



GABINETE DIRECTORA.
FISCALÍA.
OFICINA DE ASUNTOS REGULATORIOS.
DEPARTAMENTO LABORATORIO BIOMÉDICO NACIONAL Y DE REFERENCIA.
ID N° 1113722



RESOLUCIÓN EXENTA N°

APRUEBA “MANUAL DE BIOSEGURIDAD PARA LABORATORIOS DE TUBERCULOSIS”.

VISTOS estos antecedentes; la providencia 2743, de fecha 24 de octubre de 2025, de la Fiscal (S) del Instituto; la providencia 786, de fecha 22 de octubre de 2025, de la Jefa Técnica de Gabinete; el memorándum 294, de fecha 21 de octubre de 2025, del Jefe del Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia, y

CONSIDERANDO

PRIMERO: Que, acorde al inciso tercero del artículo 57 del D.F.L. N° 1, de 2005, del Ministerio de Salud, *“El Instituto servirá de laboratorio nacional y de referencia en los campos de la microbiología, inmunología, bromatología, farmacología, imagenología, radioterapia, bancos de sangre, laboratorio clínico, contaminación ambiental y salud ocupacional y desempeñará las demás funciones que le asigna la presente ley”*, siendo una de sus funciones, según dispone la letra del artículo 59 del mismo Decreto con Fuerza de Ley el *“a) Servir de laboratorio nacional y de referencia, normalizador y supervisor de los laboratorios de salud pública que determine el Ministerio de Salud, en las materias indicadas en el artículo 57”*.

SEGUNDO: Que, en el ejercicio de dicha función, el Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia ha estimado necesario abordar el trabajo técnico en los laboratorios de tuberculosis, dado que se considera una actividad riesgosa la labor que desempeñan. Para ello, ha elaborado un “Manual de bioseguridad para laboratorios de tuberculosis”, que presenta una serie de medidas de control que en conjunto configuran las medidas de bioseguridad aplicables en los ambientes de laboratorio que incluyen las buenas prácticas relacionadas con los procedimientos, el uso de equipos de seguridad, y finalmente, la infraestructura del laboratorio como última barrera de contención para disminuir los riesgos de la actividad que realiza.

Por ende, este se dirige al equipo de profesionales y técnicos de laboratorio que realizan los distintos procedimientos para el diagnóstico de tuberculosis, conteniendo los requisitos mínimos necesarios para el trabajo seguro en la Red de Laboratorios de tuberculosis del país, de acuerdo con las directrices emanadas del Laboratorio de Referencia Nacional correspondiente a la Sección Micobacterias del Instituto de Salud Pública de Chile.

TERCERO: Que, el texto del documento recién descrito fue sometido al procedimiento de consulta pública o ciudadana, publicándose el mismo desde el día 4 de junio de 2025 hasta el día 22 de julio del mismo año. En total, fueron recibidas 15 observaciones, de las cuales se acogieron un total de 8 correspondientes en su mayoría a mejoras de redacción y organización del texto propuesto. Lo anterior, según informa el Jefe del Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia en su memorándum 294, de fecha 21 de octubre de 2025.



CUARTO: Que, de esta forma, concluido el proceso referido, resta solo entonces aprobar administrativamente el manual referido, de manera que

TENIENDO PRESENTE lo dispuesto en la Ley N° 18.575; en la Ley N° 19.880; en el D.F.L. N° 1, de 2005, del Ministerio de Salud; lo prescrito en el Decreto Supremo N° 1222, de 1996, del Ministerio de Salud; lo establecido en la Resolución N° 36, de 2024, de la Contraloría General de la República y en uso de las facultades que me confiere el Decreto N° 23, de 2024, del Ministerio de Salud, dicto la siguiente:

RESOLUCIÓN

1.- APRUÉBASE el “Manual de Bioseguridad para Laboratorios de Tuberculosis”, cuyo íntegro tenor es el que pasa a señalarse:

“MANUAL DE BIOSEGURIDAD PARA LABORATORIOS DE TUBERCULOSIS

AUTORES

*BQ. Álvaro Díaz Briceño.
Sección Micobacterias.
Subdepartamento Enfermedades Infecciosas.
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.
Instituto de Salud Pública de Chile.*

*T.M. Angélica Scappaticcio Bordón.
Sección Micobacterias.
Subdepartamento Enfermedades Infecciosas.
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.
Instituto de Salud Pública de Chile.*

Realización de Figuras

*TM. Claudio Arriagada Cid.
Sección Micobacterias.
Subdepartamento Enfermedades Infecciosas.
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.
Instituto de Salud Pública de Chile.*

*TENS Bárbara Andrades Andrades
Sección Micobacterias.
Subdepartamento Enfermedades Infecciosas.
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.
Instituto de Salud Pública de Chile.*

*TENS José Díaz Araya
Sección Micobacterias.
Subdepartamento Enfermedades Infecciosas.
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.
Instituto de Salud Pública de Chile.*

REVISORES INTERNOS

TM. Fabiola Arias Muñoz.



Jefe Sección Micobacterias
Subdepartamento Enfermedades Infecciosas.
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.
Instituto de Salud Pública de Chile.

T.M. Tamara Leiva Calderón
Sección Micobacterias.
Subdepartamento Enfermedades Infecciosas.
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.
Instituto de Salud Pública de Chile.

TM Javier Figueroa Oviedo.
Sección Micobacterias.
Subdepartamento Enfermedades Infecciosas.
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.
Instituto de Salud Pública de Chile.

Dr. Juan Carlos Hormazábal Opazo.
Jefe Subdepartamento Enfermedades Infecciosas.
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.
Instituto de Salud Pública de Chile.

Dra. Verónica Ramírez Muñoz.
Jefe Subdepartamento Coordinación Externa.
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.
Instituto de Salud Pública de Chile.

MANUAL DE BIOSEGURIDAD PARA LABORATORIOS DE TUBERCULOSIS.

ÍNDICE DE CONTENIDOS.

- *Glosario de términos.*
- *Resumen.*
- *Alcance.*
- *Introducción.*
- I. *Medidas mínimas de bioseguridad en el laboratorio de Tuberculosis.*
 - 1. *Aerosoles en el laboratorio de Tuberculosis.*
 - a) *Tamaño.*
 - b) *Carga.*
 - c) *Viscosidad.*
 - d) *Cómo minimizar la producción de aerosoles.*
 - 2. *Buenas prácticas.*
 - a) *Acceso al laboratorio.*
 - b) *Equipamiento de protección personal.*
 - c) *Procedimientos.*
 - d) *Zonas de trabajo.*
 - e) *Otras conductas en el laboratorio.*
 - 3. *Prevención de la contaminación con material infeccioso.*
 - a) *Manejo de contenedores primarios.*
 - b) *Manejo de pipetas y micropipetas.*



4. *Diseño e instalaciones del laboratorio de Tuberculosis.*
 - a) *Actividad y riesgo.*
 - b) *Infraestructura y principios rectores.*
 - i. *Nivel de riesgo y actividades técnicas en el laboratorio.*
 - ii. *Movimiento del flujo de aire.*
 - c) *Diseño del laboratorio.*
5. *Limpieza y desinfección de laboratorios.*
 - a) *Limpieza de pisos del laboratorio.*
 - b) *Hipoclorito de sodio.*
 - c) *Alcohol.*
 - d) *Micobactericida comercial.*
 - e) *Ácido peracético 2%.*
6. *Capacitación.*
7. *Biocustodia.*
- II. *Equipos de seguridad.*
 1. *Cabina de seguridad biológica (CSB).*
 - a) *CSB clase II A2.*
 - b) *Acoplador tipo dedal.*
 - c) *¿Dónde instalar una CSB en el laboratorio de TB?.*
 - d) *Operadores de la CSB.*
 - e) *¿Cómo usar la CSB?.*
 - f) *Distribución del material.*
 - g) *Movimiento de los brazos.*
 - h) *Ergonomía.*
 - i) *Verificación de parámetros de seguridad.*
 - j) *Cambios de filtro de la CSB.*
 - k) *Alarmas.*
 - l) *Limpieza y desinfección.*
 2. *Centrífuga con contenedores de seguridad.*
 3. *Autoclave.*
- III. *Equipamiento de protección personal (EPP).*
 1. *Delantales de laboratorio y batas.*
 2. *Respiradores.*
 3. *Guantes desechables.*
 4. *Protección facial y ocular.*
 5. *Calzado.*
- IV. *Transporte de muestras.*
- V. *Manejo de desechos biológicos.*
- VI. *Respuesta frente a derrames biológicos en el laboratorio de Tuberculosis.*
 1. *Consideraciones generales para el manejo de material contaminado.*
 2. *Manipulación de recipientes de muestras con filtraciones y/o derrames.*
 3. *Estación de seguridad.*
 4. *Derrame biológico fuera de la CSB.*
 5. *Derrame biológico en el interior de la CSB.*
 6. *Rotura de tubos con derrame de material contaminado (muestras o cultivos) en la centrífuga.*
- VII. *Evaluación de riesgos y clasificación de los laboratorios de TB.*
 1. *Laboratorios de TB de riesgo bajo.*
 - a) *Factores que aumentan el riesgo de infección.*



- b) *Características específicas y medidas de bioseguridad mínimas indispensables.*
- c) *Uso de las áreas de trabajo.*
- d) *Ventilación y flujos de aire unidireccional.*
- e) *Reducir al mínimo la generación de aerosoles.*
- 2. *Laboratorios de TB de riesgo moderado.*
 - a) *Factores que aumentan el riesgo de infección.*
 - b) *Medidas de bioseguridad mínimas y características específicas en el laboratorio.*
 - c) *Ventilación.*
 - d) *Equipo de protección personal.*
 - e) *Diseño del laboratorio.*
 - f) *Descontaminación y eliminación de desechos.*
 - g) *Reducción al mínimo de la producción de aerosoles.*

Anexo 1: *Evaluación de riesgos.*

- 1. *Evaluación de riesgos en el laboratorio de TB.*
- 2. *Identificación de peligros.*
- 3. *Determinación de los riesgos.*
- 4. *Vigilancia de los riesgos y medidas de mitigación.*
- 5. *Programa de salud ocupacional para los trabajadores.*
- 6. *Recomendación sobre cómo realizar una evaluación de riesgo de un laboratorio de TB.*
 - a) *Determinar los peligros intrínsecos.*
 - b) *Decidir quién puede resultar afectado y cómo.*
 - c) *Evaluar los riesgos y decidir las precauciones.*
 - d) *Determinar la idoneidad de la planta física.*
 - e) *Evaluar la competencia del personal en el empleo de prácticas seguras.*
 - f) *Evaluar la integridad del equipo de seguridad.*
 - g) *Anotar las observaciones y tomar las medidas necesarias.*
 - h) *Revisar la evaluación y actualizarla en caso necesario.*

Anexo 2: *Determinación de las necesidades de ventilación.*

- 1. *Ventilación natural.*
 - 2. *Ventilación mecánica.*
 - 3. *Ventilación híbrida (mixta).*
 - 4. *¿Cómo determinar la ventilación adecuada en un laboratorio de TB que utilice ventilación mecánica?*
- *Bibliografía.*

Abreviaturas.

BAAR: *Bacilos alcohol acido resistentes.*

CAH: *Cambios de Aire por Hora.*

EPP: *Equipamiento de protección personal.*

CMTB: *Complejo Mycobacterium tuberculosis.*

CSB: *Cabina de seguridad biológica, también conocido como cabina de bioseguridad o gabinete de bioseguridad.*

HEPA: *Filtro de partículas de alta eficiencia.*

IAL: *Infecciones Adquiridas en Laboratorio.*

MBV: *Material biológico valioso.*

OMS: *Organización Mundial de la Salud.*

PROCET: *Programa de Control y Eliminación de la Tuberculosis.*



PPD: Derivado proteico purificado (Prueba de tuberculina).

TB: Tuberculosis.

TB/RR: Tuberculosis resistente a la rifampicina.

TB-MDR: Tuberculosis Multidrogorresistente, cepas de *Mycobacterium tuberculosis* resistente a la isoniacida y rifampicina.

TB-XDR: Tuberculosis Extremadamente resistente, cepas de *Mycobacterium tuberculosis* resistentes al menos a la rifampicina, a una fluoroquinolona y Bedaquilina o Linezolid.

Glosario de términos.

1. **Accidente:** un suceso inadvertido que resulta en un daño real, como una infección, enfermedad, lesión en seres humanos o contaminación del medio ambiente.
2. **Aerosol:** partículas de diferente diámetro que tiene el potencial de permanecer en suspensión en el medio ambiente. Se forman naturalmente en el sistema respiratorio de una persona o animal, o artificialmente al someter un material líquido o viscoso a una fuerza externa.
3. **Agente biológico:** una bacteria, virus, toxina biológica, partícula u otro tipo de material infeccioso, de origen natural o genéticamente modificado, que tiene el potencial de causar infección, alergia, toxicidad o crear un peligro para humanos, animales o plantas.
4. **Antesala:** una habitación pequeña que separa un área de laboratorio, de un corredor u otro espacio. Funciona como un refuerzo a la contención de aerosoles en el laboratorio de TB.
5. **Área Limpia:** un área o elemento donde es menos probable que contenga o esté contaminado con bacilos de *M. tuberculosis* u otros agentes infecciosos.
6. **Área Sucia:** un área o elemento que es más probable que contenga o esté contaminado con bacilos de *M. tuberculosis* u otros agentes infecciosos.
7. **Bioaerosol:** partículas de aerosoles con diámetro entre 1 a 5 μm . Son considerados responsables de la transmisión de patógenos por vía aérea (WHO, 2007; Wurie et al, 2016). Considerar en el desarrollo de este documento que el concepto de bioaerosol se encuentra contenido en el de aerosol, a menos de que se especifique lo contrario.
8. **Biocustodia o Bioprotección:** protección, control y seguimiento de los materiales biológicos, químicos y radiológicos dentro de los laboratorios y su transporte, para evitar su pérdida, robo, uso indebido, desviación, acceso no autorizado o liberación intencional no autorizada.
9. **Bioseguridad:** principios, tecnologías y prácticas de contención que se implementan para evitar la exposición o la liberación involuntaria a agentes biológicos.
10. **Buenas prácticas y procedimientos microbiológicos:** código básico de las prácticas de laboratorio aplicables a todo tipo de actividades de laboratorio con agentes biológicos, incluyendo comportamientos generales y técnicas asépticas que siempre deben observarse en el laboratorio. Este código sirve para proteger al personal del laboratorio y a la comunidad de una infección, prevenir la contaminación del medio ambiente y brindar protección a los materiales de trabajo que se encuentren en uso.
11. **Cabina de seguridad biológica (CSB):** Espacio de trabajo cerrado y ventilado, diseñado para proporcionar protección al operador, al entorno del laboratorio y / o el material de trabajo para actividades en las que exista peligro por la producción de aerosoles. La contención se logra mediante la segregación del trabajo a un área principal del laboratorio y/o mediante el uso de mecanismos de flujo de aire controlados y direccionados. El aire extraído pasa a través de un filtro recogedor de partículas de alta eficiencia HEPA (del inglés "High Efficiency Particle Arresting") antes de recircular en el laboratorio.
12. **Carga bacilar:** el número de bacilos de *M. tuberculosis* por unidad de volumen contenidos en una muestra clínica, cultivo sólido o líquido.



- 13. Consecuencia (de un incidente de laboratorio):** el resultado de un incidente (exposición y / o liberación de un agente biológico) con diferentes grados de daños en la salud, que ocurre en el curso de operaciones de laboratorio. Las consecuencias pueden incluir una infección asociada al laboratorio, otras enfermedades o lesiones físicas, contaminación ambiental o transmisión asintomática de un agente biológico.
- 14. Contaminación cruzada:** un evento no planificado que transfiere material de una muestra /cultivo / reactivo a otra muestra / cultivo / reactivo.
- 15. Contención:** la combinación de parámetros en el diseño físico y prácticas operacionales que protegen al personal, el entorno laboral inmediato y a la comunidad, de la exposición a agentes biológicos. También se utiliza en este contexto, el término "biocontención".
- 16. Contención primaria:** espacio de trabajo diseñado para proveer protección al operador, el ambiente de laboratorio y los materiales de trabajo frente a la exposición de aerosoles. La protección se consigue segregando el área donde se generan los aerosoles del resto del laboratorio, o con el uso de mecanismos de aire direccionado.
- 17. Contención secundaria:** protección del medio ambiente externo de los peligros manipulados en el interior de los laboratorios. Corresponde a la infraestructura y el diseño del laboratorio (separación de áreas).
- 18. Descontaminación:** reducción de agentes biológicos viables u otros materiales peligrosos, en una superficie u objetos a un nivel predefinido, por medios químicos y / o físicos.
- 19. Desinfección:** proceso para eliminar agentes biológicos viables de elementos o superficies, para un uso seguro en manipulaciones posteriores.
- 20. Dosis infecciosa:** la cantidad de un agente biológico, necesaria para provocar una infección en el huésped, medido en número de organismos. A menudo definido como el DI_{50} , la dosis que causa infección en el 50% de los expuestos en ausencia de medidas de control de riesgos.
- 21. Equipamiento de protección personal (EPP):** equipo y/o ropa que usa el personal para proporcionar una barrera contra los agentes biológicos, minimizando así la probabilidad de exposición. El EPP incluye, pero no se limita a: batas de laboratorio, trajes de cuerpo entero, guantes, calzado de protección, gafas de seguridad, máscaras y respiradores.
- 22. Estéril:** estado de ausencia total de esporas y agentes biológicos viables.
- 23. Evaluación de riesgos:** parte de la valoración de riesgos donde se pondera la probabilidad de exposición a un peligro contra la gravedad del daño potencial, según un conjunto de circunstancias predefinidas, como en un procedimiento de laboratorio específico. El objetivo de una evaluación de riesgos es determinar si el riesgo evaluado es aceptable, o se deben implementar medidas de control para prevenir o reducir los riesgos.
- 24. Exposición:** un evento durante el cual una persona entra en contacto o tiene una proximidad estrecha a agentes biológicos con potencial de infección o daño. Las vías de exposición pueden incluir inhalación, ingestión, lesión percutánea y absorción, suelen depender de las características del agente biológico.
- 25. Gestión de programas de bioseguridad:** el desarrollo, la implementación y la supervisión de bioseguridad a nivel organizacional utilizando una variedad de información que incluye políticas institucionales, documentos con recomendaciones para prácticas y procedimientos, documentos de planificación (capacitación, contratación, respuesta a emergencias / incidentes) y mantención de registros (personal, inventarios, gestión de incidencias).
- 26. Inactivación:** eliminación de la actividad de los agentes biológicos mediante la destrucción o inhibición de la actividad reproductiva o enzimática.
- 27. Incidente:** suceso que tiene como resultado o que posee el potencial de generar la exposición de personal de laboratorio a agentes biológicos y / o su liberación al medio ambiente que puede conducir o no a un daño real.
- 28. Infección asociada al laboratorio:** cualquier infección adquirida o asumida razonablemente como resultado de la exposición a un agente biológico en el curso de actividades



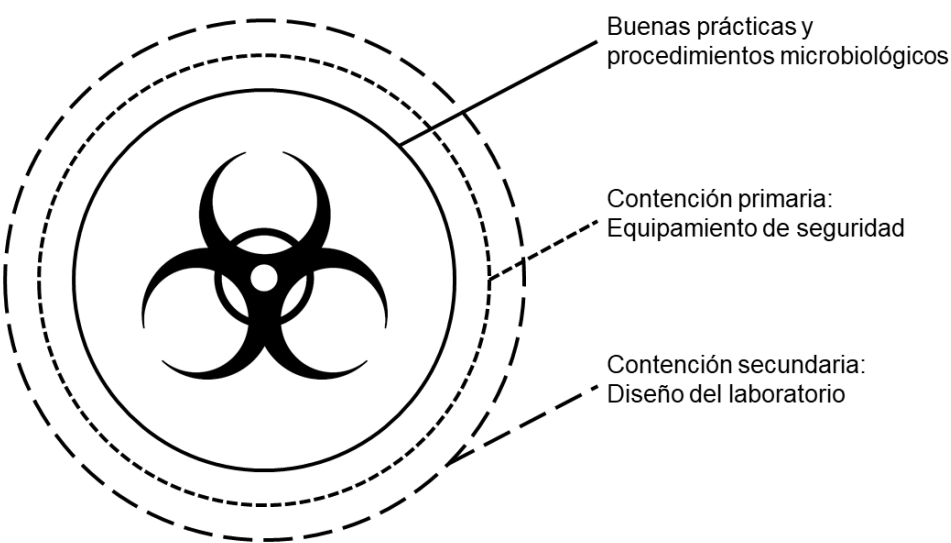
relacionadas con el laboratorio. La transmisión de persona a persona después del incidente puede resultar en casos secundarios. Las infecciones asociadas al laboratorio también se conocen como infecciones adquiridas en el laboratorio.

- 29. **Núcleo de gotícula:** ver **Bioaerosol**.
- 30. **Patógeno:** agente biológico capaz de causar enfermedades en humanos, animales o plantas.
- 31. **Peligro:** un objeto o situación que tiene el potencial de causar efectos adversos cuando un organismo, sistema o (sub) población está expuesto a él. En el caso de bioseguridad en el laboratorio, el peligro se define como agentes biológicos que tienen el potencial de causar efectos adversos para el personal y / o humanos, animales, comunidad en general y ambiente. Un peligro no se convierte en un "riesgo" hasta que se tiene en consideración la probabilidad y las consecuencias del daño que puede causar ese peligro.
- 32. **Riesgo:** es la combinación de la probabilidad de que un peligro cause daño y la gravedad del daño que puede surgir del contacto con ese peligro

RESUMEN.

