hueco, poroso y embolsado, garantizando un secado total.

Se utilizan para esterilizar instrumentos, material de vidrio y soluciones de trabajo del laboratorio.

También se utiliza para descontaminar material que contiene material biológico (ejemplo: muestras).

Es obligatorio contar con al menos un autoclave en todos los laboratorios donde se realicen cultivos de *M. tuberculosis*. Todos los desechos infecciosos deben ser esterilizados en el autoclave antes de su eliminación final.

Las principales precauciones que se deben al manejar una autoclave son las siguientes:

- ***No usar el autoclave sin haber recibido instrucciones operativas.***
- No sobrecargar nunca un autoclave.
- No autoclavar sustancias volátiles, inflamables.
- Al cargar el autoclave recordar aflojar tapas y cierre de los frascos, si los hubiera.
- No exceder la presión y temperatura indicadas por el fabricante.
- Cerrar firmemente el autoclave antes de encenderlo para evitar escape de vapor.
- Evitar el contacto de manos, brazos y cara con las paredes del autoclave y con el vapor emergente.
- Abrir el autoclave una vez alcanzado el equilibrio con el exterior. ***En la etapa de apertura y descarga es cuando ocurren la mayor cantidad de accidentes.***
- Después de abrir el autoclave esperar unos minutos antes de retirar el material, éste debe llegar a temperatura ambiente en el autoclave. Usar vestimenta indicada: ver anexo 14.
- No almacenar materiales combustibles cerca del autoclave.

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

Ubicación:

- Deben situarse lejos de la zona principal del trabajo del laboratorio ya que generalmente emiten ruidos molestos, además calor y vapor.
- No deben estar en una zona de alto tránsito

Limpieza y mantenimiento: seguir las instrucciones del fabricante.

3.3 Contención secundaria en nivel 1:

3.3.1 Controles administrativos

Cuando hablamos de controles administrativos nos referimos a las normativas vigentes, nacionales e internacionales, decretos, recomendaciones y documentación interna, incluida en el SGC y SGB.

Esta documentación, generada en el laboratorio, incluye manuales, procesos, procedimientos, instructivos, especificaciones, formularios y registros de uso interno, que tienen como fin guiar a las personas en la realización de sus tareas, facilitar la toma de decisiones, reproducir las acciones, reducir los errores relacionados con la mala comunicación, reducir las variaciones en los procedimientos y minimizar las fluctuaciones en el desempeño.

Estos documentos son más que instrucciones para llevar a cabo una tarea, todos ellos constituyen una guía que establece de forma clara las expectativas de la Dirección con respecto al trabajo que se lleva a cabo en el laboratorio.

Una buena documentación es esencial para el sistema de calidad, pues constituye el único modo de asegurar que cada parte del sistema cumple con la política de calidad y, por lo tanto, de garantizar el nivel de los productos y servicios ofrecidos.

El diseño y construcción de un laboratorio, lo que en seguridad biológica se conoce como contención o barrera secundaria, protege tanto al personal de laboratorio como a la comunidad en general, frente a posibles escapes accidentales de agentes infecciosos.

3.3.2 Infraestructura

Localización: Es aconsejable que el sector de microbiología se localice fuera de áreas de tránsito hacia otros sectores en los que no exista restricción para su acceso. El área contaminada dentro del sector, debe estar ubicada en un lugar alejado de la puerta de entrada y de los lugares donde se producen corrientes de aire. Se debe disponer de salidas de emergencia.

Acceso de personal: Debe ser restringido y solo permitir el ingreso a personal autorizado y capacitado en el manejo de agentes infecciosos.

Áreas: Debe existir al menos 3 áreas definidas en los laboratorios Nivel 1:

- Área para efectuar actividades administrativas y de microscopía.
- Área para efectuar procedimientos técnicos.
- Área para realizar la descontaminación, lavado y preparación de materiales, y manejo de soluciones y medios.

Lavatorios: Debe existir uno en cada sector del laboratorio, preferiblemente cerca de la puerta de salida. Los grifos deberán poder accionarse sin emplear las manos.

Superficies de trabajo: Las mesas y bancos de trabajo deben ser resistentes al calor moderado, a solventes orgánicos, ácidos y álcalis.

Mobiliario: Los muebles de laboratorio deben tener la capacidad de soportar cargas y usos previstos. Los estantes de más de 1,80 m deben estar anclados al suelo o a la pared. Los espacios entre las mesas de trabajo, cabinas y equipos deben ser accesibles para su limpieza.

Lavaojos: Se debe contar con uno en cada sector del laboratorio dónde se manipulen muestras o sustancias químicas con riesgo de salpicadura. Deben ser removibles, con un largo de manguera de por lo menos 6 pasos.

Ventilación: De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), la clave para prevenir la transmisión de *M. tuberculosis* en las áreas de riesgo está en disponer de un buen sistema de ventilación, el cual debe lograr la circulación direccional de aire, desde las áreas menos contaminadas, hacia el área de mayor riesgo, con un número de renovaciones de aire igual o superior a **6 recambios** por hora (IAH). La importancia de los IAH se evidencia en el anexo 10. Un diseño de laboratorio seguro y eficiente complementa la infraestructura, al separar las actividades de riesgo bajo (“limpias”) de las de riesgo alto (“sucio”), con la optimización del movimiento dentro del laboratorio. Ver ejemplo de distribución de áreas en anexo 3.

Manejo de residuos: Todos los sectores del laboratorio deben contar con receptáculos (bolsa roja para residuos biológicos, recipiente rígido para cortopunzantes) para la eliminación de materiales contaminados, muestras derramadas, y EPP (ver tabla 12) La importancia e impacto de este tema sobre la bioseguridad justifica que se realice un análisis aparte, ver punto 5: Gestión de REAS.

Iluminación: se debe trabajar con luz adecuada, lo que contribuye para evitar accidentes. de ser posible se preserva siempre las entradas de luz natural. Intensidad de luz necesaria para trabajo en laboratorio: 500-700 LUX.








Imagen 5: Ej. de cómo se visualiza un laboratorio con nivel de luz adecuado. (Luz natural con apoyo de artificial).

Señalización: Todas las áreas deben estar debidamente marcadas con la señal de riesgo biológico y su nivel de contención correspondiente, además de la señalética obligatoria dentro del laboratorio (ver tabla 12):

- **Advertencia:** indica los peligros a los que pueden estar expuestos los trabajadores.
- **Prohibición:** indica los comportamientos prohibidos dentro del área de trabajo.
- **Obligación:** indica las conductas que son obligatorias en el laboratorio (ejemplo: vestimenta necesaria en cada área).
- **Protección y lucha contra incendios:** indica comportamientos o material necesario en caso de incendio.
- **Salvamento o socorro:** proporciona indicaciones relativas a las salidas de emergencias, primeros auxilios o dispositivos que deben ser utilizados en caso de emergencia.

Tabla 12. Ejemplos de señalización siguiendo las pautas internacionales.

| Tipo de señal | Forma y colores | Ejemplos |
|--|---|---|
| Advertencia (de un peligro) | Forma triangular, pictograma negro sobre fondo amarillo y bordes negros. |  <p>Radioactividad Riesgo biológico Láser</p> |
| Prohibición | Forma redonda, pictograma negro sobre fondo blanco, bordes y banda transversal a 45° en rojo. |  <p>PROHIBIDO EL PASO A TODA PERSONA AJENA A LA EMPRESA PROHIBIDO USAR CELULAR</p> |
| Obligación | Forma redonda, pictograma blanco en fondo azul. |  <p>USO OBLIGATORIO DE GAFAS ANTISPLASH EN EL MANEJO DE PRODUCTOS QUIMICOS USO OBLIGATORIO DE PROTECTOR FACIAL ES OBLIGATORIO LAVARSE LAS MANOS</p> |
| Protección y lucha contra incendios | Forma rectangular o cuadrada, pictograma blanco sobre fondo rojo. |  <p>PULSADOR ALARMA EXTINTOR MANGUERA CONTRA INCENDIO</p> |
| Salvamento o socorro | Forma rectangular o cuadrada, pictograma blanco sobre fondo verde. |  <p>Salida de emergencia Punto de encuentro de evacuación Primeros auxilios</p> |

4. Gestión de REAS

Respetando las directivas nacionales e internacionales, en relación a la buena gestión de residuos sanitarios, los laboratorios deben tener un plan de acciones sistematizadas y ordenadas, que involucren el manejo, tratamiento y descarte de residuos, en el cual debe considerarse los siguientes aspectos:

- **Clasificación** en residuos infecciosos y no infecciosos.
- **Identificación** de residuos infecciosos y su riesgo relativo.
- Normas de **señalización**, rotulación, almacenamiento y transporte.
- Plan de **formación** de todas las personas expuestas a estos residuos.

4.1 Clasificación de los residuos

Residuo sanitario: Cualquier material sólido, semisólido, líquido o gaseoso que se encuentre contenido en un envase del cual su generador⁽¹⁾ se desprenda o tenga la intención o la obligación de desprenderse. Estos residuos son generados en los centros o servicios de atención a la salud humana o animal o relacionado con los mismos. Estos pueden ser comunes o contaminados.