El trabajo técnico en los laboratorios de TB es considerado una actividad riesgosa, debido a que la manipulación de las muestras y/o cultivos involucran procedimientos que pueden generar aerosoles que contienen bacilos infecciosos, y, en consecuencia, una infección en el personal. Con el objetivo de disminuir estos riesgos, en el presente documento se presentan una serie de medidas de control que en conjunto configuran las medidas de bioseguridad aplicables en los ambientes de laboratorio que incluyen las buenas prácticas relacionadas con los procedimientos, el uso de equipos de seguridad, y finalmente, la infraestructura del laboratorio como última barrera de contención (Figura 1).

Figura 1: Medidas de contención relacionadas con la bioseguridad en los laboratorios.



La contención primaria de los aerosoles infecciosos es brindada principalmente por las buenas prácticas y procedimientos microbiológicos y la CSB, equipo indispensable en los laboratorios que siembran cultivos de micobacterias; por otra parte, la infraestructura y el diseño del laboratorio corresponden a medidas de contención secundaria, las que deben ser incorporados por todos los laboratorios de TB. El resto de las medidas adoptadas para reducir el riesgo deben implementarse luego de la realización de una evaluación de riesgos, siempre a cargo del profesional que más



conocimiento tenga del patógeno y de los peligros presentes en el laboratorio (por lo general, recae en el encargado de bioseguridad). Cabe destacar que las conclusiones derivadas de la evaluación de riesgos son particulares para cada establecimiento, ya que dependen en última instancia de la infraestructura y epidemiología local.

El contenido del presente documento incluye datos provenientes de múltiples documentos de referencia, no obstante, el Manual de Seguridad En El Laboratorio (OPS 2022), y el Manual bioseguridad IV edición, (OMS, 2020) son la principal fuente de conocimiento presentado en este documento. Las figuras expuestas son de elaboración propia, a menos que se indique su fuente en el encabezado de cada una. Finalmente, agradecemos al personal técnico, administrativo y profesional de la Sección Micobacterias del Instituto de Salud Pública que amablemente participó en la redacción y confección de las figuras.

ALCANCE.

El presente documento está dirigido al equipo de profesionales y técnicos de laboratorio que realizan los distintos procedimientos para el diagnóstico de TB. Contiene los requisitos mínimos necesarios para el trabajo seguro en la Red de Laboratorios de TB del país, de acuerdo con las directrices emanadas del Laboratorio de Referencia Nacional de TB, correspondiente a la Sección Micobacterias del Instituto de Salud Pública de Chile. La organización de la red de laboratorios de TB del sistema público de salud se describe en la Tabla 1.

Tabla 1. Clasificación de los laboratorios de la red de diagnóstico de TB de acuerdo al Programa Nacional de Control y Eliminación de la TB.

Nivel de complejidad	Técnica desarrollada	Evaluación de riesgo	Estructura Red de Laboratorios
I	Susceptibilidad e identificación	Alto	Nivel Central
II	Baciloscopia y Cultivo	Moderado	Nivel Intermedio
III	Baciloscopia / PCR tiempo real	Bajo	Nivel Local

Fuente: Norma técnica para el Control y la Eliminación de la Tuberculosis, PROCE, Actualización 2022 Resolución Exenta N. °60 del Ministerio de Salud, Subsecretaría de Salud Pública, Ministerio de Salud de Chile.

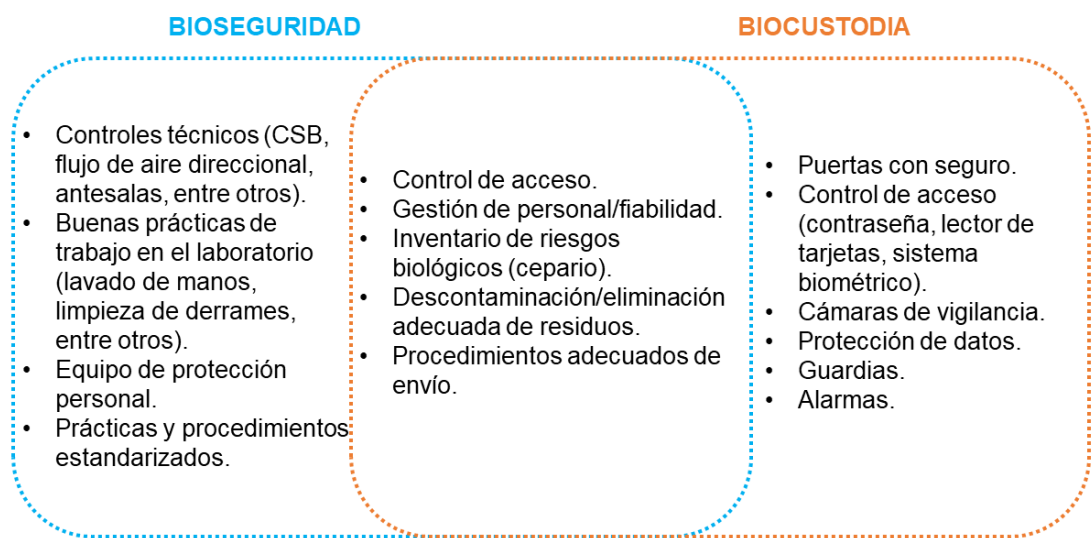
En la literatura se describe una serie de medidas de mitigación que pueden clasificarse en dos categorías principales:

- *Medidas de Bioseguridad:* aquellas destinadas a proteger al personal de los laboratorios, a la comunidad externa y al medio ambiente.
- *Medidas de Bioprotección o Biocustodia:* Aquellas implementadas para proteger a los agentes biológicos del uso malintencionado por parte de terceros.

Con la información entregada, es responsabilidad de cada laboratorio realizar su propia evaluación de riesgos. El resultado de esta evaluación permitirá determinar qué medidas adicionales deben aplicarse para proteger debidamente al personal que manipula las muestras y/o cultivos, tomando en cuenta las características propias de la infraestructura y diseño, disponibilidad de equipamiento, características epidemiológicas de la población que atiende y características del personal que desempeña actividades en el laboratorio.



Figura 2: Ejemplos de medidas de mitigación adoptadas para satisfacer las necesidades de bioseguridad y biocustodia.

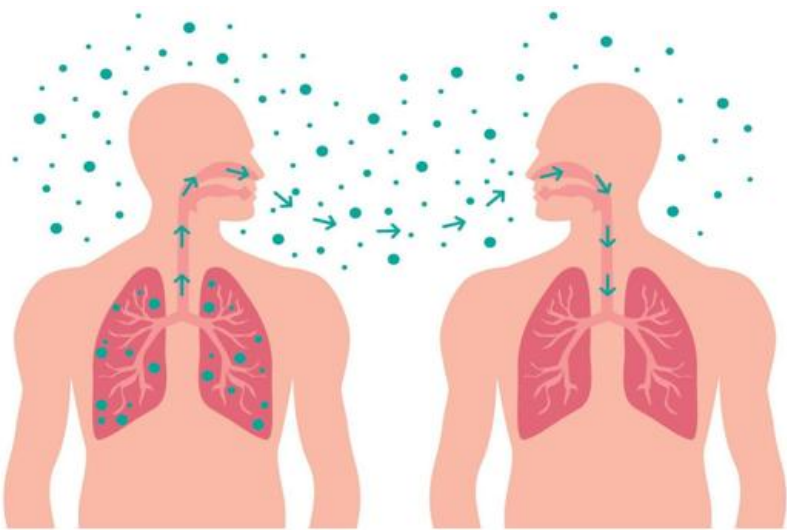


En la figura 2, se muestra un conjunto de medidas de **bioseguridad** destinadas a proteger al operador y grupo de trabajo frente a la exposición a *M. tuberculosis*, y otras medidas de **biocustodia o bioprotección** que buscan mantener el peligro dentro de los límites del laboratorio y evitar la exposición a la comunidad. También se puede observar que ciertas medidas no solo atienden las necesidades de bioseguridad sino también protegen a la población.

INTRODUCCIÓN.

La TB es una enfermedad infectocontagiosa provocada principalmente por el *Mycobacterium tuberculosis*, perteneciente al Complejo *Mycobacterium tuberculosis*. El mecanismo de transmisión más frecuente corresponde a la vía aérea, a través de la inhalación de aerosoles y bioaerosoles, generados en el aparato respiratorio de personas con la enfermedad activa al toser, estornudar y hablar (Figura 3). Los aerosoles pueden permanecer suspendidos en el aire durante períodos prolongados en áreas con ventilación deficiente, aumentando el riesgo de exposición e inhalación por parte de personas sanas, generando como consecuencia una potencial infección.

Figura 3: Esquematación de la transmisión de TB persona-persona. Los puntos verdes representan los aerosoles que contienen bacilos de *M. tuberculosis*.



Los pacientes que padecen TB no son la única fuente de generación de aerosoles infecciosos: en los laboratorios de TB, estos aerosoles se pueden generar durante la manipulación de muestras de pacientes o de cultivos positivos para *M. tuberculosis*. Con el propósito de disminuir al máximo la generación y exposición de aerosoles infecciosos, organismos de referencia internacionales como la OMS han establecido una serie de medidas destinadas a disminuir los riesgos dentro de los laboratorios de TB, a través de la implementación de medidas de bioseguridad estandarizadas para el trabajo seguro (Tabla 2).

Tabla 2: Principales medidas de control para disminuir los riesgos en los laboratorios de TB.

Medidas de control	Ventajas	Desventajas
Controles de ingeniería	Eficientes, eliminan el peligro.	Costo, complejidad.
Controles administrativos	Enfoque institucional (autoridades, reglamentación).	Enfoque indirecto, abordan fundamentalmente el factor humano.
Prácticas y procedimientos	Basados en PROCET (enfoque normalizado).	Requisitos en materia de formación y supervisión.
EPP	Facilidad de uso, costo relativo.	No eliminan el peligro; si falla, se produce exposición; incómodo, limita la capacidad.

La bioseguridad es fundamental para proteger al personal de un laboratorio y la comunidad de la liberación o exposición accidental de agentes biológicos patógenos. Para su implementación efectiva, es necesario aplicar un enfoque de evaluación de riesgos y la aplicación de una cultura de seguridad. Solo de esta forma se consigue un ambiente de trabajo seguro, donde se aplican medidas adecuadas para minimizar la probabilidad y severidad de las consecuencias asociadas a una posible exposición a agentes infecciosos, que corresponden al peligro principal en un laboratorio clínico.

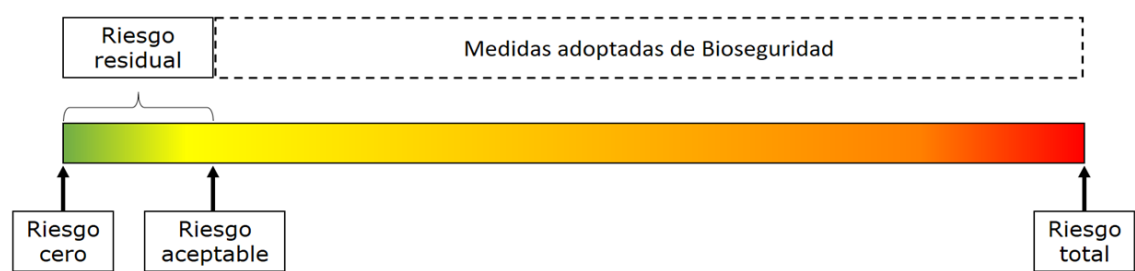
Publicaciones recientes sobre infecciones asociadas a ambientes de laboratorio evidencian que la mayoría ocurre mayoritariamente por factores humanos, en lugar del mal funcionamiento de los controles de ingeniería (Wurtz et al, 2016). Los factores causales de exposiciones a agentes biológicos (potenciales y confirmadas) están relacionados con diversas actividades realizadas en los laboratorios clínicos: mal uso de elementos de protección personal (Barry et al, 1995; Sejvar et al, 2005), evaluación de riesgos inadecuada (Bouza et al, 2005), ausencia de procedimientos operacionales estandarizados (Ergonul et al, 2004), lesiones por objetos cortopunzantes (Hsu et al, 2013, Kortepeter et al, 2008), y la deficiente capacitación del personal del laboratorio (Lim et al, 2004).

Por lo tanto, se puede concluir que el laboratorio mejor diseñado desde la perspectiva de la bioseguridad, es tan efectivo como su integrante menos competente. A pesar de lo anterior, es posible disminuir el riesgo de infección del personal en los laboratorios, si se adoptan las medidas de mitigación adecuadas. Para lograr este objetivo, es necesario identificar el o los peligros presentes y evaluar los riesgos asociados a su manipulación; de esta forma, es posible disminuir el riesgo hasta un nivel aceptable para realizar el trabajo en el laboratorio. Es importante recalcar, que los peligros por sí mismos no presentan un riesgo intrínseco para las personas o animales. Por ejemplo, un frasco que contenga muestras de esputo de un paciente clasificado como caso presuntivo de TB no representa un riesgo para el personal del laboratorio, hasta el momento en que el frasco es manipulado. Por lo tanto, el riesgo asociado al frasco que contiene el esputo dependerá de la actividad realizada y no por las características patogénicas del peligro presente, en este caso bacilos del complejo *M. tuberculosis*.



La Figura 4 representa esquemáticamente el impacto de las medidas de bioseguridad sobre el/los riesgos de un determinado entorno, en este caso, un laboratorio clínico. En el Anexo 1 se encuentra disponible información más detallada sobre el proceso de evaluación de riesgos.

Figura 4: Efecto de las medidas de bioseguridad sobre el riesgo en los laboratorios. El propósito de estas medidas es lograr un riesgo residual que sea considerado como “aceptable” para el laboratorio evaluado.



El objetivo del presente documento es proporcionar a los lectores el marco teórico que justifica la implementación de las diversas medidas de control en bioseguridad, con el propósito de disminuir los riesgos a un nivel aceptable. Se inicia con los requerimientos mínimos de bioseguridad que son transversales para las 3 categorías de riesgo (descritas en la Tabla 1), conformando un código de prácticas básicas que debe ser adoptado por todos los laboratorios de TB. A continuación, se profundiza en otras medidas complementarias, cuya implementación dependerá del tipo de actividad realizada, permitiendo a cada laboratorio en particular gestionar sus riesgos residuales presentes, de acuerdo a su propia evaluación de riesgos.

I.- MEDIDAS MÍNIMAS DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO DE TB.

La bioseguridad tiene tres medidas claves que son necesarias para manejar de manera segura las muestras o cultivos que contienen bacilos de CMTB:

- ✓ Medidas primarias: Prácticas de trabajo seguras para minimizar los derrames y la formación de aerosoles. Equipos utilizados aptos para el propósito previsto y con una correcta mantención. Corresponde a la base sobre la que se sustenta la bioseguridad.
- ✓ Medidas secundarias: Infraestructura y diseño del laboratorio para apoyar las actividades principales.
- ✓ Medidas terciarias: Edificios para contener el laboratorio y sus actividades

Debido a las características particulares que presenta el M. tuberculosis, todos los laboratorios independientemente de los procedimientos que realicen, deben adherir a las conductas y medidas primarias de bioseguridad indispensables para reducir el riesgo al mínimo. Estas conductas son el resultado de evaluaciones de riesgo previas realizadas por múltiples entidades de referencia (entre ellas, la OMS), basadas principalmente en la capacidad de transmisión por vía aérea de los bacilos de CMTB; este factor está asociado a una alta probabilidad de infección y a mayores consecuencias por parte de la persona expuesta. Los agentes biológicos de transmisión aérea tienen la capacidad de permanecer en suspensión en forma de aerosoles por períodos de tiempo prolongados y diseminarse ampliamente en el ambiente, aumentando la probabilidad de que el personal esté expuesto. Además, luego del evento de exposición, los aerosoles infecciosos pueden alcanzar el tracto respiratorio del individuo expuesto, generando una infección asociada al laboratorio. Por lo tanto, para comprender el trasfondo que justifica las medidas adoptadas, es necesario conocer el principal peligro presente en los laboratorios de TB: los aerosoles.



1. AEROSOLES EN EL LABORATORIO DE TB.

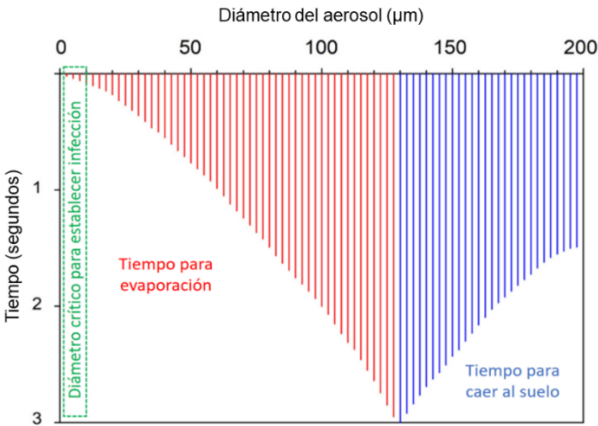
El mayor riesgo de infección de TB en los laboratorios está relacionado con la inhalación de aerosoles y bioaerosoles infecciosos, producidos durante la manipulación de muestras y/o cultivos positivos para CMTB. Por lo tanto, minimizar su producción corresponde a una de las medidas más eficaces para evitar la infección. En el laboratorio de TB, todos los aerosoles deben considerarse como potencialmente infecciosos.

Comprender los riesgos asociados a estos aerosoles, saber cómo se crean y la manera de disminuir su producción, es fundamental para sensibilizar al personal e incorporar de manera consciente las conductas destinadas a proteger de los riesgos presentes. Se pueden identificar 3 factores clave que determinan la infectividad de los aerosoles: **Tamaño, Carga bacilar y Viscosidad de la muestra.**

Tamaño: Los aerosoles son pequeños e invisibles al ojo humano. El tamaño del aerosol determina dos cualidades relevantes al momento de evaluar los riesgos: su capacidad de permanecer en suspensión en el medio ambiente y su capacidad de contener bacilos del CMTB. Cuanto más pequeño es el aerosol, más tiempo es capaz de permanecer en el aire; estudios han demostrado que el tiempo en suspensión en el ambiente de los aerosoles es inversamente proporcional a su diámetro, además, la evaporación del agua contenida en los aerosoles provoca la disminución de su tamaño, por lo que los aerosoles de mayor tamaño podrían evaporarse hasta alcanzar diámetros pequeños que favorezcan su permanencia en el medio ambiente (Rieder et al, 2021), experimentos en aire no saturado han demostrado que los aerosoles menores a 130 µm se evaporan antes de caer al suelo (Figura 5), sin embargo, en ambientes naturales con presencia variable de saturación, su permanencia puede ser mayor a 1 hora.

Se ha descrito un rango de diámetro crítico de aerosoles entre 1 a 5 µm que tienen la capacidad de penetrar hasta los alvéolos en el tracto respiratorio de las personas (Roy et al 2004). Los aerosoles incluidos en este rango crítico se conocen como bioaerosoles (Wurie et al 2016), tienen la capacidad de transportar hasta 3 bacilos tuberculosos. Estas propiedades físicas son determinantes para la transmisión por la vía aérea de la TB, siendo ésta la principal fuente de transmisión de CMTB (Rieder et al 1999). Los procedimientos de laboratorio que involucran manipular las muestras o cultivos positivos, fácilmente producen aerosoles y bioaerosoles.

Figura 5: Tiempo de caída y evaporación de aerosoles de acuerdo a su diámetro en un ambiente de aire no saturado. Las barras de color azul representan los aerosoles de mayor tamaño que caen al suelo antes de su evaporación total. Los aerosoles menores a 130 µm se evaporan antes de caer al suelo (barras de color rojo). En la línea punteada verde se destaca el rango de diámetro crítico que tiene la capacidad de alcanzar los alvéolos de una persona susceptible.



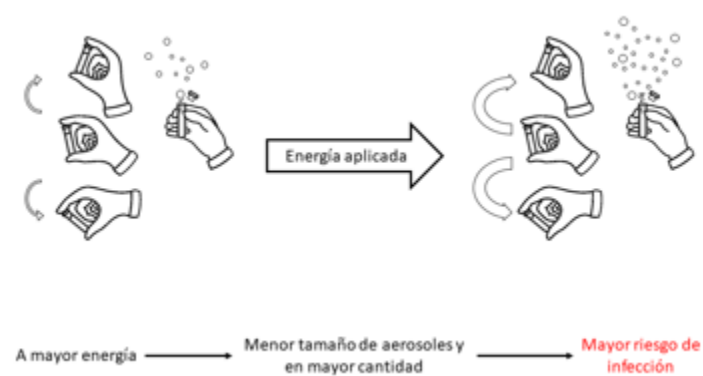
Adaptado de Rieder, H. L. (1999). *Epidemiologic basis of tuberculosis control*. International Union Against Tuberculosis and Lung Disease.

Carga bacilar: La cantidad de bacilos en el material manipulado es variable. Por ejemplo, para muestras clínicas de esputo con baciloscopia positiva, la carga bacilar puede variar entre 0 a 1×10^6 microorganismos/mL, para baciloscopias negativas y positivas de alta carga, respectivamente. Por otra parte, los cultivos positivos pueden tener una carga bacilar mucho mayor, entre un rango de 1×10^8 a 1×10^{10} microorganismos/mL. Se puede concluir que, desde el punto de vista de la carga bacilar, los cultivos positivos presentan un mayor riesgo de infección al ser manipulados.

Viscosidad: La viscosidad del material manipulado afectará su capacidad para formar aerosoles, es decir, mientras más fluido es el material, mayor es la capacidad para generar aerosoles. Las muestras de esputo presentan, por lo general, una viscosidad mayor, por lo que la probabilidad de generar una gran cantidad de aerosoles al manipularlas es menor. Por el contrario, los cultivos en medio líquido son más fluidos, por lo que su manipulación genera grandes cantidades de aerosoles, aumentando el riesgo de infección.

La generación de aerosoles y bioaerosoles se produce al aplicar energía a una muestra o cultivo en medio líquido. Existe una relación directa entre la energía aplicada y el aumento del riesgo de infección, tal como se explica en la figura 6.

Figura 6: Generación de aerosoles y bioaerosoles. El tamaño y la cantidad de aerosoles generados depende de la energía aplicada durante la actividad realizada.



Por lo tanto, cualquier manipulación de muestras y/o cultivos tienen el potencial de formar aerosoles. Estas actividades incluyen la agitación manual y con vórtex, centrifugación, trasvasije, uso de pipetas, entre otros. En conclusión, el riesgo de infección durante el desarrollo de las técnicas bacteriológicas para el diagnóstico de TB, depende de la actividad realizada y la capacitación del personal para minimizar la producción de aerosoles.

Cabe destacar que, en casos excepcionales, se ha descrito la transmisión por la vía de inoculación cutánea (Sehgal, 1994). Una vez que los aerosoles se asientan sobre una superficie, no tienen la capacidad de volver a su estado de aerosol, por lo que no se consideran infecciosos. Sin embargo, pueden contaminar muestras clínicas, equipos, material de laboratorio y reactivos, creando un riesgo de contaminación cruzada.

Alrededor del 20% de las infecciones adquiridas en el laboratorio tienen una causa manifiesta; el 80% restante se deben principalmente a la producción de aerosoles creados por prácticas inseguras. El personal técnico debe desarrollar sus habilidades en un aspecto esencial, que es, lograr minimizar



en forma permanente la producción de aerosoles, en todos los procesos del laboratorio con especial énfasis en cultivos y pruebas de susceptibilidad de TB.

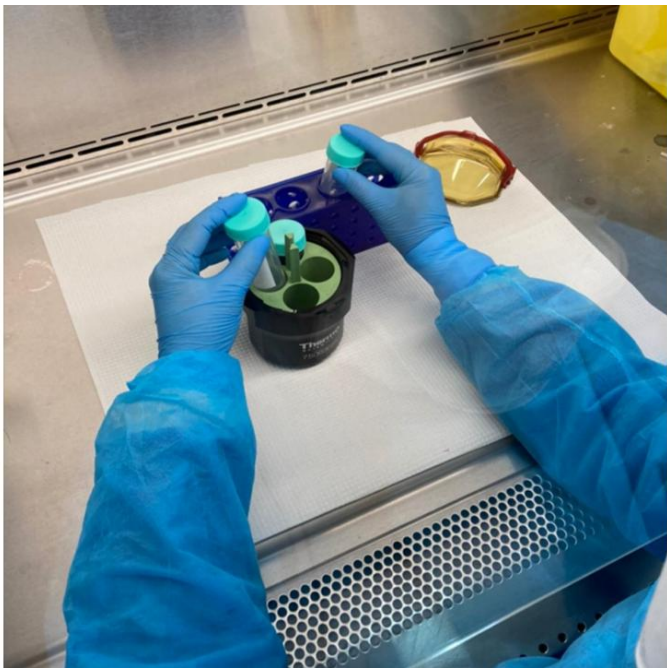
Minimizar la producción de aerosoles es vital para el bienestar del personal del laboratorio que realiza las técnicas y sus compañeros de trabajo. También protege al paciente de resultados de laboratorio falsos positivos que ocurren cuando los aerosoles contaminan otras muestras clínicas, cultivos o reactivos y material de laboratorio.

¿Cómo minimizar la producción de aerosoles?

Para minimizar la producción de aerosoles, se deben implementar conductas de protección biológica (o contención) por parte del personal del laboratorio, destinadas a brindar certeza de realizar cada procedimiento de manera segura. En general, estas medidas de contención apuntan a minimizar la producción de aerosoles.

Por ejemplo, los **recipientes** utilizados deben tener una tapa a prueba de fugas y ser lo suficientemente fuertes para resistir las fuerzas mecánicas ejercidas sobre él, por ejemplo, al utilizar un vórtex o una centrífuga se debe tener la precaución de **mantener los recipientes cerrados luego de una agitación** manual o por vórtex, no abrirlos hasta luego de 10 minutos para las muestras clínicas y al menos por 15 minutos para los cultivos o suspensiones de microorganismos. Para centrifugar muestras o cultivos, se requiere del **uso de contenedores de seguridad con tapas**. Posterior a la agitación, ya sea con vórtex, manual o centrífuga, **siempre se deben abrir los recipientes o contenedores de seguridad en el interior de una CSB**, tal como se muestra en la Figura 7.

Figura 7. Manipulación de contenedores de seguridad en el interior de una CSB.

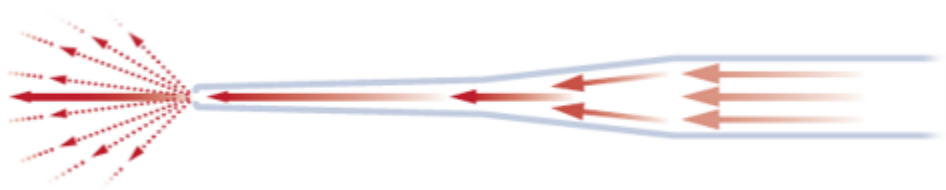


LAS CENTRIFUGAS CON CUBETAS DE SEGURIDAD SIN TAPA NO SE PUEDEN USAR EN EL LABORATORIO DE TB.

El uso de pipetas (serológicas o Pasteur) o micropipetas crea un alto riesgo de producción de aerosoles (Figura 8).

Figura 8: Esquema de generación de aerosoles por uso de pipetas.





A continuación, en las Figuras 9 y 10 se presentan los distintos tipos de equipos para medición y trasvasije de líquidos que se utilizan en el laboratorio de TB.

Figura 9: Estructura básica de una pipeta desechable

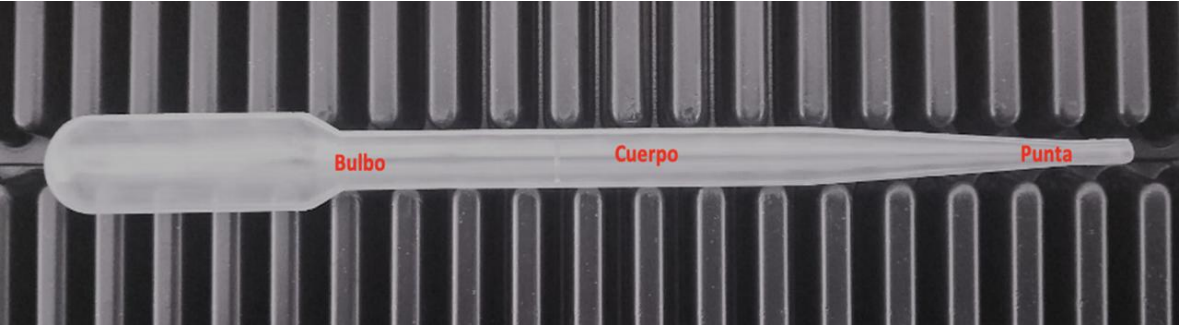
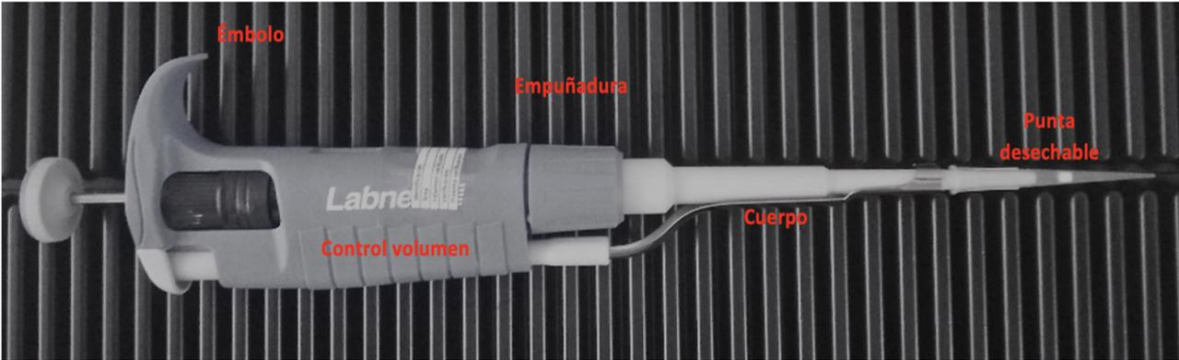


Figura 10. Partes del cuerpo de una micropipeta.



TANTO LAS PIPETAS PLÁSTICAS COMO LAS MICROPIPETAS CON ÉMBOLO, UTILIZAN LA PRESIÓN DE AIRE PARA MOVER EL FLUIDO DESDE LA PUNTA, A TRAVÉS DEL BARRIL, Y FINALMENTE HASTA UNA CÁMARA DE ALMACENAMIENTO MÁS GRANDE, ESTO PUEDE ACELERAR LA VELOCIDAD DEL FLUIDO Y CREAR AEROSOL.

Para minimizar la creación de aerosoles durante el uso de pipetas se recomienda:

- Expulsar lentamente el líquido de la pipeta.
- Dirigir líquido hacia abajo por la pared interior del contenedor.
- Asegurarse de que la punta de la pipeta esté siempre por encima del menisco del líquido.

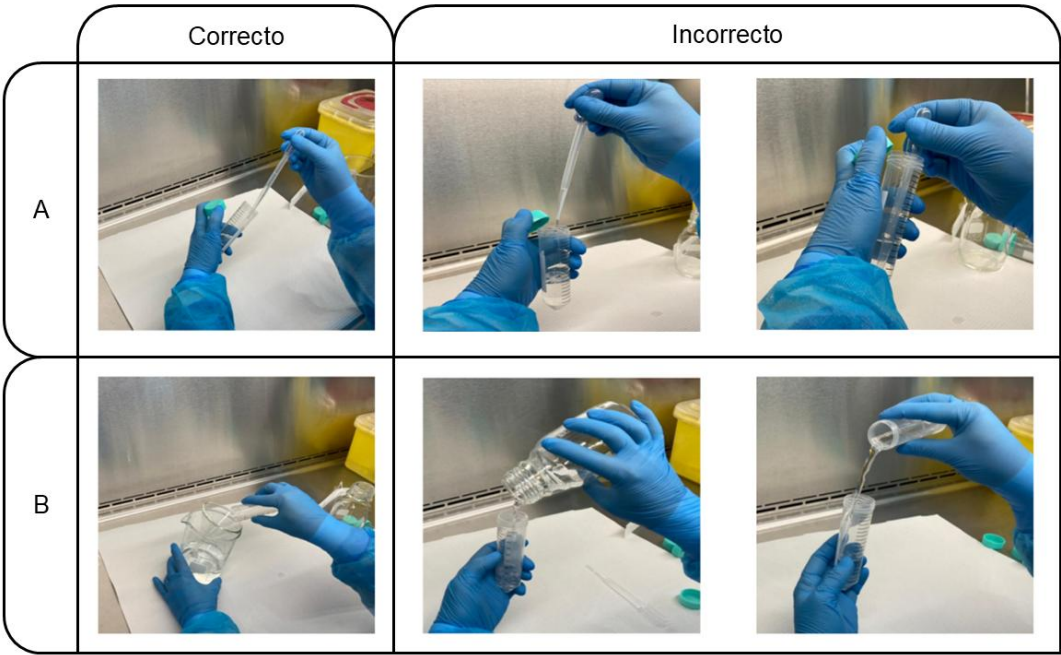
El traspaso de muestras o cultivos positivos siempre formará aerosoles, por lo que nunca se debe verter una solución directamente sobre otra, recordar que **siempre que se formen burbujas, se están generando aerosoles**. Para disminuir el riesgo, siempre se debe verter el líquido de un recipiente a otro haciendo correr el líquido por la pared interior del recipiente. Lo mismo se aplica cuando se utiliza una pipeta para transferir líquido de un recipiente a otro. En la Figura 11 se muestran algunas de las actividades riesgosas que generan aerosoles.

Figura 11: Traspaso de líquidos con potencial de generar aerosoles infecciosos



A) La forma correcta implica el traspaso del líquido por sobre el menisco y en contacto con la cara interna del tubo; es incorrecto expulsar el líquido por sobre la superficie del líquido o en su interior (sumergido).

B) Para el traspaso de volúmenes mayores de líquidos, es correcto usar un embudo para aumentar el área de contacto de la pared interior; es incorrecto expulsar el líquido directamente sobre la superficie del líquido.



En resumen, entender cómo se crean los aerosoles es el primer paso para minimizar su producción. La mayoría de los aerosoles son invisibles y frecuentemente el personal del laboratorio los produce sin darse cuenta.

De acuerdo con la evaluación de riesgo particular de cada laboratorio, se pueden modificar o adicionar las medidas que a continuación se describen:

2. BUENAS PRÁCTICAS.

Se definen como las prácticas y procedimientos indispensables a realizar con el fin de reducir al mínimo los riesgos en los laboratorios de TB. Primero se deben identificar los peligros conocidos y potenciales, luego se definen las prácticas y procedimientos adecuados asociados a dichos peligros, permitiendo así realizar las técnicas bacteriológicas de manera correcta y segura. Los laboratorios que manipulan muestras o cultivos que contienen *M. tuberculosis*, deben como mínimo desarrollar en sus códigos de prácticas los siguientes puntos:

a) Acceso al laboratorio

El ingreso al laboratorio debe estar limitado solo al personal autorizado con alguna barrera física, tales como picaportes o cierres magnéticos. Se debe incluir en la entrada al área técnica el símbolo internacional de peligro biológico e indicar el nombre y teléfono de contacto de la persona a cargo del laboratorio, esta información también es necesaria por la biocustodia en los laboratorios de TB.

b) Equipamiento o elementos de protección personal (EPP)

Es importante que se cuente con EPP en distintas tallas y disponibles para su uso en el área técnica. El personal debe vestir los EPP mientras trabaja en el laboratorio y utilizarlo sólo en el área de



trabajo. La ropa de laboratorio sucia debe almacenarse en una zona distinta a la destinada a la ropa limpia y al vestuario personal.

El uso de guantes es obligatorio al realizar tareas que requieran manipulación de frascos con muestras (esputos, sangre, líquidos corporales u otro material potencialmente infeccioso) y cultivos en medio líquido o sólido.

Para mayor detalle sobre los EPP necesarios para el trabajo seguro en los laboratorios de TB, revisar lo descrito en el capítulo III del presente manual.

c) **Procedimientos**

Muchos de los procedimientos realizados en los laboratorios de TB involucran la realización de actividades que tienen el potencial de generar aerosoles infecciosos (Tabla 3). Es importante que el personal los identifique y esté capacitado para la correcta ejecución de las técnicas microbiológicas, con el objetivo de reducir al mínimo la producción de aerosoles.

Tabla 3. Descripción de actividades que generan aerosoles de acuerdo al tipo de Laboratorio de TB clasificado según el riesgo de sus pruebas.

Tipo de Laboratorio	Actividades que generan aerosoles
Riesgo Bajo (Realizan baciloscopias y pruebas moleculares de muestra directa)	✓ Apertura de envases que contienen muestras. ✓ Preparación del extendido. ✓ Uso de vórtex. ✓ Trasvase de muestras. ✓ Rotura de envases.
Riesgo Moderado (Realizan baciloscopias, pruebas moleculares de muestra directa y cultivos)	Todas las anteriormente descritas, más las que se indican a continuación: ✓ Uso de centrifugas. ✓ Destape de tubos recién agitados o centrifugados. ✓ Maceración de tejidos. ✓ Siembra de muestras. ✓ Ejecución de frotis de colonias. ✓ Rotura de tubos con desarrollo de colonias. ✓ Centrifugación de las muestras. ✓ Eliminación de sobrenadante.

Todos los accidentes, derrames y potenciales eventos que pudieran significar una exposición a M. tuberculosis, deben ser comunicados al jefe del laboratorio y/o al encargado de bioseguridad. Debe existir un registro de incidentes, en el que se detalle los eventos ocurridos, además de actas de mejora donde se indique las medidas correctivas inmediatas y a largo plazo adoptadas por el laboratorio. Con esta información se decide qué medidas preventivas adoptar, las que deben incluir la elaboración de un procedimiento para estandarizar las acciones a realizar frente a derrames y difundir esta información a todo el personal del laboratorio. Por último, se debe planificar realizar una capacitación práctica del procedimiento, realizando una simulación de exposición accidental a M. tuberculosis por lo menos una vez al año a todo el personal del laboratorio.

La documentación debe situarse lejos del área de procesamiento de muestras, para ser retirada al momento que se requiera.



d) Zonas de trabajo

Se deben identificar en los laboratorios de TB zonas “funcionalmente limpias” y “potencialmente contaminadas”, de acuerdo a la ausencia o presencia de material infeccioso, respectivamente. La zona “limpia” incluye el área administrativa, lectura de baciloscopias y preparación de reactivos y materiales; la zona “potencialmente contaminada” contiene el área de procesamiento y almacenamiento de muestras. Ambas zonas deben estar físicamente separadas.

e) Otras conductas seguras en el laboratorio

A continuación, se indican conductas mínimas de seguridad para el trabajo en el laboratorio, adicionales a las indicadas en los puntos anteriores.

- *Lavado de manos: El personal debe lavarse las manos después de cualquier exposición a material infeccioso (incidente de contaminación, manipulación de muestras o cultivos, realización de procedimientos microbiológicos y siempre al retirarse los guantes), y siempre antes de abandonar las áreas técnicas del laboratorio. El lavado de manos debe ser prolijo, frotándose las manos durante al menos 15 segundos con agua y jabón, luego enjuagarlas en agua limpia y secarlas con una toalla limpia de papel desechable. Se recomiendan llaves de agua automáticas o las que no requieran el uso directo de las manos; de no contar con ellos, se utilizará una toalla de papel para cerrar el grifo (para más detalle, ver Figura 35).*
- *El cabello largo debe amarrarse para evitar accidentes y contaminación.*
- *No está recomendado el uso de joyas y relojes de pulsera en el laboratorio.*
- *Está prohibido comer, beber, fumar, utilizar cosméticos dentro del laboratorio y manipular lentes de contacto en el interior de los laboratorios.*
- *Está prohibido almacenar alimentos en el laboratorio.*
- *No está recomendado el uso de teléfonos celulares o cualquier otro dispositivo electrónico de uso personal en las áreas de procedimientos técnicos.*

3. PREVENCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN CON MATERIAL INFECCIOSO.

Los incidentes de contaminación de laboratorio pueden ser peligrosos para el personal, para la credibilidad del laboratorio, y potencialmente para el paciente.

Las buenas prácticas de trabajo reducen el riesgo de contaminación. Además, la observación regular de las prácticas de trabajo por parte de los supervisores de laboratorio permitirá corregir prácticas inseguras. La contaminación puede ser causada por prácticas laborales inseguras que favorecen los siguientes escenarios:

- *Generación de aerosoles desde los materiales (muestras clínicas, cultivos o inóculos), que contaminan otras muestras, cultivos o reactivos. También tiene como consecuencia un aumento en el riesgo de infección para el personal del laboratorio.*
- *Microorganismos ambientales tales como bacterias, hongos o micobacterias no tuberculosas ingresen a los materiales de laboratorio o reactivos, o ensucien superficies de equipos, o contaminen elementos de protección personal. Conlleva a errores en los procesos técnicos que traen costos para el laboratorio y consecuencias negativas en la oportunidad diagnóstica para los usuarios del sistema de salud.*

Los aerosoles se producen más fácilmente a partir de fluidos menos viscosos, el esputo suele ser viscoso y más difícil de generar aerosoles; en cambio, los cultivos líquidos son fluidos y, por lo tanto, generan aerosoles más fácilmente. Estos aerosoles se pueden generar al agitar con vórtex o de manera manual, por centrifugación, homogenización o pipeteo.



Por otra parte, la carga bacilar es el número de bacilos en una muestra o cultivo, y es clasificado generalmente como carga baja, media o alta. Volúmenes muy pequeños de cultivos positivos pueden contener un gran número de bacilos.

La contaminación cruzada se define como cualquier evento no planificado que transfiera bacilos de un elemento a otro, lo que aumenta riesgos de exposición a agentes infecciosos. Por ejemplo, los bacilos de una muestra o cultivo se transfieren a un reactivo, los aerosoles de una muestra o cultivo positivo se transfieren a otro, o salpicaduras con material infeccioso en guantes contaminados pueden ser transferidos a otro material de laboratorio como lápices, documentos o temporizadores. Para evitar episodios de contaminación con material infeccioso u otros microorganismos, se recomienda seguir las siguientes prácticas en los escenarios descritos a continuación:

i. Manejo de contenedores primarios.