Residuo sanitario común no reciclable: Aquellos residuos que no presentan riesgo (no infeccioso, no cortopunzante, entre otros) y que no se pueden gestionar como reciclables (cartón, plásticos, papel), cuyas características son similares a los residuos domésticos comunes, como por ejemplo los generados en actividades administrativas y auxiliares, restos de cocina y alimentación, producidos por el barrido, aspiración y limpieza de salas comunes de circulación, entre otros.

Residuo sanitario común reciclable: Residuo que no presenta riesgo (no infeccioso, no cortopunzante, entre otros) y que se puede gestionar como reciclable (ej.: cartón, plásticos, papel).

Residuo sanitario contaminado: Son aquellos materiales de desecho generados durante los servicios de atención médica y diagnóstico, que contengan agentes biológico-infecciosos, que puedan causar efectos nocivos a la salud y al ambiente.

Residuo líquido peligroso: Residuo que presenta riesgo (corrosivo, irritante, mutagénico, entre otros) y que se debe gestionar mediante un proceso diferente para su tratamiento y disposición final. Constituyen la segunda fuente de riesgo de exposición del personal de laboratorio, teniendo adicionalmente un efecto negativo sobre la salud comunitaria por lo que se debe contar con procedimientos para su tratamiento y descarte.

⁽¹⁾ Generadores de residuos sanitarios: Se consideran generadores de residuos sanitarios a todas las personas o servicios que, como resultado de las actividades habituales que practican en cualquiera de los niveles de atención de la salud humana o animal, generen residuos. Se incluyen hospitales, sanatorios, clínicas, policlínicas, centros médicos, consultorios, servicios de ambulancias, laboratorios, centros de investigación, morgues.

Figura 7: Esquema de clasificación de residuos



Los colorantes empleados en las coloraciones, fucsina fenicada y azul de metileno, serán desechados en recipientes rígidos, impermeables y resistentes a ácidos y álcalis, que posteriormente serán retirados del laboratorio por empresas encargadas del procesamiento de desechos químicos.

El almacenamiento y transporte de los recipientes debe hacerse en condiciones seguras, manipulándolos sin realizar movimientos bruscos.


Al igual que con los desechos sólidos, debe existir zonas específicas para su almacenamiento final si los residuos químicos son de riesgo, y nunca se apilan los recipientes ni se colocan en zonas elevadas.


4.2 Descarte de los residuos según su clasificación

Aclaraciones a tener en cuenta al gestionar los residuos para su descarte:

- El tiempo de permanencia de los residuos peligrosos en el lugar donde se generan, siempre debe ser el mínimo posible.
- El tipo de recipiente para descarte y su color están debidamente establecidos como se puede ver en la tabla 13. Por normativa nacional e internacional esta pauta debe respetarse.
- Las bolsas rojas y negras se llenan hasta sus $\frac{3}{4}$ partes, para tener nylon suficiente para el cerrado.
- Todas las bolsas rojas deben cerrarse con precinto o nudo ciego.
- Las bolsas negras y transparentes se cierran con nudo ciego.
- Los contenedores rígidos se llenan hasta el 75% de su capacidad.
- Si cae un objeto considerado común dentro de una bolsa roja no se debe retirar; todo el conjunto se trata como biocontaminado.
- Si cae un objeto considerado contaminado dentro de una bolsa negra, no se retira; todo el conjunto se trata como biocontaminado y se debe colocar dentro de una bolsa roja.

Tabla 13. Tipo de recipiente para descarte de residuos según su clasificación.

| Tipo de residuo | | Descarte | Identificación requerida | Envase |
|-------------------------------|------------------------|--|--|---|
| Residuo sanitario contaminado | Material biológico | Bolsa de polietileno virgen de espesor de 80 micras, de tamaño mínimo de 60 cm de ancho y 80 cm de largo. Color ROJO con pictograma de riesgo biológico en color negro (*) | <p>Deben estar identificados por el personal técnico con:</p> <ul style="list-style-type: none"> • identificación del generador • fecha • lugar de origen |  |
| | Material cortopunzante | Recipiente rígido, de color rojo, con pictograma de riesgo biológico en color negro | <p>Deben estar identificados por el personal técnico con:</p> <ul style="list-style-type: none"> • identificación del generador • fecha • lugar de origen <p>Debe cerrarse la tapa y sellar con cinta para garantizar la hermeticidad durante el traslado</p> |  |
| Residuos comunes | Reciclables | Bolsa de polietileno, de color según reglamentación específica para su disposición y traslado | - |  |
| | No reciclables | Bolsa de polietileno de color negro | - |  |
| Residuos líquidos | Líquidos peligrosos | Contenedores de plástico rígido | <p>Deben estar identificados por el personal técnico con:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nombre del producto • identificación del generador • fecha • lugar de origen |  |

| | |
|---|---|
| <p>(*) Pictograma de riesgo biológico</p> |  |
|---|---|

La disposición final de los residuos se hará según su clasificación, y siguiendo las pautas nacionales e internacionales.

5. Accidentes: Derrames.

Durante las distintas tareas y procedimientos llevados a cabo en el laboratorio pueden ocurrir diversos tipos de accidentes: físicos, químicos, biológicos, eléctricos, entre otros.

Este punto se centra únicamente en los accidentes en los que exista un riesgo biológico. Para dichos casos hay que estar preparado y saber cómo proceder de antemano. Lo primordial es mantener la calma y actuar según el protocolo establecido en la institución.

Todo los esfuerzos deben estar orientados a que los accidentes con materiales biológicos, particularmente los derrames, sean una excepción, sin embargo pueden ocurrir, y son fundamentales todas las acciones inmediatas, y un posterior análisis de sus causas, con el fin de adoptar medidas correctivas y evitar su repetición.

El entrenamiento para la ejecución de las tareas en el laboratorio, la correcta práctica de los procedimientos y el cumplimiento de las normas de bioseguridad, son decisivos para la **prevención** de estos accidentes.

Frente a un derrame, es necesario valorar el nivel de riesgo que puede implicar para el personal, y para ello se debe tener en cuenta qué situación se presenta:

- Derrame de muestra biológica potencialmente infecciosa, con baja probabilidad de generación de aerosoles.
- Derrame de muestra biológica potencialmente infecciosa, con alta probabilidad de generación de aerosoles.
- Derrame dentro de CSB
- Derrame fuera de CSB
- Accidente dentro de una centrífuga

Como guía general, en el Nivel 1 se pueden tomar las medidas que se detallan a continuación, según el tipo de derrame:

5.1 Derrame de muestra biológica potencialmente infecciosa fuera de CSB con baja probabilidad de producción de aerosoles:

Casos en que se vuelca envase mal tapado y se produce derrame de la muestra, sin rotura de envase, sin golpes, en zona bien definida, sin salpicaduras.

1. Se coloca algodón embebido en hipoclorito de sodio al 1% (ver anexo 11) sobre el área afectada y sobre el envase de la muestra. Se retiran del área los materiales no involucrados en el accidente.
2. Se deja actuar el hipoclorito de sodio por 30 minutos.
3. Luego de pasado el tiempo estipulado se limpia el área afectada y el recipiente, con nuevo algodón con hipoclorito de sodio al 1%. La limpieza del área afectada se realiza en círculos concéntricos, desde afuera hacia adentro.
4. Se descarta algodón y guantes utilizados, en bolsa para residuos biológicos.
5. Si la muestra dentro del envase no resultó alterada, se continúa su procesamiento.

5.2 Derrame de muestra biológica potencialmente infecciosa fuera de CSB con alta probabilidad de generación de aerosoles:

Muestras poco viscosas, golpes en el accidente, rotura de envase, caída de muestra con dispersión de material, área afectada poco definida:

Todo el personal del área deberá abandonar de manera **inmediata** la zona afectada del laboratorio siguiendo los pasos a continuación:

1. El funcionario que tiene el accidente avisa de manera clara y tranquila al resto del personal que se produjo un accidente y deben abandonar el área conteniendo la respiración.
2. El funcionario que tiene el accidente debe proceder de la siguiente manera:
 1. Colocarse la máscara N95.
 2. Quitarse los EPP involucrados en el accidente.
 3. Apagar los equipos de acondicionamiento de aire (para evitar la dispersión de los aerosoles generados).
3. Salir del área afectada y cerrar la puerta de entrada.
4. Quitarse la máscara N95 al salir del área y descartarla en una bolsa para residuos biológicos.
5. Lavarse las manos.
6. Abrir el kit para derrames (ver anexo 12) y colocar en la puerta el cartel: ACCIDENTE NO ENTRAR.
7. Registrar la hora y anotar en el cartel.
8. Esperar 1 hora para que decanten los aerosoles (ver anexo 10).

Durante el periodo de exclusión de una hora:

10. Se analiza la naturaleza del derrame, la localización, volumen y concentración de BAAR.
11. Se examina el procedimiento para actuación frente a derrames que se encuentra dentro del kit para derrames.
12. Se revisa el contenido del kit para derrames.
13. Se prepara el material absorbente y la solución desinfectante (hipoclorito de sodio 1%, ver anexo 11).

Limpieza:

1. Previo a entrar al área afectada, colocarse el EPP incluido en el kit para derrames.
2. Cubrir la zona del derrame con material absorbente empapado en hipoclorito de sodio al 1%.
3. Verter más solución de hipoclorito de sodio sobre la zona del derrame y área circundante, en círculos concéntricos desde afuera hacia adentro.
4. Esperar 30 minutos para que el desinfectante actúe.
5. Durante éste período de tiempo el funcionario permanecerá dentro del área dónde se produjo el derrame para evitar la contaminación de otros sectores.
6. Pasados los 30 minutos, recoger con cuidado las toallas absorbentes y colocarlas en una bolsa para residuos biológicos, y si hubiera elementos cortopunzantes, en recipiente rígido para descarte.
7. Limpiar el líquido restante desde los bordes hacia el centro con nuevo algodón con hipoclorito de sodio al 1% y descartar en bolsas de residuos biológicos.
8. Descartar los EPP utilizados para la limpieza (menos la máscara N95 que permanecerá puesta) en la bolsa para residuos biológicos.
9. Lavarse las manos, salir del laboratorio y descartar la máscara N95.
10. Solicitar al personal de servicio la limpieza general del área (piso, mesadas).

11. Registrar el accidente en la planilla de Registro de Incidentes.
12. Reponer los materiales en el kit para derrames.

5.3 Derrame de muestra biológica potencialmente infecciosa dentro de una CSB:



Con la CSB siempre en funcionamiento:

1. Colocar algodón embebido en hipoclorito de sodio al 1% sobre la muestra derramada y el área circundante y dejar actuar durante 15 minutos.
2. Si no hay rotura del envase, limpiar el exterior del mismo con algodón embebido en hipoclorito de sodio al 1%. Si la muestra dentro del envase no resultó alterada, se continúa con su procesamiento una vez cumplidos los siguientes pasos:
3. Si hubiera material cortopunzante, se recoge cuidadosamente y se coloca en recipiente rígido para residuos biológicos.
4. Se descartan algodones y guantes utilizados en bolsa para residuos.
5. Se continúa trabajando en la CSB una vez terminado el proceso de limpieza.
6. Terminado el trabajo en la CSB se procede a su limpieza habitual (ver anexo 4).

5.4 Accidente dentro de centrífuga:

El centrifugado es un procedimiento de riesgo que debe ser llevado a cabo en una CCB, y abrir las canastas de seguridad removibles dentro de una CSB. De no contar con una CCB, se aconseja no realizar procedimientos de concentración de muestras (LBA, etc) que implican centrifugado, y enviar las mismas al LNR. La pauta del MSP para Nivel 1 es el procesamiento de **expectoraciones** diagnósticas.

Si de todas maneras el laboratorio realiza este procedimiento, deberá tenerse en cuenta lo siguiente:

En ocasiones se puede detectar un accidente antes de abrir la centrífuga, si se ha estado presente durante el proceso de centrifugación, por el cambio de sonido (ruido) en el funcionamiento del equipo.

En este caso proceder de la siguiente manera:

1. Detener la centrífuga.
2. Mantener la tapa de la centrífuga cerrada por 30 a 60 minutos para que decanten los aerosoles producidos en el accidente.
3. Colocarse EPP: sobretúnica, guantes, máscara N95.
4. Abrir la centrífuga y cubrir la parte interior de la misma con material absorbente embebido en hipoclorito de sodio al 1%, volcando mayor cantidad sobre el tubo roto.
5. Cerrar la centrífuga.
6. Dejar actuar durante 15 minutos.
7. Sacar el material contaminado y descartar en un recipiente de paredes rígidas.
8. Colocar todas las muestras no rotas en una gradilla o recipiente hermético y limpiarlas dentro de una CSB.
9. Limpiar el interior de la centrífuga con hipoclorito al 1% y retirar con alcohol 70.
10. Descontaminar los porta-tubos en autoclave, o sumergir en hipoclorito de sodio 1% durante 10 minutos en caso de no contar con autoclave.

Si por el contrario se detecta el accidente al abrir la tapa: cerrar la centrífuga y hacer salir inmediatamente a todo el personal prescindible del área, por la liberación de aerosoles en el ambiente.

Luego proceder cómo se describe en la situación anterior, desde el punto 2 en adelante.

BIOCUSTODIA.

1. Introducción.

El principal objetivo de la biocustodia es reforzar la seguridad en todo lo relacionado con los materiales y agentes biológicos e instalaciones y las actividades asociadas, asegurando la custodia de dichos materiales y agentes así como su almacenamiento y transporte; permitiendo de este modo, combatir su tráfico ilícito de forma más efectiva, y facilitando una adecuada preparación para una eventual respuesta a un incidente biológico, sea este natural, intencionado o accidental.

El tema puede abordarse desde dos puntos de vista:

1. Cada Estado soberano tiene la responsabilidad asociada al mantenimiento de su seguridad nacional en materia biológica centrado en normas y tratados internacionales^(*), atendiendo las regulaciones y legislación, con el propósito de controlar las importaciones, exportaciones, las aduanas, y los embarques transnacionales, para incluir la obligación y la definición de acondicionamiento y transporte seguro de materiales biológicos y toxinas.

2. Un enfoque, más operacional, que se centra en las medidas a tomar desde los diferentes laboratorios, basadas en las pautas de la OMS, principal institución internacional que elabora normas y recomendaciones de buenas prácticas de biocustodia y bioseguridad para el sector sanitario.

Éste último enfoque es el que desarrollaremos brevemente en este documento.

2. Definiciones en biocustodia.

Biocustodia: término empleado para englobar la combinación de protocolos, políticas, procedimientos, métodos, equipos, y medidas elaboradas, para proteger los biomateriales o MBV^(**) dentro de los laboratorios, de un acceso no autorizado, la pérdida no intencionada, el robo o el uso indebido por parte de actores externos o personal que se aproveche de su acceso a dichos materiales.

Agente biológico: microorganismo, toxina biológica, partícula o material infeccioso de otra manera, ya sea que se presente de manera natural o genéticamente modificado, que puede causar infecciones, alergias, toxicidad o crear un peligro para los seres humanos, los animales o las plantas. Estos incluyen bacterias, virus y priones.

Riesgo en biocustodia: producto de la interacción dinámica entre amenazas, vulnerabilidades y consecuencias.

^(*) *Convención sobre la Prohibición del Desarrollo, la Producción y el Almacenamiento de Armas Bacteriológicas y Tóxicas (CAB). En vigor desde marzo de 1975. Resolución 1540 del Consejo de Seguridad de las Naciones Unidas (RCSNU). Abril 2004.*

^(**) *En los laboratorios de TB Nivel 1, los MBV corresponden a muestras de pacientes, cepas aisladas, cepas de para control de calidad.*

Amenaza de biocustodia: suceso natural o provocado por el hombre, individuo, entidad o acción, que tiene el potencial de dañar la vida, la información, las operaciones, el medio ambiente y/o la propiedad.

Las amenazas pueden considerarse como posibles actos deliberados, que podrían explotar las carencias o fallos en biocustodia y/o bioseguridad, y que pueden ser tanto externas como internas.

En el contexto de biocustodia, el análisis de las amenazas o riesgos no se centran únicamente en las cualidades intrínsecas de patógenos específicos y su capacidad para causar daño si son liberados de manera deliberada o accidental, sino que debe ser tomado sólo como parte de un análisis más general, que enfatiza las vulnerabilidades y las amenazas a las instalaciones.

Vulnerabilidad: característica física o atributo operativo que hace que una entidad esté abierta a la explotación o sea susceptible a un peligro determinado. Como tal, una vulnerabilidad representa una fuente potencial de daños, fallos o pérdidas.

3. Instalaciones a las que aplican las obligaciones de biocustodia

Los principios y las prácticas de la biocustodia deben aplicarse a los diversos tipos de instalaciones, que pueden tener similitudes, ya que trabajan con muestras biológicas, poseen equipos similares, y están dotados con una mezcla de personal con formación científica y técnica, pero que sin embargo pueden diferir enormemente en cuanto a los microorganismos con los que trabaja, la naturaleza y escala del trabajo que realizan. Ésto puede tener profundos efectos en el nivel de riesgo que presentan para la biocustodia.

La siguiente es una lista de instalaciones que plantean un riesgo potencial, a las que deben aplicarse los principios de biocustodia:

- Laboratorios
- Instalaciones de investigación agrícola
- Instalaciones de investigación veterinaria
- Producción de vacunas

Tabla 14. Aplicación de obligaciones de biocustodia.

| | | |
|---------------------------------------|---------------------------------|--------------------------|
| Laboratorios | Universitarios de enseñanza | |
| | Universitarios de investigación | |
| | De investigación comercial | |
| | Clínicos | Comerciales |
| | | Hospitalarios (*) |
| Instalaciones de investigación | Agrícola | |
| | Veterinaria | |
| Producción de vacunas | Uso humano o animal | |

(*) Tanto el LNR como los laboratorios Nivel 1 de la RNLDT, se encuentran dentro de este punto, pudiendo desarrollar en algunos casos actividades de investigación también.