Algunas áreas de un contenedor primario nunca deben tocarse, como su interior o su tapa, o lugares menos obvios, como el área de la rosca del tubo o contenedor primario.

Durante la recolección de muestras clínicas es posible que el exterior del área rosca y la superficie del tubo externo se contaminen con esputo, por lo que al ajustar o remover la tapa se podría esparcir la muestra. Esta situación resulta más riesgosa cuando se trabaja con cultivos positivos, especialmente cultivos líquidos. Se sugiere mantener las manos lejos de la rosca al manipular cualquier recipiente, incluidos los tubos de centrifuga y de cultivo, sostener el recipiente en el medio, bien alejado del área del hilo o boca del recipiente, y siempre utilizar guantes de la talla apropiada para quien manipula los contenedores.

Al verter el contenido de un recipiente a otro, siempre se debe verificar que coincidan las etiquetas del contenedor primario y el frasco que recibirá la muestra.

Al retirar una tapa de un recipiente o tubo, nunca coloque la tapa hacia abajo. La rosca o el borde del contenedor podrían estar contaminados y transferir una porción de muestra o cultivo al área de trabajo.

ii. Manejo de pipetas y micropipetas

Se debe usar pipetas desechables de plástico de un solo uso. Las pipetas desechables de plástico pueden embalsarse individualmente o en bolsas. No se recomiendan las pipetas Pasteur de vidrio, ya que se rompen fácilmente creando bordes afilados y requieren un contenedor separado que puede ser fuente de contaminación cruzada.

Las micropipetas son un instrumento de precisión para recolectar y dispensar líquidos utilizando puntas de plástico estériles desechables. Deben usarse sólo en soluciones no viscosas. La forma y el tamaño de la punta desechable dependen del volumen recolectado, la forma y el tamaño del recipiente que contiene el líquido.

Nunca toque la punta de una pipeta o micropipeta, si sucede deseche inmediatamente. Sostener una pipeta correctamente es vital para garantizar que el líquido se entregue de manera segura a otro tubo o contenedor. Sostenga la pipeta con el pulgar y el índice, usando el dedo medio para guiar la colocación.



Para inocular los medios sólidos o líquidos con muestras clínicas descontaminadas use una pipeta de plástico estéril graduada, ya que la abertura de la punta es mucho más grande y permitirá que pase el contenido. Las micropipetas no deben usarse para esta actividad, ya que es probable que se obstruya la punta al dispensar, creando el riesgo de salpicaduras dentro de la CSB.

Las puntas con filtro proporcionan una protección efectiva contra la contaminación de las micropipetas, evitan que los aerosoles o líquidos que contienen microorganismos ingresen al mecanismo interno del cuerpo.

Asegúrese siempre de que la punta esté dispuesta en el interior del tubo y sobre el menisco, antes de liberar el contenido. Nunca introduzca el cuerpo en el interior del contenedor (Figuras 12 y 13).

Figura 12. Introducir solo la punta desechable en el contenedor.

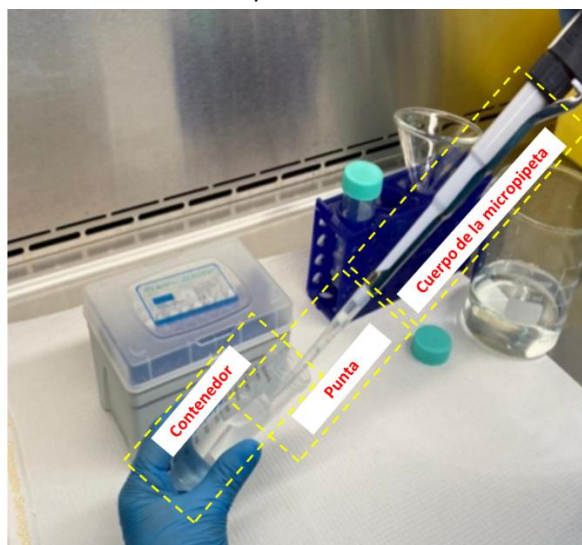
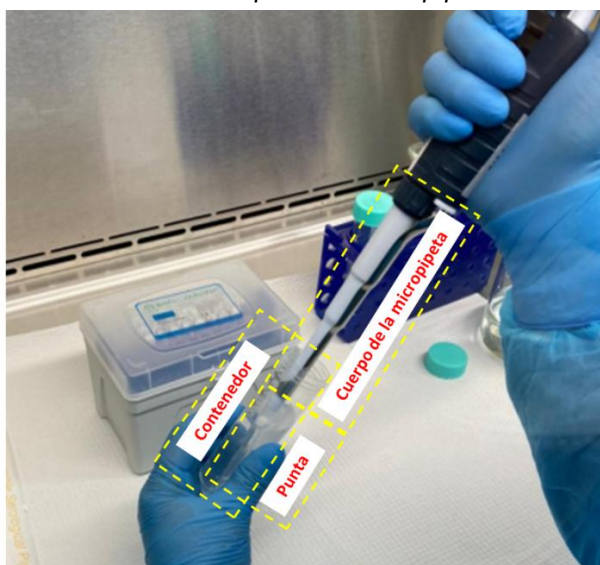


Figura 13. No insertar el cuerpo de la micropipeta en el contenedor.



iii. Contaminación cruzada de cultivos de Micobacterias.

Tal como se mencionó anteriormente, la contaminación cruzada aumenta los riesgos de exposición en el laboratorio, además de afectar negativamente el resultado de las pruebas diagnósticas. La contaminación cruzada por pipetas o micropipetas puede ocurrir de tres maneras:

- De la pipeta/punta a la muestra.

El uso de una pipeta o punta de micropipeta contaminada puede provocar la contaminación de una muestra, cultivo o inóculo. Esta situación se evita:



- ✓ Usando pipetas y puntas de micropipetas estériles.
- ✓ Sosteniendo la pipeta correctamente
- ✓ Asegurar el uso individual de cada pipeta o punta de micropipeta para cada muestra.
 - De la muestra a la pipeta o micropipeta.

La muestra, el inóculo o los aerosoles pueden ingresar a los componentes internos de la micropipeta o al interior del bulbo de una pipeta. El uso de pipetas o puntas con filtros evita que líquidos o aerosoles contaminen el interior de la pipeta o micropipeta.

- De muestra a muestra (contaminación por arrastre)

Este tipo de contaminación ocurre al dispensar la muestra o el inóculo durante una prueba de susceptibilidad. La transferencia se produce cuando parte de la muestra o inóculo permanece adherida en el interior de la pipeta/punta en forma de gota y la misma pipeta/punta se utiliza para inocular otra muestra o inóculo.

La contaminación por arrastre se evita reemplazando la pipeta / punta después de ser usada en el trasvase de cualquier muestra o líquido que sea potencialmente no-estéril.

4. DISEÑO E INSTALACIONES DEL LABORATORIO DE TB.

El correcto diseño de la planta física contribuye a la protección del personal de laboratorio y actúa como barrera física con la comunidad externa frente a los aerosoles infecciosos generados en el laboratorio. La estructura del laboratorio, el cómo se asigna los espacios funcionales y su relación entre sí, tiene un impacto fundamental en los flujos de trabajo y seguridad.

LA SEPARACIÓN DE LAS DISTINTAS ÁREAS Y EL SISTEMA DE VENTILACIÓN DEL LABORATORIO SON MEDIDAS DE CONTENCIÓN SECUNDARIA.

Se ha observado una evolución de los manuales de bioseguridad en la última década, dirigida hacia el riesgo asociado a la actividad en particular. Anteriormente, a un microorganismo se le asignaba un grupo de riesgo basado en virulencia, transmisibilidad, y la disponibilidad de tratamientos. El nivel de contención de un grupo de riesgo no tomaba en cuenta los procedimientos bacteriológicos que se realizan o sus riesgos inherentes.

El Manual de Bioseguridad del Laboratorio de Tuberculosis de la OMS (2020) incorpora un enfoque de evaluación de riesgos que consideró los procedimientos que se realizan en el laboratorio, considerando que un diseño de laboratorio seguro y eficiente se complementa con la infraestructura mediante la separación de actividades de bajo riesgo ('limpias') de las actividades de alto riesgo ('sucias') y optimización del movimiento del personal dentro del laboratorio.

a) Actividad y riesgo

Las actividades de laboratorio de TB se evalúan de acuerdo con el riesgo de generar aerosoles y la carga bacilar, tal como se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4. Niveles de riesgo de los laboratorios de tuberculosis.

Nivel de riesgo	Actividades de laboratorio	Evaluación de riesgo
Riesgo bajo	Microscopía directa de esputo; preparación de muestras clínicas para PCR.	Bajo riesgo de generar aerosoles infecciosos con muestras clínicas; bajo concentración de partículas infecciosas.



Riesgo moderado	<i>Procesamiento y concentración de muestras clínicas para la inoculación en medios de cultivo; prueba molecular directa en esputo por LPA.</i>	<i>Riesgo moderado de generar aerosoles infecciosos de muestras clínicas; baja concentración de partículas infecciosas.</i>
Alto riesgo	<i>Manipulación cultivos, para identificación y susceptibilidad fenotípica, pruebas de susceptibilidad por LPA a partir de cultivos.</i>	<i>Alto riesgo de generar aerosoles infecciosos de cultivos; alta concentración de partículas infecciosas.</i>

Adaptado de Manual de Seguridad en el Laboratorio. Edición Mundial. Washington, 2022.

b) Infraestructura y principios rectores

Los laboratorios que realicen cultivo de TB y pruebas de susceptibilidad requieren un espacio y equipo de laboratorio exclusivo, es decir, no deben incluir otros servicios de diagnóstico de rutina. En cambio, en laboratorios donde solo se realizan actividades de bajo riesgo (microscopía y PCR en tiempo real) el equipamiento puede ser compartido con otras actividades del laboratorio general, idealmente con horarios diferidos. 'Limpio' y 'sucio' son términos relativos dentro de un laboratorio de cultivo de TB. Se define como 'Limpio' (bajo riesgo) cuando es menos probable que el área o elemento contenga o esté contaminado con bacilos u otros agentes infecciosos. Y 'Sucio' (alto riesgo) significa que es más probable que contenga o esté contaminado con bacilos u otros agentes infecciosos.

i. Nivel de riesgo y actividades técnicas en el laboratorio.

El área de entrada debe reservarse para actividades 'limpias'. Las actividades "sucias" deberían estar más lejos de la entrada. Las actividades de bajo riesgo incluyen:

- Administrativas, estación de lavado de manos, microscopía, PCR, almacenamiento de material de laboratorio y de reactivos, tinción.*

Las actividades de riesgo moderado incluyen:

- Procesamiento de cultivos e inoculación de medios.*

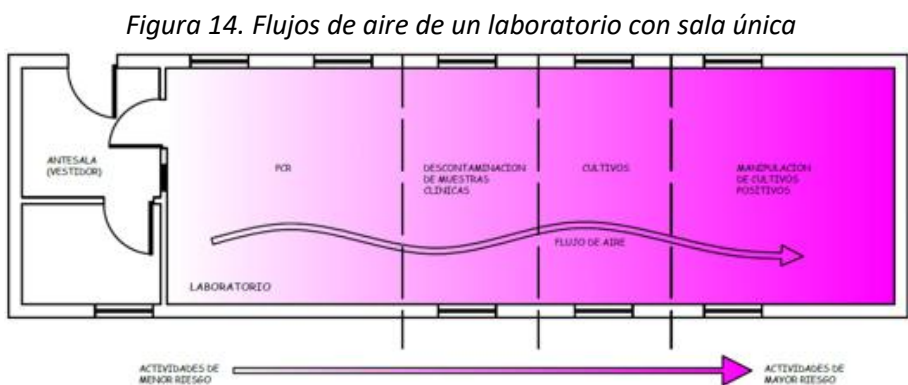
Las actividades de alto riesgo incluyen:

- Manejo de cultivos positivos, identificación de CMTB, pruebas de susceptibilidad, preparación de ADN y extractos de cultivos positivos.*

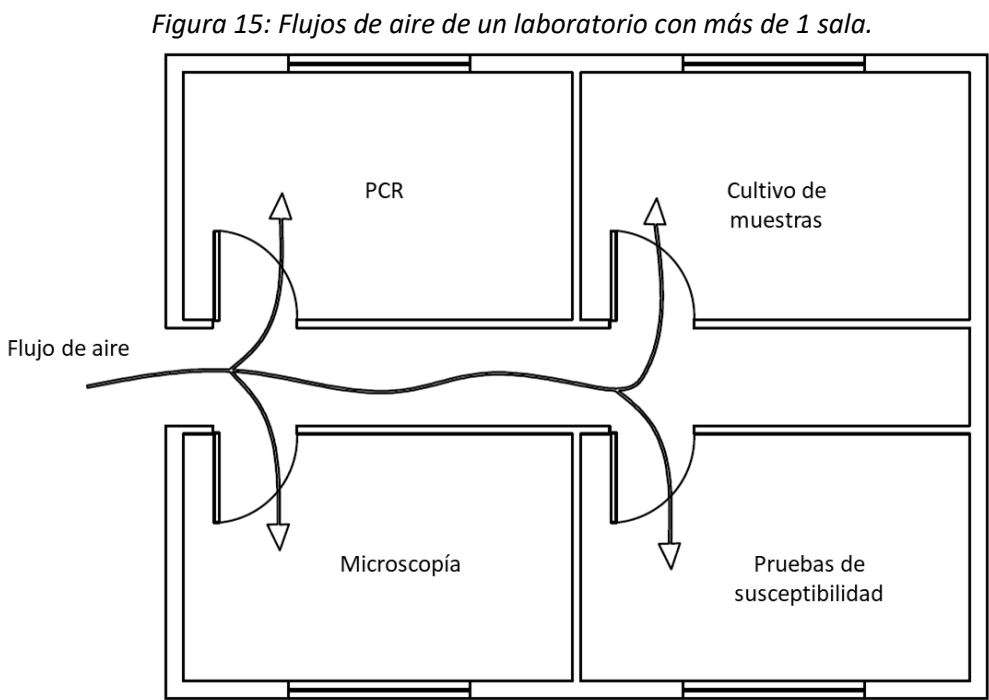
ii. Movimiento del flujo de aire

El flujo de aire direccional ayuda a reducir el riesgo y se genera empleando un gradiente de presión negativa. El aire debe fluir desde la entrada, donde tienen lugar actividades de bajo riesgo, hasta el final del laboratorio donde ocurren las actividades de mayor riesgo (Figura 14). El aire debe ser eliminado hacia el exterior del edificio, asegurando su evacuación lejos de la circulación de personas y de tomas de aire. El sistema de tratamiento de aire también debe tener la capacidad de intercambiar el volumen de aire en un laboratorio entre 6 a 12 veces cada hora (cambios de aire/hora = CAH). Para laboratorios con salas separadas para actividades específicas, se aplican los mismos principios. El punto de entrada tiene el menor nivel de riesgo que aumenta a medida que avanza en la sala. En un laboratorio de varias habitaciones, el aire fluye de las áreas 'limpias' a las 'sucias' dentro de cada habitación, por lo que la organización de las técnicas bacteriológicas que realizan en el laboratorio deben ser concordantes con el incremento del riesgo asociado (Figura 15).





Adaptado del “Manual de Seguridad en el Laboratorio” OPS, Gli 2022.



Nota: Por simplicidad, no se esquematizan las esclusas que comunican las distintas salas ni la inyección/extracción de aire del sistema de ventilación. Adaptado del “Manual de Seguridad en el Laboratorio” OPS, Gli 2022

c) **Diseño del laboratorio**

El diseño del laboratorio tiene tres partes; arquitectura, ingeniería y equipamiento. La arquitectura e ingeniería del laboratorio, cómo asignamos los espacios funcionales y sus relaciones entre sí, tiene un impacto fundamental en los flujos de trabajo y la seguridad de las personas. El equipamiento se trata de forma particular en el capítulo II Equipos de seguridad.

Para los laboratorios que realizan cultivo de TB, algunos requisitos estructurales podrían ser opcionales. Sin embargo, estos requisitos adquieren mayor relevancia (altamente recomendables) para laboratorios de cultivo de TB con una mayor proporción de muestras clínicas de pacientes con TB resistente a fármacos antituberculosos o laboratorios con alta demanda de muestras clínicas, es decir, depende de una evaluación de riesgos que incluya la epidemiología local.

Antesala /Vestidor.

Esta área es el primer punto de entrada al laboratorio y está recomendada para los laboratorios de riesgo moderado y alto de generación de aerosoles infecciosos, en esta zona el personal debe portar

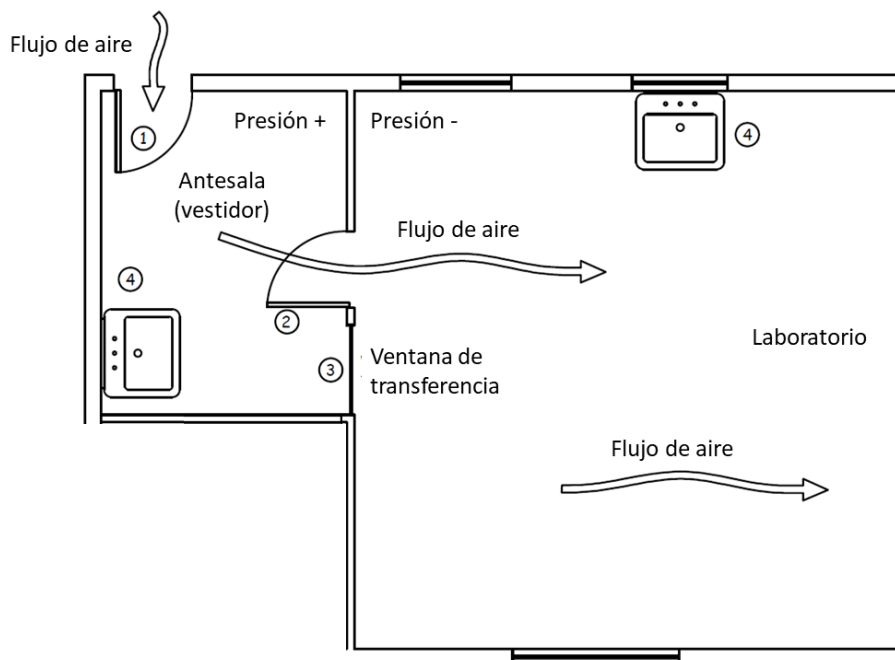


o remover los EPP de uso exclusivo de la sala de procedimientos técnicos. Sus principales consideraciones se describen a continuación y se visualizan en la Figura 16:

- Puede conectar el espacio público a la sala de procedimientos técnicos.
- Presión positiva respecto a la sala de procedimientos
- Puede incluir una estación de lavado de manos.

Figura 16. Antesala de laboratorio.

1 y 2: Puertas de entrada/salida a antesala. 3: Ventana de transferencia. 4: Lavamanos. El flujo de la ventilación se genera creando una gradiente de presión, donde el laboratorio debe mantener valores negativos respecto a la antesala.



Adaptado del "Manual de Seguridad en el Laboratorio" OPS, Gli 2022.

La sala de procedimientos técnicos debe contar con un espacio de trabajo amplio que asegure condiciones de seguridad y que facilite la limpieza y mantenimiento. Es recomendable diseñar los espacios teniendo en cuenta futuras ampliaciones de las áreas de trabajo, y adquisición de nuevo equipamiento.

Los pisos, paredes y juntas estructurales deben ser lisos, fáciles de limpiar, no porosos para líquidos, y resistente a productos químicos y desinfectantes utilizados en el laboratorio cumpliendo con las siguientes características:

- Los pisos con antideslizantes y tratamiento de ángulos entrantes y salientes continuos a la pared.
- Las juntas estructurales deben ser minimizadas.
- Los materiales adecuados incluyen, entre otros, láminas de vinilo y pintura epóxica.

Los mesones deben ser lo suficientemente fuertes como para soportar equipos, lisos, fáciles de limpiar, no porosos, y ser resistente a los productos químicos y desinfectantes utilizados en el laboratorio y deben cumplir con las siguientes características como mínimo:

- Marco de soporte fuerte.
- Los materiales de mesones preferidos incluyen materiales a base de resina, fibra de vidrio/epóxica, núcleo de madera sellado y cubierto con un laminado no poroso.
- Superficies de madera pintadas no están recomendadas.



- La altura del mesón debe variar según la actividad laboral.
- Mesón de trabajo general $\approx$ 900mm
- Mesón de microscopía $\approx$ 720 mm
- Las áreas bajo el mesón deben ser accesibles para facilitar la limpieza.
- El almacenamiento debajo del banco debe minimizarse.
- Los mesones con borde redondeado para reducir lesiones.

El área de recepción de muestras o el espacio destinado para ello, debe ser exclusivo para dicha actividad, permitiendo acondicionar las muestras sin riesgo de derrame.

La iluminación adecuada para los ambientes de laboratorio oscila entre LUX 500-700 de acuerdo con el Decreto Supremo N° 594 "Reglamento sobre Condiciones Sanitarias y Ambientales Básicas en los Lugares de Trabajo".

Se debe tener en consideración disponer de espacio suficiente para almacenamiento de material de uso inmediato y a largo plazo. El laboratorio debe poseer un área para la preparación, manipulación y almacenamiento en condiciones de seguridad de ácidos, tinciones y solventes.