4. Medidas a implementar desde el punto de vista de la biocustodia

La aplicación eficaz de la biocustodia requiere de una serie de elementos relacionados:

- **Normativa:** las medidas reguladoras, como leyes nacionales, normas oficiales, directivas emitidas por organismos internacionales y políticas institucionales, son fundamentales para una aplicación eficaz de las medidas de biocustodia. Deben quedar establecidas las obligaciones y requisitos tanto para los individuos como para las instituciones que puedan requerir la aplicación de estas medidas y prácticas.
- **Evaluaciones:** incluyen evaluaciones de amenazas, riesgos y vulnerabilidad de las instituciones o particularmente de los laboratorios.
- **Capacitación:** debe impartirse una formación adecuada sobre los principios y prácticas de biocustodia al personal pertinente de forma periódica y a todo el personal nuevo en el momento de la incorporación a la institución o laboratorio.
- **Medidas de seguridad:**

Seguridad física:

Las características físicas de las instalaciones en las que debe aplicarse la biocustodia como los laboratorios, entre otros, desempeñan un papel crítico para mantener la seguridad no sólo de las instalaciones y sus activos (equipos, material biológico, información), sino también de su personal.

El objetivo es establecer medidas que impidan o compliquen el acceso no autorizado a las instalaciones o a los materiales controlados (MBV). Ésto conlleva el control y registro de entrada del personal autorizado, y control y registro de salida de MBV y equipamiento.

Los sistemas de entrada con códigos o claves y las cámaras de seguridad, son extremadamente útiles, no solo para restringir la circulación sino también para tener historiales de acceso.

En lo que respecta a esta medida, los requisitos de bioseguridad y biocustodia se solapan o complementan.

Gestión de personal:

Es un aspecto crucial de la biocustodia que busca garantizar que el personal sea confiable, que mantenga una capacitación apropiada y que no represente un riesgo para el uso indebido de MBV e información, mitigando así posibles amenazas internas.

Se debe garantizar que los individuos con acceso a los materiales controlados tengan pocas probabilidades de verse motivados por factores personales, comerciales o ideológicos, para explotar su acceso de forma que puedan ocasionar un daño para la institución, otros individuos o la sociedad en general.

Se debe poder identificar cuando un individuo con acceso se ha convertido en un riesgo ya sea por situaciones personales o factores externos.

Deben definirse los roles, responsabilidades y autoridades del personal de laboratorio encargados de la manipulación, uso, almacenamiento y/o transferencia de muestras. Así mismo se debe documentar el entrenamiento, experiencia y competencia de todos aquellos con acceso a los MBV.

Debe gestionarse y documentar el ingreso de visitantes, estudiantes, proveedores, etc.

En el caso de estudiantes, pasantes y becarios, se les debe asignar un escolta durante todo el horario de permanencia en áreas críticas de forma de controlar el acceso a la información, equipos y agentes biológicos.

En lo que respecta a esta medida, los requisitos de bioseguridad y biocustodia se solapan o complementan.

Seguridad de la información:

Tiene como objetivo mantener a salvo la información de accesos no autorizados y manipulaciones indebidas, lograr niveles necesarios de confidencialidad en el sistema informático incluyendo registros de acceso electrónico, y limitar el mismo a los individuos que necesiten estos datos.

Con respecto a los conocimientos y la experiencia asociada a la investigación, es fundamental tomar medidas para evitar la difusión inapropiada y garantizar el uso responsable de la información científica.

Cibercustodia:

La creciente dependencia de los sistemas informatizados y en red para la investigación, el funcionamiento de las instalaciones y manejo de datos (resultados de estudios, entre otros), tiene el potencial de introducir vulnerabilidades significativas, por lo que resulta necesario disponer de un buen sistema de protección de la red informática para evitar accesos no autorizados tanto externos como internos.

A su vez, determinada información crítica para la biocustodia, como puede ser datos de conservación de cepas, protocolos de transporte, entre otros, se aconseja que se encuentren almacenados en equipos sin acceso a internet.

Control/gestión de inventarios:

El objetivo es supervisar el acceso a los biomateriales, así como su suministro, estado, consumo y eliminación, y cualquier equipo o material relacionados, para identificar posibles desvíos con fines no aprobados.

Esto implica llevar un control documentado de las cepas almacenadas y cada acceso o movimiento que tengan: funcionario, fecha, propósito.

Por otro lado, todo el personal es responsable de tomar precaución contra hurto o mal uso de equipos que puedan ser utilizados de forma peligrosa o para otros fines, especialmente incubadoras y equipos diseminadores de aerosoles.

Seguridad en el transporte:

El objetivo es que los mismos procesos rigurosos destinados a proteger los materiales biológicos dentro del laboratorio, sigan a estos materiales cuando son transportados fuera del mismo.

Este procedimiento fuera de una instalación introduce vulnerabilidades, y hace imprescindible integrar otras medidas, como la *seguridad física* y el *control de inventarios*.

5. Situación de Uruguay

El 18 de enero de 2023, mediante Decreto de Presidencia (C.E. N° 304952) Uruguay establece como *“...objetivo implementar la Convención sobre la Prohibición del Desarrollo, la Producción y el Almacenamiento de Armas Bacteriológicas (Biológicas) y Toxínicas y sobre su Destrucción a través de la creación de una Comisión Interinstitucional que actúe como Autoridad Nacional y la definición de sus competencias...”*

Este decreto responde al hecho de que Uruguay, en calidad de Estado Parte de la Convención de las Naciones Unidas sobre la Prohibición del Desarrollo, la Producción y el Almacenamiento de Armas Bacteriológicas (Biológicas) y Toxínicas y sobre su Destrucción, abierta a la firma en las ciudades de Londres, Moscú y Washington el 10 de abril de 1972, está obligado a cumplir con lo dispuesto por la misma (Decreto - Ley N° 15.101 de 24 de 1980)

El artículo 4° de la Convención establece que: *“Cada Estado Parte en la Convención adoptará, en conformidad con sus procedimientos constitucionales, las medidas necesarias para prohibir y prevenir el desarrollo, la producción, el almacenamiento, la adquisición o la retención de los agentes, toxinas, armas, equipos y vectores especificados en el artículo 1 de la Convención en el territorio de dicho Estado, bajo su jurisdicción o bajo su control en cualquier lugar.”*

Por *“Resolución 1540 (2004) del Consejo de Seguridad de la Organización de las Naciones Unidas, se reconoció la necesidad de que todos los Estados adopten medidas adicionales eficaces para prevenir la proliferación de las armas nucleares, químicas o biológicas y sus sistemas vectores, por la cual además se exhortó a los Estados a la adopción de normas y reglamentaciones nacionales para asegurar el cumplimiento de los compromisos que les incumben”*.

Dentro de este marco, como uno de los primeros pasos a dar, los laboratorios de análisis clínicos serán contactados por el Ministerio de Salud Pública, para cumplir con el Art. 3, literal b- del Decreto: *“Emitir y mantener actualizado un Listado de Sustancias Biológicas Controladas y un Listado de Equipos Biológicos de Doble Uso y Tecnología y Sistemas Informáticos Asociados.”*

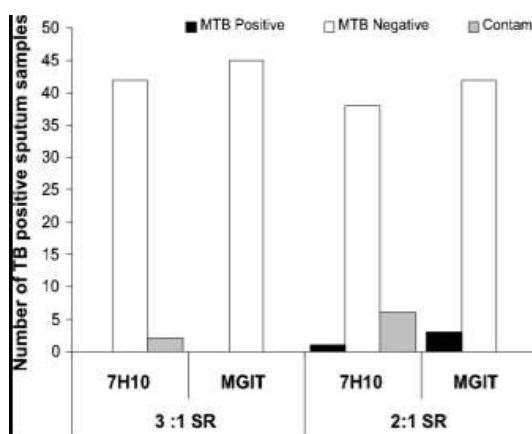
Ésta información será recabada mediante formularios que se enviarán vía mail a las direcciones de los laboratorios.

ANEXO.

1. Ventajas y desventajas de las medidas de contención.

| Medidas de Contención | Ventajas | Desventajas |
|---------------------------------|---|--|
| Controles de ingeniería | Eficientes: eliminan el peligro del ambiente. | Costo, complejidad de implementación y mantenimiento. |
| Controles administrativos | Enfoque institucional, reglamentación, crean marco para los procesos y procedimientos. | Enfoque indirecto, abordan fundamentalmente el factor humano. |
| Prácticas y procedimientos | Basadas en las pautas, enfoque normatizado: POEs. | Requisitos en materia de formación y supervisión. |
| EPP | Facilidad de uso, costo relativo bajo. Protección si fallan el resto de las medidas, limitando la exposición. | No elimina el peligro, si falla se produce exposición, incómodo, limita la manualidad. |
| Buenas prácticas de laboratorio | Bajo costo. Preventivas: aseguran la prevención de accidentes. Correctivas: medidas a tomar. | Dependen del factor humano, exige fiscalización permanente y actualización constante. |

2. Inactivación de BAAR con reactivo de muestra de Xpert MTB Rif



Se puede observar la viabilidad de los BAAR, recuperados en 2 medios diferentes, expuestos previamente al buffer de lisis del kit de Xpert MTB/RIF, en relaciones de 2:1 y 3:1. Estos resultados avalan además que no es imprescindible contar con una CSB para la realización de Xpert MTB/RIF.


Containment of bioaerosol infection risk by the Xpert MTB/RIF assay and its applicability to point-of-care settings.

3. Ejemplos de mapas de riesgo


Croquis ilustrativo de organización de áreas correspondiente a **bajo riesgo** de contaminación debido a la logística de distribución de áreas.

| | | | | | | |
|----------------|------------|-------|-------------|--------------|----------|--------------|
| Administración | Vestuarios | Baños | Microscopía | Preanalítico | Cultivos | Sensibilidad |
|----------------|------------|-------|-------------|--------------|----------|--------------|

Una distribución correcta de áreas, tareas y equipamiento permite delimitar las zonas de mayor contaminación y diseñar un flujo de materiales y personal de manera segura.

| | | | | | |
|---|------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------|-------------|
| Percheros | CSB | Heladeras | Estufas de cultivos | Gene Xpert | Frotis |
|  Pasillo | | | | | Microscopio |
| Administración | Centrífuga | Siembra de muestras en general | Coloración / Pileta lavamanos | Pruebas de sensibilidad | |

Ejemplo: aunque se establezcan medidas de **contención primaria**, la contaminación del personal y áreas ocurre, por la mala distribución de los sectores y el flujo no direccionado de trabajo.

| | | | | | |
|---|-------------|------------|-----------|--------------------------------|-------------------------|
| Percheros | lavamanos | Heladeras | Genexpert | CSB | Estufas de cultivo |
|  Pasillo | | | | | Centrífuga |
| Administración | microscopio | Coloración | Frotis | Siembra de muestras en general | Pruebas de sensibilidad |

Ejemplo: redistribución de áreas disminuyendo notoriamente la contaminación. Medida de **contención secundaria** que se puede tomar una vez realizado el **mapa de riesgo**.


4. Instructivo uso y limpieza de CSB:

Alcance: El procedimiento aplica a todas las CSB y sus operarios dentro de la RNLDT de Nivel 1, en los cuales se procesan muestras biológicas.

| | | |
|-------------|-------------------------|---------------------|
| Materiales: | Hipoclorito de Sodio 1% | Sobre Túnica |
| | Guantes | Alcohol 70% |
| | Algodón | Toallas absorbentes |
| | Papel camilla | |

Instrucciones detalladas del procedimiento:

Uso de la CSB:

- 1) Encender la CSB y dejar estabilizar el flujo laminar durante 15 minutos antes de comenzar a usar.
- 2) Durante ese tiempo elegir los materiales que se van a necesitar acorde al procedimiento a realizar y los EPP correspondientes.
- 3) Una vez pasados los 15 minutos de estabilización de la cabina y con los EPP colocados, proceder a realizar la limpieza de inicio de tarea (ver más adelante).
- 4) Colocar un papel cubriendo la superficie de trabajo, dejando libre las rejillas para no obstruir el flujo laminar.
- 5) Disponer los materiales dentro de la CSB de tal forma que queden separadas 3 áreas de trabajo en éste orden de izquierda a derecha:
 - Espacio limpio: materiales limpios.
 - Área de trabajo principal: gradilla con muestras, tubos, algodón embebido en hipoclorito de sodio al 1%, para posibles derrames de muestras, etc.
 - Espacio sucio: descartador rígido, muestras ya procesadas, etc.
- 6) Introducir los brazos y aguardar un momento a que se estabilice el flujo laminar antes de comenzar el procedimiento.
- 7) Iniciar la secuencia de las tareas siempre en el sentido limpio  sucio con movimientos suaves.
- 8) Al terminar los procedimientos técnicos, realizar la limpieza correspondiente a la finalización de la tarea (ver más adelante) y su registro.

Limpieza de la CSB:

Antes de comenzar la tarea:

- 1) Encender la CSB.
- 2) Lavarse las manos y colocarse EPP.
- 3) Si hay equipos u otros materiales dentro de la CSB retirarlos previa desinfección.
- 4) Rociar con solución Hipoclorito de Sodio 1% superficies de trabajo.
- 5) Dejar actuar por 5 minutos y retirar el excedente con toallas absorbentes.
- 6) Rociar con alcohol 70% para eliminar residuos de Hipoclorito de Sodio.
- 7) Dejar encendida la CSB por 5 minutos más antes de comenzar a trabajar en ella para que se estabilice el flujo laminar.

Al finalizar la tarea:

- 1) Una vez finalizada la tarea dejar la CSB encendida durante 15 minutos para eliminar los aerosoles. Durante ese tiempo no utilizarla ni retirar ningún elemento.
- 2) Luego de ese tiempo, descontaminar los materiales que se encuentran dentro de la misma con hipoclorito de sodio al 1%.
- 3) Proceder a retirarlos dejando la CSB vacía.
- 4) Rociar con solución Hipoclorito de Sodio 1% la superficie de trabajo (incluidos el papel camilla) y las paredes interinas de la CSB incluyendo la mampara frontal.
- 5) Dejar actuar por 10 minutos.
- 6) Descartar el papel camilla y algodón en bolsa residuos biológicos.
- 7) Retirar el excedente de Hipoclorito de sodio con toallas absorbentes.
- 8) Rociar con alcohol 70% para eliminar residuos de Hipoclorito de Sodio.
- 9) Apagar la CSB.
- 10) Registrar la limpieza en la planilla correspondiente.

Recomendaciones:

- Mantener la CSB libre de elementos innecesarios, dejando sólo aquellos indispensables para llevar a cabo la tarea. De ser necesario, utilizar un carro auxiliar con los elementos limpios a utilizar.
- Realizar desinfección de las superficies de los instrumentos y/o materiales con Hipoclorito de sodio 1% por 10 minutos y luego retirar los residuos de Hipoclorito de sodio con alcohol 70%.
- Llevar registros de horas de uso y limpieza de la CSB.
- Realizar la limpieza de la CSB siempre en las siguientes situaciones :
 - Antes y después de trabajar en ella.
 - En caso de derrame (consultar protocolo para derrame en CSB)
 - Cuando se alternan procedimientos de trabajo.

5. Instructivo de uso y limpieza de vortex:

El agitador vortex es el mayor generador de aerosoles y debe usarse siempre dentro de una CSB.

Alcance: El procedimiento aplica a todos los vortex y sus usuarios dentro de la Red de laboratorios de Nivel 1.

| | | |
|-------------|-------------------------|---------------------|
| Materiales: | Hipoclorito de Sodio 1% | Sobre Túnica |
| | Guantes | Toallas absorbentes |
| | Alcohol 70% | Algodón |

Consideraciones para el uso y limpieza del vortex:

- Usar solo tubos/recipientes con tapón a prueba de pérdidas.
- No abrir muestras sometidas a agitación vorticial durante por lo menos 10 minutos.
- Asegurarse que el cabezal de agitación se encuentra correctamente anclado a la superficie del agitador.
- Antes de vortexear, revisar que el contenedor que va a colocar en el agitador se encuentre correctamente cerrado y seco en su exterior.
- Después de cada utilización, limpiar la superficie del agitador (el panel central y el cabezal) con una gasa con hipoclorito de sodio al 1%.
- Desenchufar el agitador vortex de la fuente de alimentación antes de realizar procedimientos de limpieza o mantenimiento.
- No verter líquidos directamente sobre la unidad porque puede provocar descargas eléctricas.

Mantenimiento semanal:

- 1- Limpiar la superficie externa del vortex y el cabezal con hipoclorito de sodio al 1%.
- 2- Sostener la carcasa de forma segura y firme y extraer el cabezal tirando hacia arriba.
- 3- Lavar el cabezal utilizando un paño con detergente.
- 4- Enjuagar bajo el chorro de la canilla.
- 5- Dejar secar el cabezal por completo antes de su colocación.
- 6- Colocar el cabezal.

Mantenimiento mensual:

- 1- Limpiar la superficie externa y el cabezal con hipoclorito de sodio al 1%.
- 2- Examinar toda la superficie del agitador en busca de roturas o rajaduras o marcas de óxido.
- 3- Verificar que la almohadilla de goma del cabezal no esté dañada.
- 4- Comprobar el estado del sistema TOUCH (encendido al hacer presión sobre el cabezal).
- 5- Someter el vortex a distintas velocidades, comprobando que el equipo se mantiene firme y que no se desplaza.
Siempre se retirará el hipoclorito de sodio con material absorbente embebido en alcohol 70.

6. Instructivo de uso y limpieza de CCB

El proceso de centrifugado es uno de los mayores generadores de aerosoles , por lo que un correcto uso y limpieza de la centrífuga es indispensable para la reducción del riesgo en el laboratorio.