Es preferible que las puertas de laboratorio cuenten con un cristal para observar hacia el interior y que cumplan con la normativa de incendios (cierre automático con brazos hidráulicos). Los laboratorios requieren un suministro estable, confiable y adecuado de electricidad y agua (servicios públicos). Debe disponer un lavamanos y jabón líquido cerca de las salidas. Contemplar también la instalación de un dispensador de toallas de papel.

Incluir las necesidades de energía de emergencia para mantener los sistemas de manejo de aire (direccional flujos de aire, aire acondicionado), iluminación, y equipamiento clave (CSB, GeneXpert®, refrigeradores) cuando falla el suministro de electricidad. Debe existir un lugar fuera de las zonas de trabajo, para guardar ropa de calle y objetos personales. Se debe disponer de espacios para comer y descansar fuera de las zonas de trabajo. Esto tiene por objetivo evitar el estrés generado por el trabajo en los laboratorios de TB, aportando a la realización de un trabajo más eficiente y consciente por parte del personal.

Por último, el laboratorio debe contar con vías de evacuación en caso de emergencias. En resumen, un laboratorio funcional de TB no se construye al azar, requiere la colaboración de personas que aporten conocimientos especializados para ayudar a determinar las dificultades y a desarrollar una estrategia a través del diseño, la construcción y la estructura. Los aportes del personal del laboratorio y de los especialistas en TB, son vitales para ayudar a crear un laboratorio funcional y un entorno de trabajo seguro.

5. LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE LABORATORIOS.

a) Limpieza de pisos del laboratorio.

Se debe asear diariamente los pisos del laboratorio, utilizando el procedimiento descrito a continuación:

- Preparar un balde con solución detergente neutra y otro con agua limpia (2 baldes en total).
- Impregnar un paño con solución detergente neutra y fregar 4 a 5 veces por tramos de 10 m², luego enjuagar con agua limpia.
- Por la distribución que en general tienen los laboratorios, con salida a un solo pasillo común, se recomienda iniciar la limpieza con un flujo unidireccional desde las áreas "funcionalmente limpias" hacia las áreas "potencialmente sucias".



Si bien los desinfectantes tienen acción bactericida en condiciones especiales (pH, tiempo, temperatura, concentración), en el laboratorio solo sirven para reducir la carga bacteriana y descontaminar superficies.

ACTUALMENTE, SE RECOMIENDA UTILIZAR COMO DESINFECTANTES LAS SOLUCIONES DE HIPOCLORITO DE SODIO (0,5 y 2%) Y ALCOHOL 70% EN LOS LABORATORIOS DE TB.

b) Hipoclorito de sodio.

Es un germicida químico, de acción rápida y amplio espectro. Se utiliza como desinfectante de uso general y para descontaminar superficies de trabajo posterior al trabajo con muestras de TB. Se deben emplear soluciones madre de hipoclorito de concentración conocida (como referencia, el cloro comercial tiene una concentración aproximada de 5% o 50 g/L). Para su preparación y manipulación siempre se debe emplear guantes y solo se debe diluir con agua destilada. 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 el % de hipoclorito de sodio de la solución original y la concentración final que se va a preparar:

$$V \text{ (NECESARIO)} = \frac{V \text{ (FINAL)} \times \% \text{ CLORO ACTIVO REQUERIDO}}{\% \text{ CLORO ACTIVO PREPARADO ORIGINAL}}$$

Ejemplo:

Se puede tener una solución madre de hipoclorito de sodio 10% y se necesita preparar 250 ml de una solución de hipoclorito de sodio 0,5%, si se aplica la fórmula:

$$V \text{ (mL)} = \frac{250 \text{ mL} \times 0,5\%}{10\%} = 12,5 \text{ mL}$$

Se requiere 12,5 mL de la solución original de hipoclorito de sodio 10% y se completa con 237,5 mL de agua destilada para el volumen final de 250 mL.

Las concentraciones y usos recomendados en los laboratorios de TB son:

- Solución 0.5% (5 g/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 y cultivos positivos.

El hipoclorito de sodio debe ser preparado diariamente. La solución no utilizada durante el día se elimina en el desagüe. Para minimizar el desecho de hipoclorito de sodio, se recomienda determinar el volumen aproximado diario para cada laboratorio. Ubicar envases 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 de metales, por lo que se debe emplear con precaución sobre superficies de acero inoxidable (como en el interior de las CSB). Se recomienda limpiar las trazas de hipoclorito de sodio con una solución de alcohol 70% o con agua destilada.



No se deben autoclavar soluciones de hipoclorito. Nunca mezcle ni almacene soluciones de cloro con productos de limpieza que contengan amonio, cloruro de amonio o ácido fosfórico. La combinación de estos productos químicos podría resultar en la liberación de cloro gaseoso que es tóxico y puede causar náuseas, irritación de los ojos, dolor de cabeza, lagrimeo y dificultad para respirar. Estos síntomas pueden permanecer varias horas.

c) Alcohol.

Se utiliza en concentración 70% V/V, 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. Estas 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.

d) Micobactericida comercial.

Se recomienda el uso de soluciones micobactericidas comerciales certificadas en su acción bactericida. Al usarlos, se deben seguir las indicaciones dadas por el fabricante.

e) 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.

6. CAPACITACIÓN

La formación continua del personal acerca de las medidas de seguridad es primordial en todo laboratorio. El personal preocupado por la seguridad (propia y del resto), y bien informado en la manera de reconocer y combatir los peligros inherentes a los procedimientos realizados, es clave para prevenir las infecciones adquiridas, los incidentes y accidentes en el laboratorio. La capacitación, tanto del personal interno como externo al laboratorio, es responsabilidad del jefe del laboratorio o a quien designe, y debe incluir la revisión del código de prácticas y los procedimientos incorporados en el manual de seguridad.

El encargado del laboratorio debe evaluar las competencias técnicas del personal que realiza los diferentes procedimientos. También se debe entregar información sobre la manera correcta de desechar y descontaminar debidamente el material infeccioso.

Otro punto importante que se debe tener en cuenta es la capacitación al personal de aseo externo al laboratorio que deberá recibir una inducción que considere los siguientes puntos:

- *Factores de riesgo y prevención de la TB.*
- *Mecanismos de transmisión de la TB.*
- *Buenas prácticas de trabajo.*
- *Respuestas frente incidentes/accidentes.*
- *Uso de EPP.*



- Sistema de aseo.

7. BIOCUSTODIA.

En el presente documento se presentan diversas medidas destinadas a reducir al mínimo el riesgo de exposición del personal que trabaja en los laboratorios de TB, tales como el uso de prácticas microbiológicas correctas, los equipos de contención necesarios para el trabajo bioseguro, el diseño y mantenimiento de la planta física, por nombrar algunos. Del mismo modo, desde el punto de vista de salud pública, el riesgo para la comunidad y el medio ambiente también se reduce al mínimo con el uso de estas prácticas. A pesar de lo anterior, durante la última década diversos eventos relacionados con el bioterrorismo hacen necesario adoptar medidas por parte de los laboratorios para proteger sus dependencias y los materiales que contienen, sobre todo en aquellos recintos que manipulan agentes biológicos patógenos de alto riesgo, como el caso de M. tuberculosis.

De acuerdo a la OMS, la biocustodia en el laboratorio (del inglés biosecurity) se define como “la protección, control y responsabilidad asociada a materiales biológicos valiosos (MBV) dentro de los laboratorios, para prevenir el acceso no autorizado, pérdida, robo, mala utilización, desviación o liberación intencional”, por lo que las implementaciones de medidas de bioseguridad ya incluyen algunos aspectos básicos de biocustodia. De aquí en adelante, se establece que el MBV presente en los laboratorios de TB corresponde a muestras de pacientes con síntomas de TB o confirmados para la enfermedad (laboratorios de bajo riesgo), y a los cultivos positivos (sólidos o líquidos) derivados de las muestras indicadas anteriormente (laboratorios de riesgo moderado).

Un programa de biocustodia debe apoyarse en un programa sólido de bioseguridad, ya que todas las precauciones involucradas con la protección de los materiales biológicos deben formar parte de la rutina de trabajo en el laboratorio, del mismo modo que las técnicas asépticas y otras prácticas microbiológicas seguras (Manual de bioseguridad 3° ed. OMS).

En palabras simples, las diferencias entre los enfoques de bioseguridad y biocustodia se pueden simplificar en el siguiente enunciado:

LA BIOSEGURIDAD PROTEGE A LAS PERSONAS DE LOS MICROORGANISMOS.

LA BIOCUSTODIA PROTEGE A LOS MICROORGANISMOS DE LAS PERSONAS.

La inapropiada gestión de los biorriesgos que derive en exposición del personal de laboratorio y medio ambiente a peligros relacionados con bioseguridad-biocustodia, representan una amenaza a la comunidad y a la salud pública. Las consecuencias derivadas de un quiebre en la biocustodia en los laboratorios de TB de riesgo moderado deben ser evaluadas de acuerdo al impacto que generan en la sociedad (Tabla 5).

Tabla 5. Principales consecuencias derivadas de fallas en el programa de biocustodia.

Ámbito	Impactos
Salud de la población	Enfermedad y/o muerte.
Económico	Costo de tratamiento Vigilancia médica Estudio de contactos
Seguridad de los MBV	Rediseñar el sistema de gestión del biorriesgo



Reputación del laboratorio / Institución	Disminuye la confianza de las personas frente al sistema de salud pública.
Percepción del público	Sensación de inseguridad, desprotección

El programa de biocustodia en el laboratorio de riesgo bajo y moderado debe gestionar los biorriesgos identificados, que corresponden principalmente a muestras de pacientes clasificados como casos presuntivos de TB y cultivos positivos para *M. tuberculosis*, respectivamente. Debe tomar en cuenta el tipo de trabajo que realiza el laboratorio y las condiciones locales y geográficas, por lo que se adaptan a la realidad particular de cada instalación. A continuación, se indican ciertos puntos a tener en cuenta al momento de desarrollar el plan de biocustodia del laboratorio de TB:

- *Equipamiento de laboratorio:* No todos los equipos de laboratorio tienen las características para ser empleados en la fabricación de armas biológicas. En los laboratorios de TB, se debe tener especial cuidado con las incubadoras y equipos diseminadores de aerosoles (como vórtex o centrífugas). Todo el personal del laboratorio es responsable de tomar precauciones contra hurtos o mal uso de equipos en las dependencias.
- *Biocustodia física:* se refiere al control que existe en los laboratorios para registrar la entrada de personal autorizado y no autorizado y controlar la salida de MBV y de equipamiento. La biocustodia física se puede lograr utilizando personal de seguridad y accesos controlados. El acceso al interior del laboratorio debe contener la señal de advertencia de peligro biológico además de impedir la libre entrada a las dependencias al usar sistemas de cierre magnético con uso de credenciales, clave numérica o huellas digitales, o simplemente cerrando con pestillo la cerradura. En cualquier caso, el personal debe estar pendiente del tráfico de público externo a través del acceso al laboratorio.
- *Gestión del personal:* debe definir los roles, responsabilidades y autoridades del personal de laboratorio encargado de la manipulación, uso, almacenamiento, transporte y/o transferencia de muestras/ cultivos de pacientes diagnosticados con TB. Así mismo, se debe documentar el entrenamiento, experiencia, competencia e idoneidad de quienes tienen acceso al MBV. La designación de reemplazos entre el personal técnico, administrativo, profesional y auxiliar que tengan roles críticos en mantener la seguridad de las muestras es vital para el caso de ausentarse uno de ellos. Finalmente, se recomienda desarrollar procedimientos dirigidos a gestionar el ingreso de visitantes, estudiantes, proveedores, personal de mantenimiento y aseo, entre otros.
- *Seguridad de la información:* tiene como objetivo mantener niveles de confidencialidad apropiados en el sistema utilizado para almacenar la información sensible, y limitar acceso por parte de individuos que necesiten estos datos. Ejemplos de información sensible incluyen los planes de seguridad del laboratorio, inventarios y ubicación de los MBV. Es importante destacar que mientras mayor es el riesgo en el laboratorio de TB mayor debe ser la protección de la información almacenada en el sistema de seguridad empleado.

Las medidas indicadas en el presente capítulo, deben ser establecidas y mantenidas mediante evaluaciones periódicas de los biorriesgos y amenazas asociadas a la manipulación de material con micobacterias, mediante una revisión y actualización periódica de todos los procedimientos y acciones propuestas. Finalmente, durante la capacitación para el personal nuevo en los laboratorios de TB en normas de bioseguridad, también se debe incluir la materia de bioprotección expuesta en el presente manual.

II. EQUIPOS DE SEGURIDAD.



Los equipos de seguridad pueden utilizarse para eliminar o reducir al mínimo algunos riesgos en los laboratorios de TB, aunque hay que tener presente que estos equipos, por sí solos, no ofrecen garantías de protección a menos que el operador sea competente y utilice las técnicas microbiológicas apropiadas. Los equipos destinados al trabajo con muestras o cultivos que contienen *M. tuberculosis* deben cumplir al menos con los siguientes requisitos:

- Debe estar diseñado, construido e instalado para facilitar su manejo sencillo, su mantenimiento, limpieza, descontaminación y pruebas de certificación.
- Debe estar fabricado con materiales lisos, sin bordes cortantes ni partes móviles sin protección.
- Debe estar construido de un material impermeable a líquidos y resistente a la corrosión, ya que es necesario descontaminar en caso de que ocurra un derrame.
- Tener un diseño tal que impida o limite el contacto entre el operador y el material infeccioso.

Además, es imprescindible que estos equipos sean verificados periódicamente para asegurar que siguen funcionando de manera adecuada y segura.

1. Cabina de seguridad biológica (CSB).

Ciertos procedimientos de laboratorio pueden generar aerosoles formados por núcleos de gotícula, sin que lo advierta el personal técnico de laboratorio debido a su pequeño tamaño ($< 5 \mu\text{m}$ de diámetro). Esto puede dar lugar a la inhalación de microorganismos infecciosos o a la contaminación cruzada de superficies de trabajo o materiales.

ES IMPORTANTE DESTACAR, QUE LA CSB PROPORCIONA LA CONTENCIÓN PRIMARIA DE LOS AEROSOLIS INFECCIOSOS GENERADOS EN CIERTOS PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS, Y SU USO SE DEBE RECOMENDAR LUEGO DE REALIZAR UNA EVALUACIÓN DE RIESGOS EN LOS LABORATORIOS.

Las CSB están diseñados para proteger a las personas y el entorno de los agentes infecciosos y, atendiendo a su clasificación, ofrecen distintos grados de protección frente a la contaminación de muestras y cultivos.

Las CSB deben seleccionarse de acuerdo al tipo de protección que sea necesaria: si es para el producto o contra el riesgo de infección del personal. Realizar la selección del equipo correcto, instalación, uso apropiado y certificación anual del funcionamiento son procesos complejos por lo que se recomienda que sean realizados por profesionales competentes, con experiencia y que estén familiarizados con todos los aspectos del equipamiento.

Además, estos equipos deben ir conectados a un suministro eléctrico de emergencia para asegurar que el personal disponga de tiempo suficiente para completar los procedimientos en caso de corte de energía eléctrica.

El filtro HEPA que se encuentra en el sistema de aire de salida de una CSB captura de manera eficaz los organismos infecciosos y asegura que solo se evacúa aire limpio hacia el exterior. Un filtro HEPA montado en una CSB por encima de la superficie del trabajo protege de la contaminación cruzada y a los materiales que se encuentran en su interior. A menudo esto se denomina protección del producto.



LA CSB DEBE SER CERTIFICADA CUANDO SE INSTALA, SIEMPRE QUE SEA TRASLADADA Y DESPUÉS DE TODA REPARACIÓN O CAMBIO DE FILTRO; TAMBIÉN REQUIEREN DE UN MANTENIMIENTO PERIÓDICO (ANUAL) PARA GARANTIZAR SU FUNCIONAMIENTO APROPIADO. RETRASAR EL MANTENIMIENTO O UTILIZAR PERSONAL NO COMPETENTE PARA LLEVAR A CABO ESTA ACTIVIDAD PUEDE PONER EN RIESGO A LOS TRABAJADORES DEL LABORATORIO.

Hay tres clases de CSB: Clase I, Clase II y Clase III (de acuerdo a las normas AS/NZS 2252.1:1994, AS/NZS 2252.2:1994, y NSF/ANSI 49–2008).

Según la norma NSF/ANSI 49–2008, las CSB de clase II se clasifican en: A1, A2, B1, B2; de acuerdo a las variaciones en los flujos de aire, las velocidades, la ubicación del filtro HEPA en la cámara, las tasas de ventilación y los métodos de evacuación del aire. Una CSB de clase II ofrece protección al personal, al ambiente y al producto; en los modelos de tipo A2 todos los conductos contaminados se encuentran a presión negativa o están rodeados de conductos de presión negativa. Las CSB de clase II tipo A1 no son la opción más adecuada porque los conductos pueden contaminarse y las cámaras de distribución del extractor tienen presión positiva respecto de la sala. Las CSB de la clase II tipos B1 y B2 deben estar conectados con el exterior por conductos rígidos; esto significa que el sistema de evacuación de aire del edificio debe ajustarse exactamente a los requisitos de flujo de aire especificados por el fabricante en relación con el volumen y con la presión estática. La certificación, la operación y el mantenimiento de estos tipos de CSB son por consiguiente más complejos, de modo que estas cámaras no se recomiendan en los laboratorios de TB.

CUANDO SE NECESITE ADQUIRIR UNA NUEVA CSB PARA LABORATORIOS DE TB, SE RECOMIENDA OPTAR POR LAS DE CLASE II TIPO A2 CON VENTANA MÓVIL.

Las CSB deben llevar filtros HEPA que cumplan las normas internacionales pertinentes. (Por ejemplo, las normas europeas EN12469 o estadounidenses NSF/ANSI Standard 49 – 2008). El filtro HEPA elimina al menos el 99,97% de las partículas de 0,3 μm , que incluyen todas las bacterias, virus, esporas y partículas o gotitas que contienen estos organismos.

a) CSB de clase II tipo A2

Esta es la clase de cabina recomendada para el trabajo en los laboratorios de TB de la red nacional. La Figura 17 muestra un esquema simplificado de los flujos de aire en una CSB de clase II tipo A2. Un ventilador interno succiona aire de la sala hacia el interior de la cámara por la abertura frontal y a continuación hacia la rejilla frontal. La velocidad de entrada de este aire debe ser de al menos 0,38 m/s en el plano de la abertura frontal. Después de atravesar la rejilla, el aire de entrada es conducido hacia arriba y luego atraviesa un filtro HEPA antes de pasar en sentido descendente por encima de la superficie del trabajo.

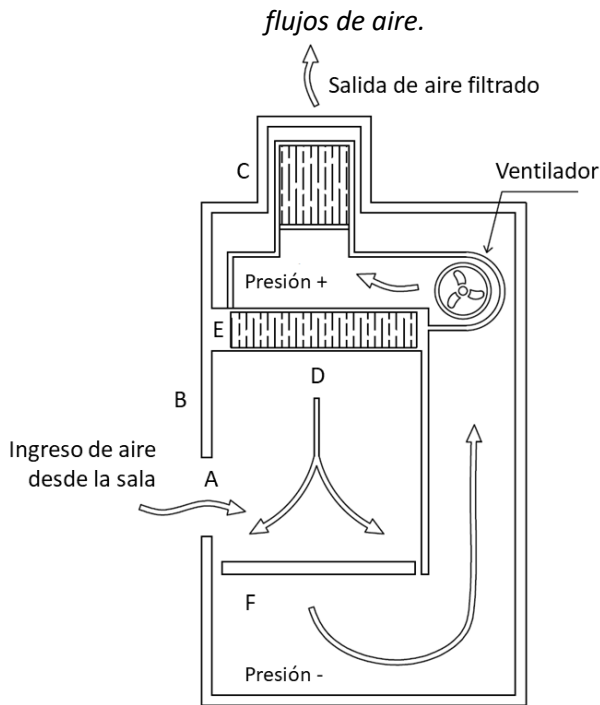
Al circular en sentido descendente, a unos 6-18 cm sobre la superficie de trabajo, el aire se divide y aproximadamente la mitad del volumen atraviesa la rejilla de salida frontal y la otra mitad atraviesa la rejilla de salida trasera. Las partículas de aerosol generadas en la superficie de trabajo son inmediatamente arrastradas por esta corriente de aire descendente y salen por la rejilla de evacuación delantera o trasera, logrando la máxima protección del producto. A continuación, el aire se evacua a través de la cámara de distribución posterior hacia el espacio comprendido entre el filtro de suministro y de evacuación situados en la parte superior de la cámara.



Debido al tamaño relativo de esos filtros, el 60%-70% del aire vuelve a circular a través del filtro HEPA de suministro y regresa a la zona de trabajo; el 30%-40% restante atraviesa el filtro de evacuación hacia la sala o el exterior.

El aire de salida de una cámara de este tipo puede reciclarse en la sala o evacuarse al exterior del edificio por medio de un acoplador de tipo dedal conectado a un conducto dedicado exclusivamente a este fin (Figura 18); no debe eliminarse por medio del sistema de evacuación de aire del edificio y debe situarse lejos de la circulación de personal.