- Alcance: El procedimiento aplica a todas las centrífugas y sus usuarios de los laboratorios nivel 1 de la Red.
- Materiales: Hipoclorito de Sodio 1%
Guantes
Toallas absorbentes










Consideraciones para el uso y limpieza de las CCB:


Como ya se estableció en el punto 3.2.3.3, es importante disponer de una CCB para el trabajo con TB. Ya sea que se disponga de una, o que por el contrario el laboratorio no cuente con una centrífuga de contención, pero de todas formas decida asumir el riesgo, es imprescindible realizar una correcta limpieza de estos equipos.

Limpieza del compartimento del rotor y superficies una vez terminada la tarea:

- 1- Abrir la tapa de la centrífuga.
 - 2- Apagar el dispositivo y desconectarlo de la fuente de alimentación antes de realizar cualquier tarea.
 - 3- Desinfectar el rotor, las superficies (interna y externa) de la tapa y las superficies (internas y externas) de la carcasa de la centrífuga pulverizando una solución de hipoclorito de sodio al 1.0%, dejando actuar por 5 minutos.
 - 4- Retirar el hipoclorito de sodio al 1.0% utilizando la rejilla embebida en agua.
 - 5- Secar las superficies con material absorbente.
 - 6- Registrar la limpieza en el Registro de limpieza y mantenimiento del equipo.
- Importante: No usar alcohol (70% o 96%) ni acetona porque afectan la estructura y resecan las gomas.
 - Una vez por semana se recomienda remover las camisas del rotor, en caso de una centrífuga común, o las canastas en el caso de la CCB, y autoclavarlas durante 15 minutos a 121°C.






7. Instructivo de lavado de manos

| | |
|---|---|
|  | <p>Abrir la llave del grifo hasta obtener agua a chorro moderado que permita el arrastre mecánico. Humedecer las manos con abundante agua.</p> |
|  | <p>Colocarse jabón antibacteriano y realizar el frotado hasta obtener espuma en toda la superficie de las manos</p> |
|  | <p>Comenzar a frotarse las manos sobre sí mismas.</p> |
|  | <p>Realizar el frotado de la palma derecha contra el dorso de la mano izquierda entrelazando los dedos y viceversa.</p> |
|  | <p>Realizar el frotado de las palmas de la mano entre sí, con los dedos entrelazados.</p> |
|  | <p>Realizar el frotado del dorso de los dedos de una mano con la palma de la mano opuesta, agarrándose los dedos.</p> |
|  | <p>Realizar el frotado del pulgar izquierdo con movimiento de rotación atrapándolo con la palma de mano derecha y viceversa</p> |
|  | <p>Realizar el frotado de la punta de los dedos de la mano derecha contra la palma de la mano izquierda, haciendo un movimiento de rotación y viceversa</p> |
|  | <p>Enjuagarse las manos, de la parte distal a la proximal con agua a chorro moderado y no sacudirlas</p> |






| | |
|---|---|
|  | <p>Secarse las manos con toallas absorbentes.</p> |
|---|---|

8. Guantes:

1. Procedimiento de colocación de guantes

| | |
|---|---|
|  | <p>Lavarse las manos</p> |
|  | <p>Extraer un guante del envase y revisar el estado del mismo. Si no está en condiciones, desecharlo y elegir otro.</p> |
|  | <p>Juntando los dedos y dejando el pulgar separado, insertar la mano por el puño del guante.</p> |
|  | <p>Enfundarlo en la mano, hasta obtener una perfecta adaptación a la misma (ausencia de arrugas) estirando desde el extremo abierto del guante hacia usted.</p> |
|  | <p>Colocarse el segundo guante de la misma forma que el anterior. Verificar que ambos guantes no se hayan roto en la colocación.</p> |

2. Procedimiento para remoción de guantes

| | |
|---|---|
|  | Pellizcar el borde exterior del puño del guante izquierdo por la zona de la palma. |
|  | Tirar del guante hasta que salga del revés y enrollarlo entre los dedos de la mano enguantada. |
|  | Con la mano que quedó sin guante, insertar un dedo bajo el guante de la otra mano, en la zona de la muñeca, con cuidado de no tocar la parte exterior del mismo. |
|  | Retirar el guante de manera de envolver el guante quitado previamente. De esta forma las manos quedan en contacto solo con la parte interior del último guante retirado. Realizar esta maniobra suavemente y con cuidado. Desechar los guantes en bolsa para residuos biológicos. |
|  | Realizar el procedimiento de lavado de manos. |

9. Mascarillas autofiltrantes


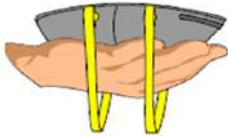
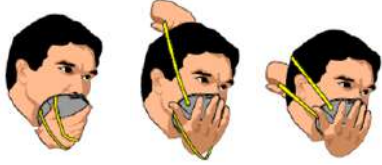

9.1 Procedimiento para la colocación de las mascarillas

Para los modelos **3M 8210V** y **3M 8210** seguir el instructivo a continuación:

3M 8210 V



3M 8210

| | | |
|---|---|---|
| 1 |  | <p>Si está reutilizando la mascarilla, colocarse un guante nuevo previo al proceso. Pre-estirar las bandas superior e inferior antes de colocarse la mascarilla en la cara.</p> |
| 2 |  | <p>Colocar la mascarilla en su mano de modo que la pieza nasal quede en la punta de los dedos, permitiendo que las bandas cuelguen libremente.</p> |
| 3 |  | <p>Colocarse la mascarilla debajo de su barbilla con la pieza nasal hacia arriba. Pasar la banda superior sobre su cabeza de modo de que quede justa por detrás en la parte superior de la cabeza. Pasar la banda inferior sobre su cabeza y colocarla alrededor del cuello por debajo de las orejas.</p> |
| 4 |  | <p>Colocar las puntas de los dedos de ambas manos en la parte superior de la pieza nasal metálica. Con ambas manos moldear el área nasal a la forma de su nariz empujando hacia dentro mientras mueve las puntas de los dedos hacia abajo a ambos lados de la pieza nasal. (Si presiona la pieza nasal con una mano es posible que logre un mal ajuste y el desempeño de la mascarilla sea menos efectivo).</p> |






Para el modelo 3M 1870 seguir el instructivo a continuación:



| | | |
|---|--|---|
| 1 | | <p>Si está reutilizando la mascarilla, debe colocarse guantes nuevos previo al proceso. Pre-estirar las bandas superior e inferior antes de colocarse la mascarilla en la cara.</p> |
| 2 | | <p>Abrir completamente los paneles superior e inferior flexionando el clip nasal alrededor del pulgar en el centro de la espuma. Las bandas deben separarse al abrirse los paneles. Asegurarse de que el panel inferior se encuentre desdoblado y completamente abierto.</p> |
| 3 | | <p>Colocarse la mascarilla sobre su rostro de manera que la espuma se apoye sobre su nariz y el panel inferior se abra debajo del mentón. Pasar la banda superior sobre su cabeza y colocarla en la parte posterior de la misma. Luego pasar la banda inferior sobre su cabeza y colocarla alrededor del cuello por debajo de las orejas.</p> |
| 4 | | <p>Colocar las puntas de los dedos de ambas manos en la parte superior de la pieza nasal metálica. Con ambas manos moldear el área nasal a la forma de su nariz empujando hacia dentro mientras mueve las puntas de los dedos hacia abajo a ambos lados de la pieza nasal. (Si presiona la pieza nasal con una mano es posible que logre un mal ajuste y el desempeño de la mascarilla sea menos efectivo).</p> |

9.2 Procedimiento para la remoción de la mascarilla

El procedimiento es independiente del modelo de mascarilla.

| | | |
|---|---|---|
| 1 |  | Colocarse guantes limpios previo a realizar este procedimiento. (El exterior de la mascarilla se encuentra potencialmente contaminada). |
| 2 |  | Con la mano en forma de copa, mantener la mascarilla en su cara. |
| 3 |  | Jalar la banda inferior pasándola sobre la cabeza. |
| 4 |  | Pasar la banda superior del respirador sobre su cabeza, manteniendo la posición del mismo. |
| 5 |  | Guardar la mascarilla en un lugar limpio, seco y transpirable, ejemplo bolsa de papel o caja de plástico. (El cierre no debe ser hermético). |

Prueba de ajuste de la mascarilla:

En todos los casos, deberá realizarse una prueba de ajuste, una vez puesta la mascarilla, se cubre el panel central con una o ambas manos, inhalando y exhalando lentamente. Si se nota fuga de aire alrededor de la nariz, volver a ajustar el clip nasal. Si hubiera una fuga de aire en los bordes de la mascarilla, ajuste nuevamente los paneles y las bandas.

IMPORTANTE: Para la colocación de la mascarilla se deberá usar guantes limpios siempre. (Si se está reutilizando, el exterior de la mascarilla está potencialmente contaminado).

Almacenamiento y mantenimiento de la mascarilla:

- La mascarilla se debe identificar, en su parte externa, con el número de funcionario y la fecha de recibida.
- Será guardada en cajas (plásticas o de cartón) o bolsas (plásticas o de papel con orificios para permitir que la humedad se evapore), individuales e identificadas con el nombre del funcionario.
- Siempre se pondrá con la parte externa hacia arriba (boca abajo).
- Nunca debe dejarse sobre una mesada o área de trabajo fuera de la caja o bolsa correspondiente.

Descarte de la mascarilla:

Deberá ser descartada en bolsa para residuos biológicos (bolsa roja), en las siguientes situaciones:

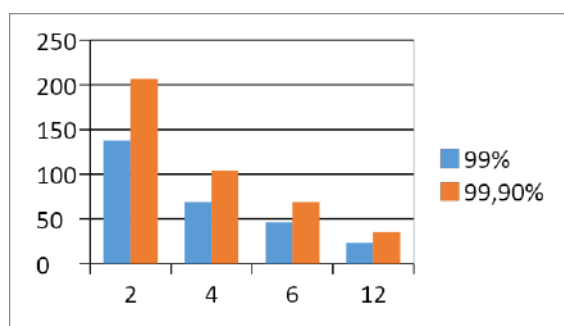
- Una vez cumplido el período de tiempo de recambio preestablecido.
- Habiéndose detectado falla o rotura.
- En el caso de las mascarillas de los kit para accidente, una vez utilizada.

10. Tiempo estimado para la eliminación de aerosoles.

Tiempo estimado para eliminación de aerosoles en minutos vs IAH.

| IAH | Minutos necesarios para la eficiencia de eliminación de los aerosoles infecciosos | |
|-----|---|--------|
| | 99 % | 99.9 % |
| 2 | 138 | 207 |
| 4 | 69 | 104 |
| 6 | 46 | 69 |
| 12 | 23 | 35 |

Gráfico 1: Tiempo estimado para eliminación de aerosoles vs IAH.



Los 6 IAH se consiguen con ventilación natural o contando con un extractor de aire de uso comercial en cocinas domésticas. Si se opta por ventilación natural es importante saber que las ventanas deberán permanecer cerradas durante la manipulación de las muestras.

11. Desinfectantes utilizados en el manejo de micobacterias.

Hipoclorito de sodio

- Germicida químico, de acción rápida y amplio espectro.
- Descontaminación de superficies de trabajo posterior al trabajo con muestras de TB, y derrames.
- Las concentraciones y usos recomendados en los laboratorios de TB son:
 - Solución 0.5% (5g/L) se recomienda para la desinfección diaria de superficies y desinfección semanal de pisos (acción efectiva, pero de corta duración).
 - Solución 2% (20 g/L) se recomienda para manejo de derrames de muestras.

En Nivel 1 la concentración recomendada es 1%, teniendo en cuenta el tipo de muestras y volumen a procesar, evitando complejizar el procedimiento.

Preparación de las soluciones de trabajo del hipoclorito de sodio

- Para su preparación y manipulación siempre se debe emplear guantes y solo se debe diluir con agua.
- Se deben emplear soluciones madre de hipoclorito de concentración conocida (como referencia, el cloro comercial contiene aproximadamente 5% o 50 g/L).
- A continuación se presenta la fórmula para el cálculo del volumen necesario de hipoclorito de sodio de la solución madre a diluir, para esto es necesario conocer la concentración de hipoclorito de sodio de la solución original y la concentración final que se va a preparar:

$$V \text{ (necesario)} = \frac{V \text{ (final)} \times [] \text{ (final)}}{[] \text{ (inicial)}}$$

| | |
|----------------|---|
| V (necesario): | volumen que debemos tomar de la solución madre. |
| V (final): | volumen que se desea preparar. |
| [] (final): | concentración de hipoclorito que se desea preparar. |
| [] (inicial): | concentración de la que se parte: solución madre/comercial. |

Consideraciones generales sobre el hipoclorito de sodio:

- Debe ser preparado diariamente. La solución no utilizada durante el día se eliminará en el desagüe.
- Se debe contar con hipoclorito de sodio en cada zona y/o sala donde se manipulen muestras (recepción de muestras, área técnica), y en cada CSB, si es que se utiliza en el laboratorio.
- Las soluciones con hipoclorito de sodio son alcalinas, y altamente corrosivas, por lo que se debe emplear con precaución sobre superficies de acero inoxidable (como en el interior de los CSB), y retirar las trazas de producto con una solución de alcohol 70%.

Alcohol

- Se utiliza en concentración 70 %, diluido en agua destilada.
- Posee acción bactericida sobre bacterias ambientales.
- Se recomienda su uso para desinfección de equipos como refrigeradores, centrifugas y microscopios, previa limpieza de polvo o grasa.
- Se advierte no utilizar alcoholes o soluciones solo a base de alcohol para desinfectar superficies de trabajo dado que éstas se evaporan rápidamente, lo que reduce sustancialmente el tiempo de contacto con los microorganismos, disminuyendo su acción bactericida.
- El alcohol tiene la ventaja de no dejar residuos en las superficies empleadas, por lo que se recomienda su uso luego de la descontaminación con hipoclorito de sodio en superficies metálicas.

Fenol 5%

El uso de esta solución se utiliza únicamente en accidentes que impliquen derrame de material biológico en laboratorios de Nivel II y II plus, pero no se recomienda por ser cáustico y tóxico.

Ácido peracético 2%.

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

orgánico y no deja residuos. Las soluciones de trabajo a una concentración al 2% son estables durante las 48 horas desde su preparación.

Desinfectantes y sus usos.

| Desinfectante | Concentración | Uso | Observaciones |
|-----------------------------|---|---|---|
| Alcohol etílico | Concentración: 70 %: | Limpieza de superficies (mesadas, muebles, vidrios), superficie de equipamiento. | <ul style="list-style-type: none"> • La concentración disminuye a medida que se evapora. No hay efecto residual ni residuo. • Daña la goma y los plásticos. |
| Cloro y compuestos clorados | <p>Hipoclorito de sodio al 0.5 %: usar para desinfección habitual.</p> <p>Hipoclorito de sodio al 2 %: usar para derrames</p> | <p>Limpieza de CSB, superficies contaminadas, pisos.</p> <p>Desinfección en caso de derrames.</p> | <ul style="list-style-type: none"> • La concentración disminuye con el tiempo. Preparar diariamente la solución de trabajo. • En caso de utilizar en metal, enjuagar con alcohol 70%. |

12. Kit para derrames

Se debe contar con un kit para utilizar en caso de derrames, conteniendo:

- 2 pares de guantes
- 1 máscara N95
- 1 sobretúnica descartable
- Algodón o papel absorbente
- 1 bolsa para residuos biológicos
- 1 tabla para registro anual de control de contenido
- Cartel con leyenda: ACCIDENTE. PROHIBIDO ENTRAR, para ser colocado en la puerta en caso de accidente
- Protocolo de acción frente a accidentes o derrames, para revisar durante el tiempo de exclusión, previo iniciar la limpieza
- Importante: el **hipoclorito de sodio se preparará en el momento**, durante el tiempo de exclusión, o se tomará de otra área que tenga preparado del día.

Consideraciones a tener en cuenta:

- El kit debe estar ubicado fuera del área donde se realice la tarea de riesgo, de modo que si ocurre un accidente, el técnico pueda acceder al mismo fuera del área, sin exponerse a los aerosoles, pudiendo revisar protocolo de actuación antes de la limpieza.
- Debe estar en un recipiente o bolsa transparente que permita ver su interior, debidamente identificado con leyenda: KIT PARA DERRAMES.
- Debe ser revisado para verificar su contenido 1 vez al año, y registrado.
- Todos los funcionarios deben saber su ubicación exacta y modo de uso.

13. Planillas para Análisis de Riesgo

| | |
|---------------------------------------|--|
| Nombre de Institución /centro | |
| Nombre del laboratorio | |
| Director o supervisor del laboratorio | |
| Fecha | |

ETAPA 1. Recopilar información (identificar el peligro)

| | |
|--|--|
| Describa los agentes biológicos y otros posibles peligros (por ejemplo, transmisión, dosis infecciosa, medidas terapéuticas y preventivas, patogenicidad). | |
| Describa los procedimientos de laboratorio que se vayan a realizar (por ejemplo, cultivo, centrifugación, trabajo con objetos punzocortantes, manipulación de desechos, frecuencia con que se realiza la actividad). | |
| Describa los tipos de equipos que se vayan a utilizar (EPP, centrifugadoras, autoclaves, vortex, CSB) | |
| Describa el tipo de instalaciones donde se realizará el trabajo y el estado en que se encuentran | |
| Describa los factores humanos pertinentes (por ejemplo, competencia, formación, experiencia y actitud del personal) | |

ETAPA 2. Evaluar los riesgos

| | |
|---|--|
| ¿En qué situaciones podría producirse una exposición o liberación? | |
| ¿Cuál es la probabilidad de que se produzca una exposición o liberación (improbable, posible, probable)? | |
| ¿Cuál es la gravedad de las consecuencias de una exposición o liberación (despreciable, moderada, grave)? | |