Figura 17. Esquema simplificado de una CSB de clase II tipo A2 (vista lateral).
A. Abertura frontal; B. Ventana; C. Filtro HEPA de salida; D. Filtro HEPA de entrada; E. cámara de distribución con presión positiva; F. cámara de distribución con presión negativa. Flechas curvas: flujos de aire.



Adaptado del “Manual de Seguridad en el Laboratorio” OPS, Gli 2022.

b) Acoplador tipo dedal

Este tipo de dispositivo se puede utilizar en las CSB de clase II tipo A2 que necesiten una conexión al exterior (Figura 18). Un acoplador tipo dedal se ajusta a la salida de aire de la cámara, tomando el aire expulsado de ésta hacia los conductos que conducen al exterior. Se deja una pequeña abertura, de aproximadamente 5 cm de ancho, entre el acoplador y la salida de aire de la cámara, lo que permite succionar el aire de la sala hacia el sistema de evacuación de aire. La capacidad del sistema de evacuación de aire debe ser suficiente para captar aire procedente tanto de la sala como de la cámara.

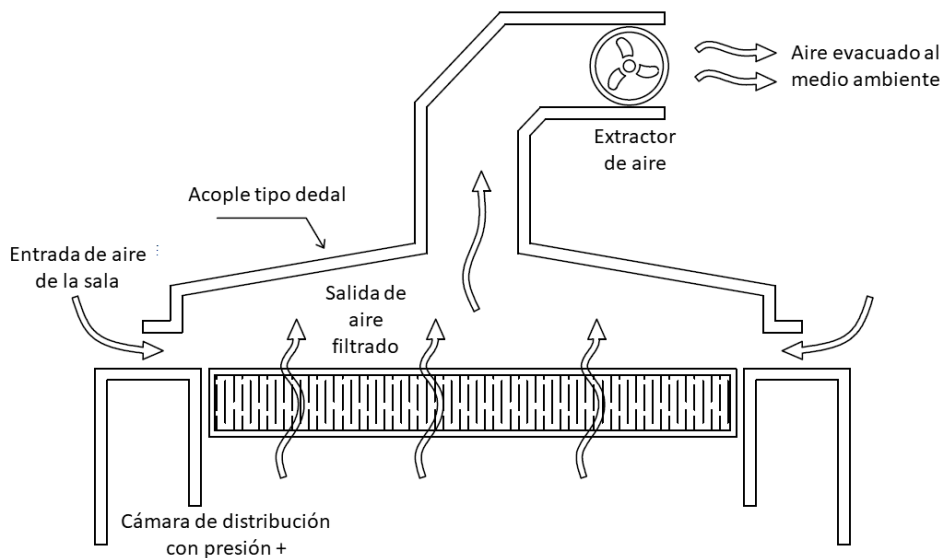
Este acoplador debe ser extraíble y estar diseñado de tal manera que permita realizar las pruebas de funcionamiento de la cámara. En general, el rendimiento de una cámara conectada mediante este acoplador no se ve afectado por las fluctuaciones en la corriente de aire del edificio.

Una ventaja de utilizar una conexión tipo dedal es que la CSB no necesita ajuste alguno y la presión en la sala se mantendrá prácticamente constante. Esto permite que, en caso de corte eléctrico, el



aire que retorna a la sala en la que existe una presión menor pase casi exclusivamente a través de la entrada del acoplador tipo dedal, y no a través del filtro HEPA.

Figura 18. Esquema de una conexión en dedal en una CSB de clase II tipo A2 conectada directamente con el exterior del laboratorio.



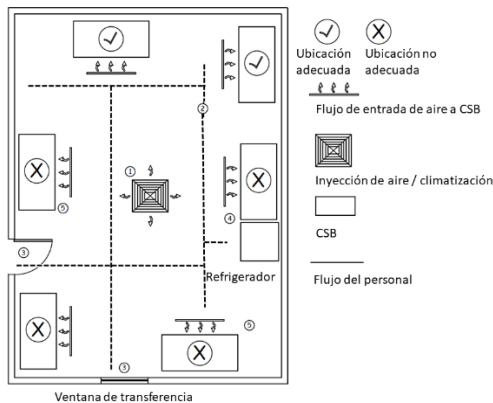
Adaptado del “Manual de Seguridad en el Laboratorio” OPS, Gli 2022.

c) ¿Dónde instalar una CSB en el laboratorio de TB?

La ubicación de estos equipos es un factor importante para considerar, ya que la integridad del flujo direccional de aire es frágil y puede verse alterado fácilmente por las corrientes de aire que generan las personas al caminar en las proximidades del equipo, por ventanas abiertas, equipos que generan turbulencias, o por la apertura y el cierre de puertas del área. En condiciones ideales, las CSB deben situarse de acuerdo con las recomendaciones del fabricante en un lugar alejado del tránsito y de posibles corrientes de aire.

También considerar para la instalación, siempre que sea posible, un espacio de 30 cm a cada lado de la CSB incluyendo la parte trasera para permitir el acceso en caso de mantenimiento. Además, se debe dejar un espacio de 30-35 cm por encima de la CSB para medir con exactitud la velocidad del aire a través del filtro de salida y para facilitar el cambio del filtro de salida. La figura 19 ilustra algunos de los desafíos comunes que enfrentará al tomar la decisión de dónde instalar la CSB.

Figura 19. Ubicación de una CSB en un Laboratorio de TB.



1. El movimiento del aire.

Los acondicionadores de aire/climatizadores, fuerzan el aire a través de la habitación, lo que puede comprometer la cortina de aire a menos de 3 metros de distancia.

2. Movimiento de personas.

Caminar perturba los flujos de aire. Asegurar al menos 1.5 metros entre la CSB y áreas de tráfico de laboratorio. En pequeños laboratorios restringir el movimiento de personas dentro del laboratorio cuando se está utilizando la CSB.

3. Puertas y ventanas.

Abrir y cerrar puertas puede crear suficiente movimiento de aire para interrumpir la cortina de aire. Las ventanas abiertas permiten un flujo de aire disruptivo dentro y fuera del laboratorio. Las ventanas en laboratorios de TB de riesgo moderado o alto siempre deben permanecer cerradas.

4. Ubicación de otros equipos.

El escape de aire de otra CSB u otro equipo puede interrumpir la cortina de aire. Es necesario considerar cuidadosamente la influencia de todos los demás equipos y su efecto en el movimiento del aire al instalar una CSB.

5. Entorno despejado.

Ubicar una CSB demasiado cerca de una pared o techo puede generar contrapresión, comprometiendo la función de la CSB. Ubique la CSB a una distancia mínima de 35 cm a cada costado y por encima de la CSB.

Adaptado del "Manual de Seguridad en el Laboratorio" OPS, Gli 2022

LA CSB SE DEBE POSICIONAR SOBRE UN SOPORTE O MESÓN FABRICADO PARA ESTE EQUIPO, QUE PUEDA SOSTENER DE FORMA SEGURA SU PESO. UN SOPORTE PUEDE INCLUIR RUEDAS BLOQUEABLES PARA FACILITAR EL MOVIMIENTO DE LA CSB DENTRO DEL LABORATORIO. ASEGÚRESE DE QUE LA CSB ESTÉ NIVELADA.

d) Operadores de la CSB

Los efectos protectores de la CSB pueden verse gravemente disminuidos cuando no es utilizada correctamente, generando incluso un mayor riesgo para los trabajadores del laboratorio. Por lo tanto, deben estar disponibles para el personal protocolos y procedimientos estandarizados escritos, así como un manual de bioseguridad. Se debe asegurar que los operadores hayan leído y comprendido los protocolos, así como haber recibido una capacitación adecuada y adquirido las competencias necesarias para el uso del equipo. Los operadores deben ser supervisados para asegurar que sigan prácticas de trabajo establecidas en las instrucciones antes de que realicen pruebas rutinarias en las cámaras.

e) ¿Cómo usar la CSB?

A continuación, se indican los pasos a seguir para el correcto uso de la CSB:

1. Encender el equipo.
2. Desinfectar la superficie de trabajo y paredes internas con papel absorbente impregnado en alcohol 70%.
3. Disponer el material dentro de la CSB (el mínimo necesario).
4. Dar tiempo a la purga de 5 minutos antes de comenzar a trabajar.
5. El operador debe utilizar los EPP.
6. Posicionar los brazos dentro de la CSB.



- Ejecutar movimientos lentos con los brazos.
- No bloquear las rejillas frontal y trasera de la CSB.
- Al terminar, desinfectar la superficie con hipoclorito de sodio 0.5% y luego retirar los residuos con alcohol 70°.
- Retirar todos los materiales utilizados.
- Dejar la CSB encendido por 15 minutos.
- Apagar la CSB.
- Registrar el uso diario.

No debe utilizar mecheros en el interior de la CSB, ya que el aire caliente de la llama altera el flujo de la ventilación en el interior del equipo, además de dañar los filtros HEPA. Para evitar el uso de llamas abiertas se recomienda uso de placas calefactoras para secar y fijar los frotis preparados e incineradores eléctricos para asas de metal.

NO SE RECOMIENDA EL USO DE LUZ UV EN LAS CSB DE LOS LABORATORIOS DE TB, YA QUE LA DISTANCIA DESDE LA FUENTE DE LUZ, EL ÁNGULO DE INCIDENCIA Y LAS SOMBRAS PROYECTADAS DISMINUYEN LA EFECTIVIDAD DEL EFECTO BACTERICIDA. PUEDE UTILIZARSE COMO UN COMPLEMENTO POSTERIOR A LA DESINFECCIÓN

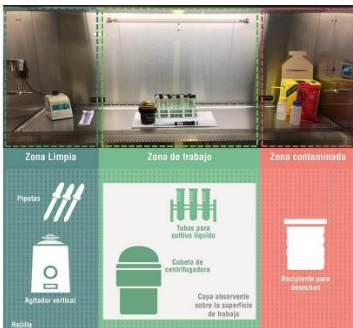
f) Distribución del material

La rejilla de entrada frontal de la CSB clase II no debe estar bloqueada con papeles, instrumentos u otros objetos.

Se recomienda que el procesamiento de la muestra se realice sobre una sabanilla absorbente, dispuesta de modo que recoja todas las salpicaduras y derrames que podrían ocurrir producto de la actividad técnica. Todos los materiales deben ubicarse lo más adentro posible de la CSB, es decir, hacia el borde posterior de la superficie de trabajo, sin bloquear la rejilla posterior (ver Figura 20). Los equipos que puedan generar aerosoles (como agitadores vórtex y centrífugas) deben situarse hacia el fondo de la cámara. Los artículos voluminosos y los recipientes de desecho, deben colocarse a un lado del interior de la CSB. El trabajo debe proceder desde las zonas limpias hacia las zonas contaminadas sobre la superficie del trabajo. Nunca deben introducirse documentos en la CSB. La cámara no debe sobrecargarse porque puede influir en la eficiencia del flujo de aire.

Figura 20. Organización recomendada para trabajar en la CSB clase II A2.

El material limpio se ubica a la izquierda (zona limpia); Las muestras se inoculan en el centro (zona de trabajo); las soluciones desinfectantes, las pipetas contaminadas y otro material de destinado al recipiente para desechos se ubica en la parte derecha (zona contaminada). Esta disposición puede ser invertida para las personas zurdas.



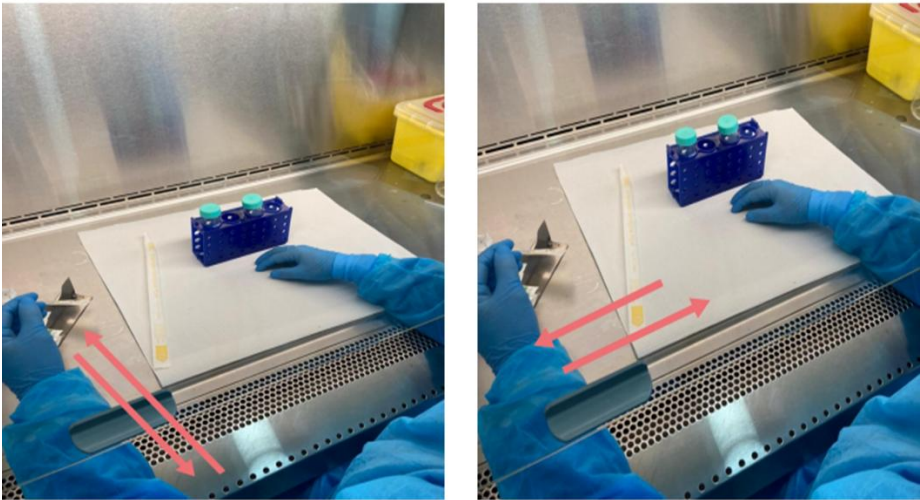
g) Movimiento de los brazos

La cortina de aire es muy frágil y se perturba fácilmente. La reducción de los movimientos de los brazos hacia adentro y hacia afuera, y los movimientos laterales de los brazos en la CSB ayudarán a mantener la cortina de aire (ver Figura 21).

Disminuya al mínimo todos los movimientos innecesarios de los brazos: realizar movimientos lentamente para permitir que la cortina de aire envuelva los antebrazos con el flujo de aire del equipo.

Una vez que los brazos estén dentro de la CSB, mantener la postura para permitir que la cortina de aire se restablezca y para que las mangas y guantes sean barridos con aire filtrado.

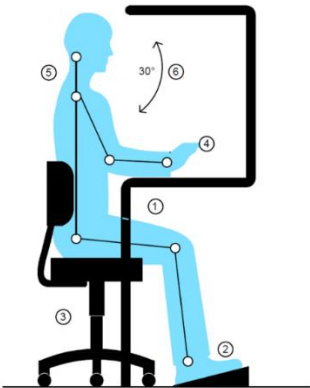
Figura 21. Minimizar los movimientos laterales del brazo



h) Ergonomía

Se pueden pasar varias horas al día trabajando en una CSB, por lo que la buena postura es esencial para permitir concentración en el trabajo que está haciendo y realizarlo de manera segura. Para evaluar la ergonomía es necesario tener en cuenta los puntos descritos en la Figura 22. También es relevante evaluar el área de trabajo en la superficie de la CSB, que varía de acuerdo a cada operador (Figura 23). Es relevante recalcar el área de trabajo seguro está delimitada por las rejillas trasera y frontal de la CSB.

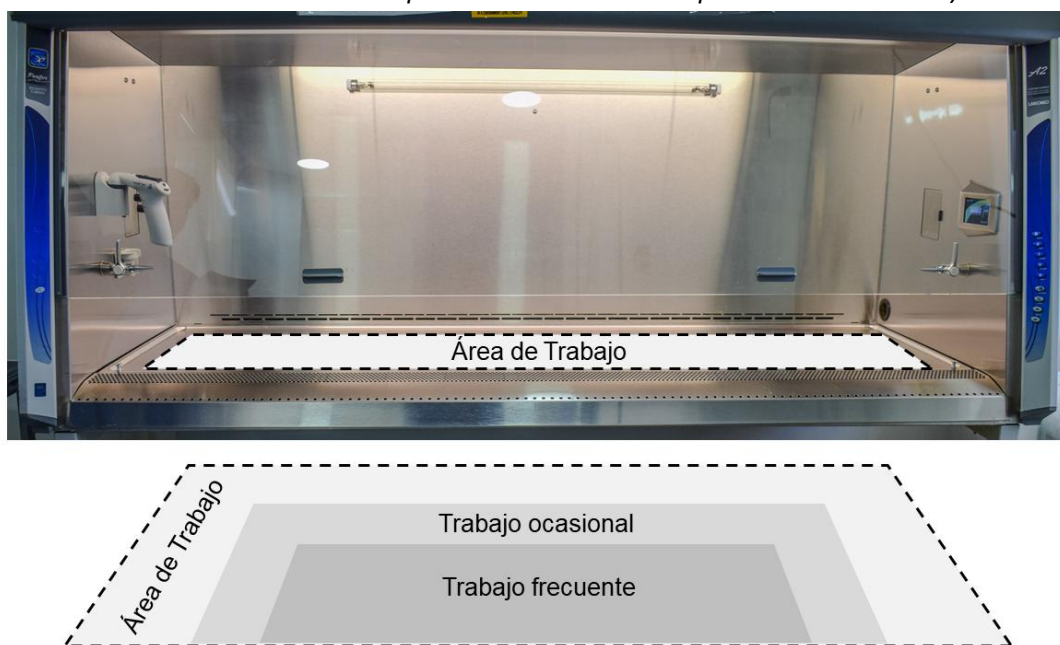
Figura 22. Considerar para la adecuada ergonomía durante el trabajo en la CSB



1. ¿Hay suficiente espacio debajo del mesón para sentarse cómodamente y mover las piernas? Tener en cuenta que los soportes de la CSB y el mesón restringen el movimiento.
 2. ¿El operador puede apoyar los en el piso? De no ser posible, utilizar un reposapiés.
 3. ¿Es ajustable la altura de la silla para apoyar los antebrazos horizontalmente sobre el frente de la CSB? De no ser posible, evaluar cambio de silla.
 4. ¿Hay conectores dentro de la CSB (como enchufes eléctricos) de fácil acceso?
 5. ¿El personal puede sentarse manteniendo la espalda recta; y el cuello, hombros y brazos relajados? De no ser posible, evaluar cambio de silla.
 6. Procurar reducir el ángulo menos de 30° para los movimientos de cuello y la rotación de la columna durante la realización de las tareas más comunes.
- Adaptado del “Manual de Seguridad en el Laboratorio” OPS, Gli 2022

Figura 23. Área de trabajo en la CSB.

Se pueden identificar zonas de trabajo frecuente (la más próxima al operador, manteniendo los codos apoyados en la rejilla frontal), y una de trabajo ocasional (más alejado, hasta donde alcanzan las manos del operador al extender completamente los codos).



La CSB debe ser operada por una persona a la vez; más de una persona perturbará la cortina de aire delantera, favoreciendo la liberación de aerosoles. Cuando se cuenta con una CSB pequeña y no hay suficiente espacio para guardar todos los materiales necesarios, se puede utilizar un carro o mesa auxiliar para almacenar los artículos limpios y que estén disponibles durante el trabajo técnico. Si las rejillas están bloqueadas, incluso parcialmente, la eficiencia de la CSB se reduce y se compromete su rendimiento. Después de trabajar en una CSB se deben seguir los siguientes pasos:

- No colocar ninguna parte del cuerpo dentro de una CSB para limpiar cuando haya terminado de trabajar.
- Dejar en funcionamiento durante 15 minutos la CSB para eliminar los aerosoles.
- No usar la CSB ni quitar ningún artículo durante este tiempo.
- Después de 15 minutos, descontaminar todos los artículos en de la CSB.
- Retirar los elementos y dejar la CSB vacía.
- Limpiar con hipoclorito al 0,5% la superficie de trabajo y las paredes internas de la CSB.

Se recomienda el uso de un limpiador de mango largo para llegar a las partes difíciles, tal como se esquematiza en la Figura 24, para evitar ingresar el cuerpo del operador a la CSB.



Figura 24: Uso de limpiador extensible para el interior de la CSB.



i) Verificación de parámetros de seguridad:

El funcionamiento y la integridad de cada CSB debe verificarse de acuerdo con las normas de funcionamiento nacionales o internacionales en el momento de la instalación, después de una reubicación en el laboratorio, y de forma periódica (al menos una vez al año) por técnicos calificados y de acuerdo con las especificaciones del fabricante.

Para efectuar estas pruebas se requiere personal profesional competente y equipos de medición certificados. El usuario debe solicitar los certificados que aprueban el uso de los equipos utilizado para la medición de los parámetros de funcionamiento de la CSB-

Parámetros para evaluar la eficacia de la contención de una CSB:

- Pruebas de la integridad de la cámara.
- Pruebas de la integridad de los filtros HEPA.
- Evaluaciones del perfil de velocidad del flujo de aire descendente.
- La velocidad del aire en la apertura de la cámara.
- La presión negativa y la tasa de ventilación.
- Las características del flujo de aire y las alarmas e interruptores de interbloqueo.
- La velocidad del aire que pasa por la abertura central hacia el interior de un GBS debe ajustarse a las especificaciones del fabricante.
- También pueden realizarse pruebas facultativas de la instalación eléctrica, la intensidad de la iluminación, la luz ultravioleta y el nivel de ruido y vibración.

j) Cambios de filtro de la CSB.

El cambio de filtro se recomienda cuando los parámetros que miden la funcionalidad de los filtros resultan alterados durante la verificación. **La CSB debe descontaminarse minuciosamente antes de cambiar los filtros HEPA** y antes de trasladarla a otro lugar; la descontaminación debe incluir los espacios de las cámaras de distribución y los filtros. Se recomienda revisar la norma NSF/ANSI 49 – 2008 para consultar los procedimientos y detalles de la descontaminación para cambios de filtros, que debe ser realizada por un profesional calificado.



k) Alarmas.

La CSB puede estar equipada con uno de los dos tipos de alarma que se describen a continuación: Las alarmas de abertura solo se encuentran en las CSB que tienen ventana de cristal corredera; emiten un sonido cuando el operador ha ubicado la ventana en una posición incorrecta. Cuando suena la alarma, la ventana debe reubicarse en la posición correcta.

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

l) Limpieza y desinfección.

Las superficies interiores de la CSB deben descontaminarse antes y después de cada uso. Las superficies de trabajo y las paredes interiores se limpiarán con un desinfectante que inactive los microorganismos que pudieran encontrarse en el interior. Al final del día, la descontaminación final de superficies se realizará con un material absorbente empapado en desinfectante (hipoclorito de sodio 0,5%), limpiar la superficie de trabajo, incluyendo las paredes laterales trasera y la cara interior del cristal.