ETAPA 3. Elaborar una estrategia de control del riesgo

| | |
|--|--|
| Describa los recursos disponibles para controlar el riesgo y considere su aplicabilidad, disponibilidad y sostenibilidad en el contexto local, en particular el apoyo de la dirección. | |
| Describa las medidas aconsejadas por las directrices, políticas y estrategias (si las hay). | |
| ¿Hay recursos suficientes para obtener y mantener las posibles medidas de control del riesgo? | |
| ¿Podrá realizarse el trabajo sin medidas de control del riesgo? ¿Hay alternativas? | |

ETAPA 4. Seleccionar y aplicar medidas de control del riesgo

| | |
|---|--|
| Describa las medidas exigidas por las leyes o reglamentos nacionales (si las hay). | |
| Describa las medidas aconsejadas por las directrices, políticas y estrategias (si las hay). | |

Describa dónde y cuándo se necesitan medidas de control del riesgo, determine el riesgo residual una vez aplicadas esas medidas, y evalúe su disponibilidad, eficacia y sostenibilidad.

| Actividades o procedimientos | Medidas de control del riesgo seleccionadas | Riesgo residual (muy bajo, bajo, medio, alto, muy alto) | ¿Es aceptable el riesgo residual? (sí/no) | ¿Se dispone de medidas de control del riesgo eficaces y sostenibles? (sí/no) |
|------------------------------|---|---|---|--|
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

En todos los casos, para realizar la evaluación de riesgo se utiliza la tabla:

| | | | | |
|--|---------------|------------|---------|----------|
| Consecuencias de la exposición o liberación | Graves | Medio | Alto | Muy alto |
| | Moderadas | Bajo | Medio | Alto |
| | Despreciables | Muy bajo | Bajo | Medio |
| | | Improbable | Posible | Probable |
| Probabilidad de exposición o liberación | | | | |

Si el riesgo residual sigue siendo inaceptable hay que seguir actuando, por ejemplo, adoptando nuevas medidas de control en función del riesgo inicial evaluado en la ETAPA 2, redefiniendo el alcance del trabajo de forma que sea aceptable con las medidas de control existentes, o identificando un laboratorio alternativo que disponga de estrategias adecuadas de control del riesgo ya establecidas y sea capaz de realizar el trabajo según lo previsto.

| | | |
|---|-----------|-----------|
| ¿Puede realizarse el trabajo con las medidas de control del riesgo que se han seleccionado? | SI | NO |
| Aprobado por (nombre y cargo) | | |
| Aprobado por (firma) | | |
| Fecha | | |

Las estrategias y medidas que se tomarán deben ser **informadas** al personal del laboratorio como esté establecido, que asegure que **todos los funcionarios conocen** los peligros, riesgos y medidas a tomar.

14. Equipo para descarga de autoclave:

Utilidad: protección del personal frente a posibles fallas que generen fugas de calor y/o vapor al momento de abrir el autoclave luego que finalizó el ciclo de esterilización.

Pantalla facial

- Deben cumplir con la norma ANSI Z87.1-2003: fabricadas en policarbonato,
- Resistentes a ácidos y altas temperaturas (137° C).
- Transparente.
- Debe cubrir todo el rostro.
- Con sistema de ajuste para la cabeza.

Delantal reforzado

- De material resistente al agua y al calor.
- Sujeto al cuello y a la cintura.
- Debe cubrir por completo el pecho, el abdomen y las piernas.

Guantes aislantes térmicos

- De material aislante térmico, que permita además su desinfección.
- Deben cubrir las manos y el antebrazo hasta el codo.

15. Cómo setear la velocidad de una centrífuga en RPM:

Las centrífugas están equipadas con un rotor que gira a una velocidad específica (RPM). Las RPM indican el número de rotaciones que realiza el rotor en un minuto. Por otro lado, la fuerza G, también conocida como fuerza centrífuga relativa (FCR), es una medida de la **aceleración** que experimenta una muestra durante la centrifugación. La fuerza G es proporcional al cuadrado de las RPM y a la distancia entre la muestra y el centro de rotación.

La conversión de RPM a fuerza G se ve influenciada por el radio del rotor, que desempeña un papel crucial, ya que determina la distancia entre el centro de rotación y la muestra. Medir con precisión el radio del rotor es esencial para realizar cálculos exactos de la fuerza G.

Generalmente la velocidad en las centrífugas vienen dadas en RPM, por lo que para asegurarnos una velocidad de 3000 g, debemos hacer una conversión, utilizando:

1. **Calculadoras en línea:** Sitios como Altogen Labs o Sigma-Aldrich ofrecen herramientas automáticas.
2. **Nomogramas:** Tablas gráficas que vienen frecuentemente en los manuales de las centrífugas para realizar la conversión visualmente.
3. **Botón de conversión:** Muchas centrífugas modernas incluyen un botón labeled RPM/RCF que realiza el cambio automáticamente en la pantalla.
4. **Fórmula para cálculo:**

$$RPM = \sqrt{\frac{g}{1.118 \times 10^{-5} \times r}}$$

Donde:

RPM: es la velocidad que debemos setear en la centrífuga

G: es 3000 (fuerza a la que debemos llegar)

r: es el radio del rotor medido en centímetros (cm) desde el eje central del rotor hasta el fondo del tubo o canastilla

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization (WHO): Global Tuberculosis Report 2021.
2. Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Tuberculosis-Data and Statistics
3. *DISEÑO Y MEJORA DE MEDIDAS DE BIOCUSTODIA: UN EJERCICIO DE SENTIDO COMÚN*. Rafael Pérez Mellado. Gobierno de España Ministerio de Asuntos Exteriores y de Cooperación Dirección General de Política exterior y asuntos multilaterales, globales y de seguridad Subdirección General de No proliferación y desarme.
4. *BIOCUSTODIA EN EL TRANSPORTE Y TRANSFERENCIA DE AGENTES BIOLÓGICOS*. Rafael Pérez Mellado. Gobierno de España Ministerio de Asuntos Exteriores y de Cooperación Dirección General de Política exterior y asuntos multilaterales, globales y de seguridad Subdirección General de No proliferación y desarme.
5. Binder, Markus K., Alexandra M. Williams, and Steve S. Sin. "Biosecurity in the Americas: A Regional Threat Assessment." Washington, D.C.: UNSCR 1540 Implementation Program of the Inter-American Committee against Terrorism, Organization of American States, 2023.
6. <https://www.iso.org/obp/ui#iso:std:iso:35001:ed-1:vl:es>. Gestión del riesgo biológico en laboratorios y otras organizaciones relacionadas.
7. J. Ruiz Manzano, J.M. Manterola, V. Ausina, J. Sauret, Nomenclatura y clasificación de las micobacterias, Archivos de Bronconeumología, Volume 34, Issue 3, 1998, Pages 154-157, ISSN 0300-2896, [https://doi.org/10.1016/S0300-2896\(15\)30472-5](https://doi.org/10.1016/S0300-2896(15)30472-5).
8. Kim SJ, Lee SH, Kim IS, Kim HJ, Kim SK, Rieder HL. Risk of occupational tuberculosis in National Tuberculosis Programme laboratories in Korea. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2007 Feb;11(2):138-42. PMID: 17263282.
9. *TUBERCULOSIS MULTIDROGORRESISTENTE (TB-RR/MDR) EN LAS AMÉRICAS*. www.paho.org/tuberculosis. OPS/OMS
10. *ESTUDIO DE REDES. ESTRUCTURA Y FUNCIONAMIENTO DE LAS REDES NACIONALES DE LABORATORIOS DE TUBERCULOSIS EN LA REGIÓN DE LAS AMÉRICAS* / Programa "Fortalecimiento de la Red de Laboratorios de Tuberculosis en la Región de las Américas" -- Lima: ORAS - CONHU; 2017.
11. *Guía para limpieza, desinfección, esterilización y gestión de residuos del Laboratorio Nacional de Referencia en Micobacterias*. Documentos técnicos del LNR. CHLA-EP. Uruguay.
12. *Manual de bioseguridad en el laboratorio*, cuarta edición [Laboratory biosafety manual, fourth edition]. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2023 (Manual de bioseguridad en el laboratorio, cuarta edición y monografías complementarias / Laboratory biosafety manual, fourth edition and associated monographs). Licencia: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
13. *Mycobacterium tuberculosis*. Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo; 2021. Vicepresidencia Segunda del Gobierno. Ministerio de Trabajo y Economía Social. Madrid. España.
14. *Cabinas de seguridad biológica: uso, desinfección y mantenimiento*. Washington, D.C.: OPS, ©2002
15. *Sistema de gestión de la calidad en el laboratorio (LQMS) Manual*. OMS. Clinical and Laboratory Standards Institute WHO, CDC. 2016
16. Decreto de Presidencia C.E. N° 304952 del 18 de enero de 2023. Decreto C.E. 304952
17. <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-patogenesis-tuberculosis-otras-micobacteriosis-S0213005X17303099>

"Una enfermedad espantosa en la que la lucha entre alma y cuerpo es tan gradual, muda y solemne, y el resultado tan infalible, que día a día y gota a gota, la parte mortal se extingue y marchita. Una enfermedad... que a veces avanza a grandes zancadas y a veces a un paso lánguido e indolente, pero ya sea lento o rápido, siempre es seguro y certero."

Charles Dickens: Nicholas Nickleby