SE DEBE REALIZAR UNA SEGUNDA LIMPIEZA CON ALCOHOL 70% O AGUA DESTILADA CUANDO SE EMPLEEN DESINFECTANTES CORROSIVOS, COMO LOS HECHOS A BASE DE HIPOCLORITO.

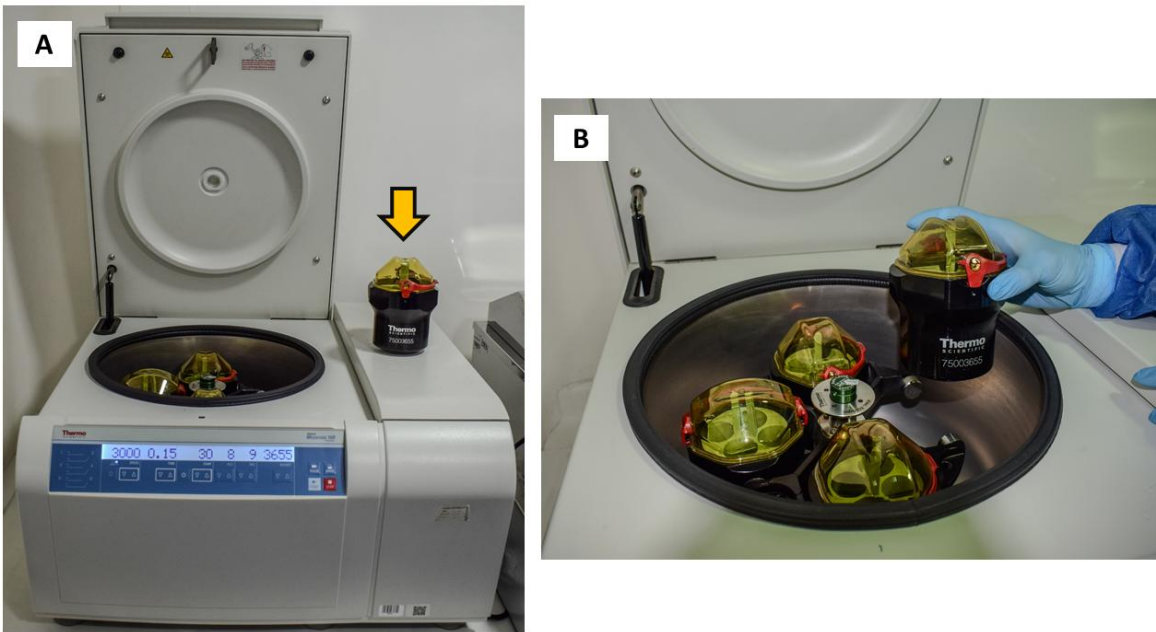
2. Centrifugas con contenedores de seguridad.

Durante el proceso de centrifugado de muestras líquidas (muestras extrapulmonares principalmente), es altamente probable que se produzcan aerosoles, de modo que el personal debe trabajar con precaución cuando maneje este equipo. Con el objetivo de contener los aerosoles infecciosos, las muestras deben ser cargadas en contenedores de seguridad con tapa (Figura 25). Para el procesamiento de estas muestras, además se recomienda que la centrifuga sea refrigerada, y los contenedores de seguridad en formato de rotor oscilante.

LA ACCIÓN DE CARGAR/DESCARGAR LOS CONTENEDORES DE SEGURIDAD CON MUESTRAS PARA DIAGNÓSTICO DE TB, DEBE SER REALIZADA EN EL INTERIOR DE UNA CSB.

Figura 25: Centrifuga refrigerada con contenedores de seguridad.
A. En la flecha amarilla se muestra el contenedor de seguridad. **B.** Carga del contenedor de seguridad en el rotor del equipo.





3. Autoclave.

La autoclave de vapor saturado a presión es el equipo más eficiente para **esterilizar** material de vidrio, reactivos y **descontaminar** cultivos positivos para micobacterias (material biológico). Estos equipos deben ubicarse fuera del área técnica ya que pueden ser ruidosos además de emitir vapor y calor.

Las autoclaves que se destinan a la descontaminación de material infeccioso deben tener una válvula de salida de aire con un filtro bacteriano. Este filtro estéril debe estar formado de un cartucho con una membrana con poros de 0,2 µm alojado en un receptáculo resistente a la presión y debe ser fácil de cambiar. El filtro se esteriliza automáticamente en cada proceso de esterilización. En todo momento se seguirán las instrucciones del fabricante en cuanto al manejo y la limpieza de la autoclave.

ES RECOMENDABLE CONTAR CON UNA AUTOCLAVE EN TODOS LOS LABORATORIOS DONDE SE REALICEN CULTIVOS DE M. TUBERCULOSIS, Y SITUARLO PREFERIBLEMENTE CERCANO AL ÁREA TÉCNICA.

Los servicios externos para el manejo de residuos biológicos pueden ser contratados y procesar todo el material biológico producto de las actividades técnicas del laboratorio de TB, esto incluye los contenedores primarios y todo el material que ha estado en contacto con las muestras clínicas de pacientes. Este material debe estar adecuadamente etiquetado y depositado en los contenedores correspondientes, garantizando un almacenaje y transporte seguro. Sin embargo, es recomendable que los laboratorios que realicen cultivos líquidos o sólidos y que resulten positivos para M. tuberculosis, descontaminen sus residuos in situ, en consideración a la carga microbiológica y además a la resistencia a antibióticos que podría estar asociada al aislamiento en particular. Por lo anterior, una medida de bioseguridad importante en los laboratorios de TB que realizan cultivos es contar con algoritmos claros de trabajo que apunten a cultivar las mínimas muestras necesarias del paciente ya conocidos y estudiados.

III. EQUIPAMIENTO DE PROTECCIÓN PERSONAL (EPP).



La vestimenta y uso de EPP puede actuar como barrera para reducir diversos riesgos en el laboratorio como la exposición a aerosoles, salpicaduras e inoculación accidental por parte del personal, por lo que se deben seleccionar dependiendo de las características del trabajo que se realiza. Los EPP deben ser portados durante la realización del trabajo técnico asociado a exposición a los riesgos, por lo que tienen que ser correctamente retirados al abandonar el laboratorio, para finalizar con el lavado prolijo de manos. A continuación, se presentan los tipos de EPP utilizados en los laboratorios de TB.

1 Delantales de laboratorio y batas:

Están diseñadas para proteger la ropa de calle del riesgo de contaminación. Los delantales de abertura frontal y manga larga se recomiendan solamente para actividades en las que hay bajo riesgo de infección por *M. tuberculosis*, por ejemplo, durante la lectura de baciloscopias y para el trabajo en las áreas del laboratorio libres de muestras o cultivos de TB (áreas limpias). En las áreas de trabajo microbiológico es recomendable el uso de batas de abertura trasera de tela resistente desechable, con manga larga y puño elástico (longitud mínima 3 mm), el borde inferior de la bata deberá quedar por debajo de la altura del puesto de trabajo, ya sea al trabajar de pie o sentado (Figura 26).

EL USO DE LA BATA AL INTERIOR DEL ÁREA TÉCNICA ES OBLIGATORIO.

Figura 26: Batas de abertura trasera de tela resistente desechable



El uso de las batas se puede extender hasta 1 semana, siempre y cuando no exista riesgo de contaminación o se encuentre dañada. Respecto a su uso en el trabajo en la CSB, se recomienda complementar con una pechera plástica con mangas y ojal para el pulgar como segunda capa (figura 27), con el objetivo de exponer solo la pechera plástica al material infeccioso manipulado al interior de la CSB. Esto permite extender el uso de la bata de tela desechable hasta por 1 semana. El uso de la pechera plástica con mangas se limita solo al trabajo diario en la CSB.

La forma de quitarse la bata de apertura trasera debe realizarse asegurando no exponer al portador a las superficies potencialmente contaminadas, tal como se detalla en la Figura 28. También se debe considerar una zona de vestuario fuera del laboratorio en la que el personal pueda almacenar las



batas nuevas. Como último punto, es importante recordar que deben disponerse batas de reserva en caso de contaminación o daño en las áreas técnicas donde se utilicen.

Figura 27: Pechera plástica con mangas de apertura trasera.



Figura 28: Forma correcta de quitarse la bata de abertura trasera.

Se presenta una secuencia desde el paso 1 hasta el 6 que representa la forma de remover el EPP; en todo momento se debe evitar tocar directamente la superficie expuesta durante el trabajo técnico.



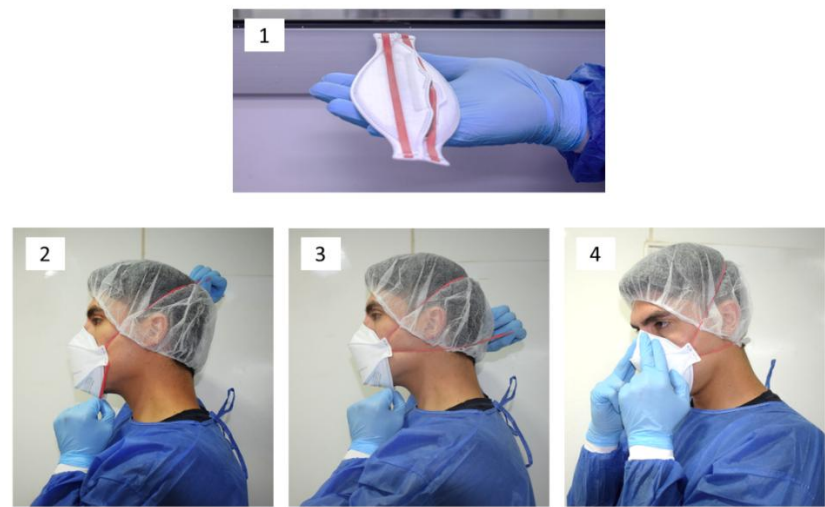
2. Respiradores:

Las mascarillas de ultrafiltración N95, también conocidas como respiradores, se utilizan para proteger quien lo porta del riesgo de inhalación de aerosoles infecciosos. De acuerdo a indicaciones de la OMS, normalmente no se requiere de respiradores para el trabajo en el laboratorio de TB, sin embargo, pueden ser recomendadas luego de una evaluación de riesgos si es que se manipula cultivos positivos. Los respiradores recomendados para el trabajo con cultivos positivos de TB son los N95 (Norma EE.UU. NIOSH N95); son ligeros y desechables, cubren la nariz y la boca, filtrando el 94-



95% de las partículas $\geq 0,3 \mu\text{m}$. El personal que porte respiradores debe ser instruido y capacitado en su correcto uso y estar informado de sus limitaciones. En general, a pesar de los distintos modelos de respiradores, las instrucciones para su postura son comunes a todos. A continuación, en la Figura 29 se ilustra la correcta postura y ajuste de los respiradores en formato plegable.

igura 29: Instrucciones simplificadas de postura y ajuste de respirador N95.



1. Sostener el respirador en la palma de su mano con las correas alineadas adecuadamente.
2. Con una mano se debe ubicar el respirador debajo de la barbilla; con la otra mano, pasar el elástico superior hasta ubicarlo sobre las orejas.
3. Pasar el elástico inferior sobre la cabeza hasta ubicarlo bajo las orejas.
4. Ajustar el borde del respirador en el dorso de la nariz utilizando los dedos de ambas manos.

Nota: Revisar las instrucciones del fabricante para portar adecuadamente el EPP, ya que varían sutilmente con cada modelo disponible.

Cada vez que se use un respirador, debe ser inspeccionado por el usuario para comprobar la integridad del EPP y descartar daños de cualquier tipo. En caso de detectar algún daño, debe ser desechada inmediatamente. Una vez puesto, el usuario no debe tocar la parte frontal. El vello facial o barba, impide el sellado efectivo entre el rostro y el respirador, por lo que el personal con barba no puede portar respiradores, a menos de que se asegure el contacto entre la piel libre de vellos y el todo el borde del respirador (Figura 30).

Figura 30: Vello facial y uso de respiradores.

El uso de barba no debe interrumpir la continuidad del cierre entre el respirador y la piel de quien porta el EPP.



Adaptado de Cichowicz J., Shaffer R., Shamblin M. To Beard or not to Beard? That is a good Question! Niosh Science Blog, Center for Disease Control and Prevention, 2017.



Para remover el respirador se deben seguir las indicaciones del fabricante, que pueden variar de acuerdo al modelo del respirador utilizado. No obstante, el objetivo principal es asegurar que quien porta el EPP no se exponga a la superficie potencialmente contaminada durante el proceso de remover el equipo. En general, se pueden describir una serie de pasos que se esquematizan en la Figura 31.

Figura 31. Forma recomendada para remover el respirador.



1. Sujetar el elástico inferior y pasarlo por sobre la cabeza hasta ubicarlo frente al rostro.
2. Con la otra mano, repetir la misma acción con el elástico superior.
3. Retire el respirador, sujetar desde los elásticos para luego almacenar o eliminar.
4. Finalizar el proceso con el lavado de manos.

Cuidados del respirador

Un respirador puede reutilizarse varias veces durante una semana, siempre y cuando la manipulación del EPP y su almacenamiento sean adecuados. Antes de usar, siempre es necesario verificar cuidadosamente que:

- No hay agujeros.
- La unión de la correa no esté dañada.
- La superficie del respirador esté limpia y no tenga fibras sueltas.
- Las correas no se hayan estirado demasiado.

Es importante considerar que la manera de portar el EPP también impacta directamente en su efectividad, ya que portar incorrectamente el respirador no asegura el sello adecuado con el rostro del usuario (Figura 32).

Figura 32: Errores comunes en el uso de los respiradores.

1. Ambas correas sobre las orejas; 2. Ambas correas bajo las orejas; 3. Correas cruzadas



Para extender el uso del respirador, se puede almacenar en una bolsa de papel con agujeros para permitir que se evapore la humedad. Las bolsas plásticas retienen la humedad en su interior, lo que puede comprometer la integridad del respirador. No se deben almacenar los respiradores en los bolsillos de los usuarios, hay riesgo de que se altere la estructura preformada del respirador y de contaminación de la ropa.

No desinfectar, limpiar ni reparar los respiradores dañados; Si hay daño desechar en un contenedor de desechos biológicos y cambiar por un nuevo respirador.

Prueba de ajuste de un respirador. La prueba de ajuste requiere equipo especializado y personal capacitado, no disponible comúnmente en muchos entornos; además, las diferentes características faciales (formas y tamaños) requerirán una gama de diferentes respiradores para cumplir con los diversos estándares. Sin embargo, el personal que porta el EPP puede verificar de manera sencilla el sello en el contorno que está en contacto con el rostro, tal como se muestra en la Figura 33.

Figura 33 Prueba de ajuste del respirador por el personal de laboratorio.



Es importante destacar que las mascarillas quirúrgicas no son respiradores y no ofrecen protección para el trabajo con aerosoles infecciosos, por lo que no deben emplearse para el trabajo de rutina en los laboratorios de TB como se explica en la Tabla 6.

Tabla 6: Diferencia entre una mascarilla de ultrafiltración y una mascarilla quirúrgica.

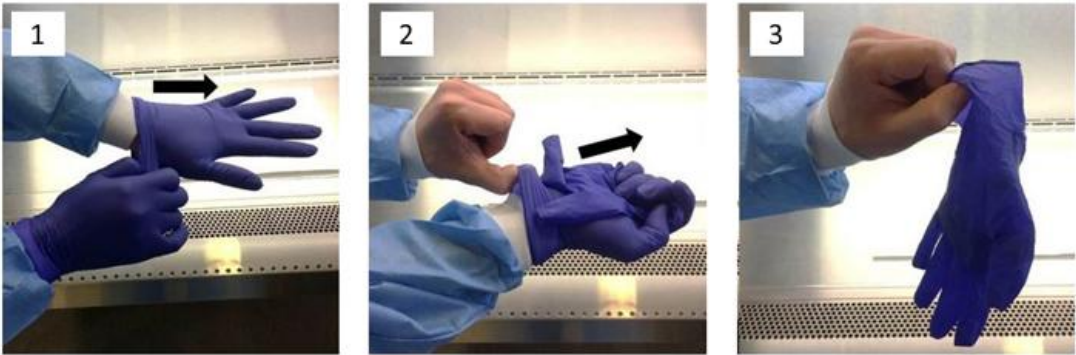
Mascarilla de ultrafiltración N95 o Respirador		Protege al usuario de la inhalación de aerosoles infecciosos (protección contra la inhalación).
Mascarilla quirúrgica		Previene la propagación de los microorganismos desde el usuario (protección de la exhalación).



3. Guantes desechables:

Se utilizan como barrera para impedir el contacto directo con microorganismos. Deben emplearse guantes aprobados para el uso microbiológico durante los procedimientos que involucran contacto directo o peligro de contacto accidental con esputos, sangre, líquidos corporales u otro material potencialmente infeccioso, como cultivos con bacilos tuberculosos. Por lo tanto, el uso de guantes es obligatorio en los laboratorios de riesgo bajo, moderado y elevado. Todo el personal debe tener a su disposición la talla adecuada, asegurando un ajuste cómodo y que cubra las muñecas. Una vez usados, deben ser retirados de manera aséptica y eliminados con los residuos especiales del laboratorio, tal como se indica en la Figura 34.

Figura 34: Indicaciones para remover y eliminar los guantes de las manos.



1. Tomar uno de los guantes por debajo del puño y arrastrar hacia las puntas de los dedos, este movimiento asegura que el guante se enrolle y deje el interior hacia afuera. Esta acción permite que el área expuesta, potencialmente contaminada, quede contenida en el interior
2. Sujetar el guante de la otra mano por debajo del puño en su cara interna, y repetir el movimiento anterior
3. Al deslizar el guante hacia la punta de los dedos, la parte externa del guante (potencialmente contaminada) queda contenida. Luego se puede desechar el EPP en el contenedor de desechos biológicos más próximo y finalizar con el lavado de manos.

Luego de retirar los guantes, el personal debe lavar sus manos minuciosamente con agua y jabón (Figura 35). Esta acción se debe realizar cada vez que se manipule material infeccioso o luego de trabajar en la CSB, y siempre antes de salir del laboratorio.

Figura 35: Pasos para realizar el correcto lavado de manos en los laboratorios. A pesar de que la transmisión de TB ocurre por la vía aérea, el lavado de manos es fundamental en el ambiente de laboratorio clínico y de los establecimientos de salud.



*Adaptado de panel informativo de la Organización Panamericana de la salud
(<https://www.paho.org/es/noticias/17-11-2021-higiene-manos-salva-vidas>).*

4. Protección facial y ocular

Se deben usar anteojos o antiparras de seguridad, gafas protectoras, protectores faciales (visores) u otros dispositivos de protección siempre que sea necesario para proteger los ojos y el rostro de salpicaduras, impacto de objetos y radiación ultravioleta artificial. Su uso está indicado principalmente para la realización de actividades sobre mesón donde se identifica riesgo de salpicaduras durante el manejo de una muestra clínica.

La protección ocular debe limpiarse después de cada uso; si tiene salpicaduras visibles, debe descontaminarse con un desinfectante adecuado. Los anteojos recetados personales no deben usarse como una forma de protección para los ojos, ya que no cubren lo suficiente la cara alrededor de los ojos, particularmente alrededor del costado de la cabeza. Se deben utilizar anteojos de seguridad recetados especializados para el personal con tales necesidades. Algunas antiparras tienen un diseño que permite utilizar en conjunto los anteojos recetados personales.

5. Calzado

El calzado debe tener un diseño que minimice los riesgos de caídas y resbalones, y proteger contra golpes por caídas de objetos. Los zapatos deben cubrir los dedos de los pies, la parte superior de los pies y tener un cierre en la parte posterior del talón de manera que el calzado no se pueda quitar fácilmente.

IV. TRANSPORTE DE MUESTRAS.

El sistema de transporte no debe alterar la calidad de las muestras, y debe estar coordinado de tal manera que no sea un factor de retraso en los tiempos de respuesta de los resultados de las prestaciones diagnósticas realizadas. En el transporte de muestras desde los centros recolectores hacia los laboratorios que realizan PCR o baciloscopia (laboratorio Tipo III), y transporte de cultivos desde los laboratorios que realizan PCR, baciloscopia y cultivo (Tipo II) hacia el laboratorio de referencia (Tipo I, Instituto de Salud Pública) es importante garantizar la seguridad de la persona que transporta y de la población general, junto con garantizar la calidad de la muestra.

En general, el transporte de muestras pulmonares y extrapulmonares y de los cultivos debe cumplir con las siguientes condiciones:

- *Proteger las muestras del calor excesivo. Se recomienda usar unidades refrigerantes para evitar el aumento de la temperatura.*
- *Acondicionar las muestras en forma tal que no haya riesgo de liberación/exposición para las personas o el ambiente.*

Es importante que el transporte de las muestras y/o cultivos se realice en una caja resistente metálica o plástica y a prueba de fugas de líquidos, que contenga una cubierta segura y cierre perfectamente. Debe estar identificada al menos con la siguiente información:

- *Procedencia.*
- *Nombre y número de teléfono del responsable.*



- Advertencia de riesgo biológico.

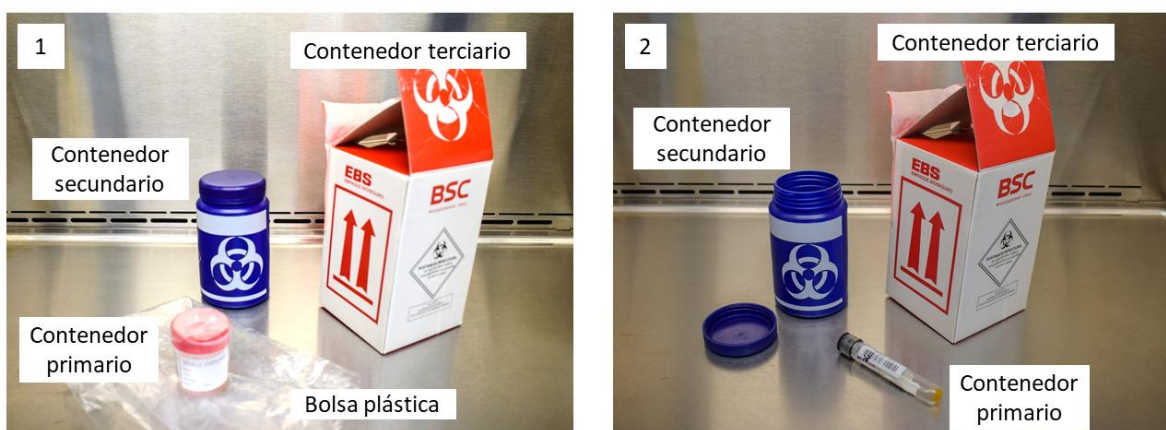
Para el transporte de muestras desde centros recolectores hacia laboratorios tipo III y II, y el transporte interno (por ejemplo, desde servicios clínicos hacia los laboratorios) e interurbano (desde lugares de toma de muestra hacia los laboratorios en los hospitales centrales), se recomienda utilizar un sistema de triple embalaje que asegure la protección de las muestras, contenga derrames y proteja al usuario. Se sugiere seguir las siguientes recomendaciones:

- Utilizar siempre guantes de procedimiento desechables para la manipulación de muestras.
- Transportar por separado las órdenes de las muestras para evitar contaminación por derrames, entre el embalaje secundario y terciario.
- Los recipientes deben ser herméticos, a prueba de fugas de líquido y posibles de descontaminar.

El sistema de triple embalaje (Figura 36) es el recomendado para el envío de muestras desde los centros recolectores, hacia los laboratorios de nivel intermedio, y para el transporte de cultivos positivos desde los laboratorios del nivel intermedio hacia el laboratorio de referencia (Sección Micobacterias en el ISP). Este sistema de embalaje consta de tres componentes: contenedor primario, embalaje o envase secundario y embalaje o envase terciario o externo.

- El contenedor primario es el recipiente que contiene la muestra o cultivo, debe ser hermético, con tapa rosca, estar rotulado claramente en las paredes externas y asegurar su posición vertical durante el traslado. Debe envolverse en material absorbente suficiente para contener el fluido en caso de rotura o fuga.
- El contenedor secundario debe ser impermeable, resistente, posible de descontaminar y debe contener y proteger al recipiente primario. Puede ubicarse varios contenedores primarios en un solo embalaje/ envase secundario, pero deberá incluir material absorbente adicional para contener los fluidos en caso de rotura del paquete.
- El contenedor terciario protege al embalaje/envase secundario de daños físicos durante el transporte. Debe estar debidamente rotulado. Cualquier documento que acompañe a las muestras clínicas, como el formulario de solicitud de examen, debe ser introducido en una bolsa plástica y ubicado entre el embalaje secundario y el terciario.

Figura 36: Sistema de transporte de muestras y cultivos hacia los laboratorios de TB.



1. Triple embalaje para transporte de muestras clínicas, como contenedor secundario se puede utilizar una bolsa plástica hermética o un frasco plástico (en ambos casos se recomienda adicionar material absorbente para contener posibles derrames).



2. Triple embalaje para transporte de cultivos positivos para CMTB, en este caso el contenedor secundario debe ser resistente y a prueba de golpes.

El transporte de muestras y/o cultivos para el diagnóstico bacteriológico de TB se debe abordar también desde una perspectiva de biocustodia, ya que de acuerdo a la OMS son considerados como material biológico valioso. El encargado de laboratorio debe desarrollar procedimientos de control efectivos con el objetivo de identificar la salida y recepción de embalajes terciarios, y el personal responsable de su transporte.

V. MANEJO DE DESECHOS BIOLÓGICOS.

El material infeccioso o potencialmente infeccioso corresponde al principal residuo de un laboratorio de TB. De acuerdo a la clasificación de los Residuos de Establecimientos de Atención de Salud (REAS), las muestras de pacientes y cultivos para diagnóstico de TB pertenecen a la categoría 3 de residuos especiales. El manejo de estos residuos debe realizarse en contenedores o bolsas de color amarillo con la señalética de riesgo biológico visible para el operador para luego ser descontaminado, incinerado o tratado en autoclave.

La incineración es una alternativa al tratamiento en autoclave, siempre que se pueda asegurar que los procedimientos de incineración se siguen de acuerdo a la normativa vigente, lo que implica la existencia de un medio eficiente para controlar la temperatura y una cámara de combustión secundaria (Decreto 29, norma de emisión para incineración, co-incineración y co-procesamiento y deroga decreto nº 45, de 2007). Respecto a la prevención de riesgos laborales, el Decreto Supremo N° 44 del Ministerio del Trabajo y el Decreto Supremo n°594 del Ministerio de Salud indican que el personal que realiza actividades de recolección, selección, transporte y/o eliminación de REAS, debe ser capacitado en relación a los riesgos a los que está expuesto y a las medidas de prevención que debe adoptar.

El tratamiento en autoclave está indicado tanto para esterilizar material limpio como para descontaminar materiales infecciosos; ambas funciones deben realizarse en dos autoclaves independientes y destinados exclusivamente para cada fin. Otros residuos generados en el laboratorio (como las tinciones utilizadas u otros reactivos) deben ser manejados de acuerdo a lo descrito en el Decreto 6 Aprueba reglamento sobre manejo de Residuos de Establecimientos de Atención de Salud.

VI. RESPUESTA FRENTE A DERRAMES BIOLÓGICOS EN EL LABORATORIO DE TB.

En todo establecimiento que trabaje con muestras o cultivos positivos para Complejo M. tuberculosis es imprescindible contar con un plan escrito de preparación para emergencias frente a derrames de muestras o cultivos, que debe complementar al plan de prevención de riesgos indicado en cada establecimiento en particular.

1. Consideraciones generales para el manejo de material contaminado.

Se indican las consideraciones generales para el manejo de residuos, que deben ser tomadas en cuenta por personal que trabaja en laboratorios de riesgo bajo y moderado de TB. El material contaminado corresponde a todo elemento que se utiliza en el área técnica que ha estado en contacto directo con material infeccioso. Estos residuos deberán ser eliminados previa descontaminación con autoclave o incinerador. Idealmente se deberá contar con una autoclave



próxima al área. De lo contrario, el transporte del material contaminado debe ser dentro de un receptáculo sellado, por vías y en horarios de poco tránsito de personas.

Deben utilizarse indicadores de esterilidad en horno y autoclave, en todos los procesos de esterilización y/o descontaminación. Se recomienda el uso de indicadores biológicos y cintas controladoras de exposición a vapor en autoclaves.

Se deben registrar los ciclos de descontaminación y esterilidad consignando: tipo de material, tiempo, temperatura y nombre del funcionario responsable. El material corto-punzante debe ser eliminado en envases resistentes a los pinchazos y cortes y deben ubicarse lo más cercano posible al área del procedimiento.

2. Manipulación de recipientes de muestras con filtraciones y/o derrames:

Durante el transporte de las muestras puede ocurrir el volcamiento de uno o más envases que las contienen. Se deben eliminar los envases que presenten filtraciones y/o derrames y se solicitarán al centro recolector una nueva muestra.

Las muestras deben transportarse al laboratorio en posición vertical para reducir al mínimo las filtraciones y/o derrames.

La integridad de los recipientes que se llevan al laboratorio debe comprobarse a su llegada. Debido al riesgo que presenta esta actividad, siempre se debe portar guantes desechables durante la manipulación de muestras en la recepción de muestras, además se debe disponer de hipoclorito de sodio 0.5% para la descontaminación posterior de las superficies. Se debe llevar un registro de los eventos de derrame ocurridos.

3. Estación de seguridad.

El jefe del laboratorio y/o encargado de bioseguridad serán responsables de mantener una estación de seguridad en caso de derrames, que debe ubicarse fuera del área técnica.

Esta estación debe contener los siguientes elementos:

- *Solución desinfectante. Si se emplea hipoclorito de sodio 2%, se debe preparar en el momento de la limpieza.*
- *Respirador N95 (una caja).*
- *Guantes, disponibilidad de diferentes tallas (una caja).*
- *Batas de laboratorio de abertura trasera (4 a 6 batas desechables).*
- *Toallas de papel absorbente.*
- *Recipiente para eliminar material corto punzante.*
- *Bolsas para residuos especiales.*
- *Pinzas o una pala con cepillo.*
- *Antiparras (dos pares).*

Es importante recordar que se debe verificar que las fechas de vencimiento de los EPP contenidos en el kit se encuentren vigentes, para esto se recomienda planificar una revisión continua de todos los componentes.

4. Derrame biológico fuera de la CSB.



EL DERRAME DE MATERIAL INFECCIOSO FUERA DE UNA CSB SE CONSIDERA UN INCIDENTE GRAVE.

Frente a rotura de tubos con derrame de material contaminado (muestras o cultivos) en superficies del laboratorio, se debe proceder como se indica a continuación:

- El afectado debe contener el aliento por ese instante. Esta acción es crítica, ya que el derrame generará aerosoles infecciosos.
- Notificar al resto del personal y evacuar inmediatamente el laboratorio.
- Cerrar el acceso al área afectada, colocar un letrero que indique “NO ENTRAR” contenido en la estación de seguridad (ver capítulo 6.4).
- Si hubo contaminación de la ropa o en alguna parte del cuerpo, cambiarse el vestuario, lavarse y ducharse.
- En un laboratorio con 6-12 CAH se debe esperar al menos 60 minutos para el reingreso al área. Durante este tiempo, los aerosoles infecciosos son eliminados por el sistema de ventilación del laboratorio.
- El personal responsable de la limpieza del derrame, debe portar los EPP contenidos en la estación de seguridad.
- Ingresar al laboratorio con el kit de limpieza. Cubrir el área afectada con papel absorbente e impregnar con hipoclorito de sodio 2%; dejar actuar por 30 minutos.
- Limpiar de manera circular desde el exterior hacia el interior del área del derrame.
- Con pinzas recoger y eliminar en una bolsa el material contaminado (restos de vidrio, tubos plásticos, papel absorbente, etc.).
- Descontaminar los desechos y los EPP utilizados.
- Registrar el incidente.

El tiempo estimado para la dilución de los aerosoles en el medio ambiente dependerá de los CAH disponibles en cada laboratorio, no obstante, para los laboratorios con 6-12 CAH se define un tiempo de espera de 1 h para asegurar una alta eficiencia de eliminación de aerosoles infecciosos (Tabla 7).

Tabla 7: Estimación de los minutos necesarios para reingresar al área donde ocurre el derrame, considerando los CAH del área.

CAH	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

Adaptado de CDC Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories, Morbidity and Mortality Weekly Report, January 6, 2012.

5. Derrame biológico en el interior de la CSB.

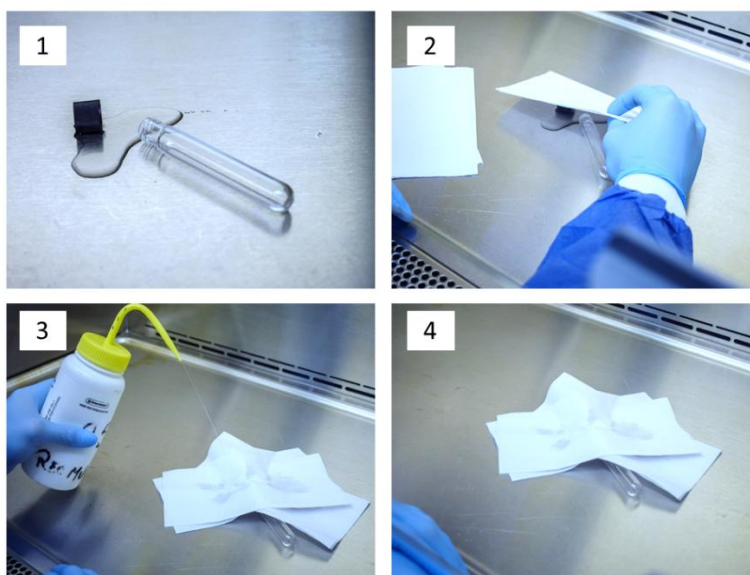


RECORDAR QUE LA CSB ESTÁ DISEÑADA PARA CONTENER LOS AEROSOL
INFECCIOSOS, POR LO QUE, FRENTE A UN DERRAME EN SU INTERIOR, EL PERSONAL
NO DEBE RETIRARSE NI TAMPOCO DETENER EL EQUIPO.

En el caso de producirse un derrame de material infeccioso dentro de la CSB el personal deberá actuar de la siguiente manera:

- Si el derrame ocurre sobre la sabanilla absorbente, se debe cubrir el derrame con material absorbente extra y verter directamente hipoclorito de sodio 2%. Dejar actuar por 15 minutos.
- Si el derrame ocurre fuera de la sabanilla absorbente, cubrir con material absorbente impregnado con hipoclorito de sodio 2%. Dejar actuar por 15 minutos. Limpiar avanzando desde la periferia hacia el centro del derrame con el mismo material absorbente. Eliminar el material infeccioso en el contenedor de material contaminado (Ver Figura 37).
- Desinfectar el área de trabajo y todas las superficies de la CSB con hipoclorito al 0.5% y luego aplicar alcohol al 70% con el objetivo de retirar residuos del cloro que perjudican la superficie de acero inoxidable de la CSB. Desechar los materiales utilizados durante la desinfección en un contenedor de residuos.
- Desinfectar los equipos y materiales aledaños al derrame con alcohol 70%.
- Quitarse los EPP y desecharlos en el contenedor de material contaminado.
- Registrar el incidente y reiniciar el trabajo.

Figura 37: Contención e inactivación de un derrame con solución descontaminante.



1. Derrame de muestras o cultivos.
 2. Cubrir el derrame con material absorbente.
 3. Impregnar con una solución fresca de hipoclorito de sodio 2%.
 4. Dejar actuar durante 15 minutos, luego eliminar el material descontaminado en un contenedor apropiado.
-
6. Rotura de tubos con derrame de material contaminado (muestras o cultivos) en la centrífuga.

El uso de contenedores de seguridad permite contener el derrame, que debe ser atendido en el interior de la CSB.



Se debe proceder como se indica a continuación:

- Descargar el contenedor de seguridad al interior de la CSB.
- Eliminar el/los tubos rotos con pinzas, en un contenedor de material corto punzante.
- Descontaminar los contenedores con alcohol 70° abundante. También puede ser descontaminado en la autoclave.
- Registrar el incidente.

VII. EVALUACIÓN DE RIESGOS Y CLASIFICACIÓN DE LOS LABORATORIOS DE TB.

La Evaluación de riesgos es el término utilizado para describir el proceso sistemático en el que el (los) riesgo (s) que surgen de trabajar con un peligro(s) son evaluados, y la información resultante es utilizada para determinar si se pueden aplicar medidas de control de riesgos, con el objetivo de reducirlos y llevarlos a un nivel aceptable. Es importante reconocer que nunca se alcanzará el “riesgo cero” o ausencia de riesgo ya que implicaría no manipular los peligros en el laboratorio, con lo que no se conseguirían los beneficios para la salud de los pacientes y de la población. Debe tenerse en consideración que luego de la implementación de las medidas de control destinadas a alcanzar el riesgo aceptable, siempre sigue presente un grado de riesgo remanente, conocido como “riesgo residual”. La bioseguridad proporciona el balance que permite realizar las actividades riesgosas en el laboratorio para asegurar (lo más posible) la protección del personal, de la comunidad y del medio ambiente de las exposiciones o liberaciones accidentales de los peligros manipulados.

Los laboratorios de tuberculosis pueden clasificarse, de acuerdo con las actividades técnicas que realicen, en tres niveles de acuerdo con el riesgo de generación de aerosoles infecciosos:

- Riesgo Bajo.
- Riesgo Moderado.
- Riesgo Alto.

La probabilidad de generar aerosoles es un factor determinante a la hora de definir el nivel de riesgo de un laboratorio y las medidas de mitigación o control. Es importante destacar que los laboratorios de riesgo bajo y moderado requieren de instalaciones de nivel 2 de bioseguridad, y las actividades de riesgo alto necesitan de un laboratorio de contención.

La baciloscopia del esputo o expectoración o la realización de la PCR en tiempo real con la plataforma GeneXpert® implica un riesgo reducido de producir aerosoles infecciosos, siempre y cuando se ejecuten con buenas prácticas microbiológicas (como por ejemplo realizar el extendido de manera lenta). Estos procedimientos pueden realizarse a mesón abierto, siempre que se asegure una ventilación direccionada y con renovación constante de aire.

Los procedimientos en los que se tratan muestras, como los que se utilizan durante la descontaminación para la inoculación de cultivos, presentan mayor riesgo de generación de aerosoles, incluso realizadas con buenas prácticas microbiológicas por lo que deben realizarse en el interior de una CSB.

En la Tabla 8 se resumen los niveles de riesgo, actividades de laboratorio y evaluación de riesgo para los laboratorios de TB.

Tabla 8: Niveles de riesgos en los laboratorios de TB de acuerdo a las actividades realizadas.



Nivel de riesgo del laboratorio de tuberculosis	Actividades realizadas en el laboratorio	Evaluación del riesgo
Riesgo Bajo	<i>Baciloscopia directa del esputo; procesamiento de muestras clínicas para PCR en tiempo real con la plataforma GeneXpert®</i>	<i>Bajo riesgo de generación de aerosoles infecciosos desde las muestras clínicas; baja concentración de partículas infecciosas.</i>
Riesgo Moderado	<i>Descontaminación de muestras para la inoculación en medios de cultivo; procesamiento de cultivos positivos para PCR en tiempo real con la plataforma GeneXpert®; utilización del TIC.</i>	<i>Riesgo moderado de generación de aerosoles infecciosos a partir de las muestras; baja concentración de partículas infecciosas.</i>
Riesgo Alto (laboratorio de contención de TB)	<i>Manipulación de cultivos para identificación; estudio de susceptibilidad o ensayos de Biología molecular desde cultivos.</i>	<i>Alto riesgo de generación de aerosoles infecciosos a partir de las muestras; alta concentración de partículas infecciosas.</i>

**TIC: Test rápido Inmunocromatográfico para la detección de CMTB desde cultivos positivos.*
Adaptado de Guía de Bioseguridad de laboratorios de TB OMS 2013.

La toma de muestras de esputo de los pacientes corresponde a una actividad pre-analítica que no debe realizarse en el laboratorio, por lo tanto, no aplican los mismos criterios de bioseguridad. Sin embargo, es importante destacar que el recinto destinado para esta actividad debe proteger tanto al paciente que entrega la muestra, como al resto de personas que circulan en los alrededores. El espacio de toma de muestras pulmonares espontaneas (esputos), contar al menos con las siguientes condiciones:

- Espacio que asegure la privacidad del paciente.*
- Contar con ventilación natural o mecánica. Puede ubicarse al aire libre.*
- Evitar riesgos de exposición a aerosoles por parte del personal de salud y del resto de los consultantes.*

Las muestras recolectadas deben almacenarse en condiciones que aseguren su calidad, hasta el momento del transporte hacia los laboratorios.

1. LABORATORIOS DE TB DE RIESGO BAJO.

Los laboratorios de TB de bajo riesgo que cumplen con los requisitos mínimos de bioseguridad que se describen en esta guía, pueden realizar en condiciones de seguridad los procedimientos con muestras de esputo, dado que el carácter viscoso de éste no favorece la generación de aerosoles cuando se utilizan buenas prácticas microbiológicas. Los laboratorios de bajo riesgo pueden:

- Manipular muestras de esputo para la baciloscopia directa.*
- Manipular muestras de esputo para prueba automatizada de amplificación de ácidos nucleicos.*



Si bien, al abrir los recipientes con muestras y preparar una baciloscopia o prueba automatizada de amplificación de ácidos nucleicos puede producir aerosoles, el riesgo de transmisión que implica este procedimiento es reducido en comparación con los aerosoles que se producen, por ejemplo, en un solo golpe de tos o estornudo no contenido directamente desde un caso presuntivo de TB.

a) Factores que aumentan el riesgo de infección

Las siguientes situaciones son ejemplos de actividades que aumentan el riesgo de infección en un laboratorio de tuberculosis de bajo riesgo:

- Uso inadecuado de las áreas de trabajo.
- Filtración y derrames de los recipientes con muestras.
- Inadecuada manipulación de muestras, lo que puede generar aerosoles durante su procesamiento.
- Agitación enérgica de las muestras.
- Insuficiente ventilación o iluminación en la sala de procedimientos técnicos.

b) Medidas de bioseguridad mínimas y características específicas en el laboratorio.

En un laboratorio de TB de bajo riesgo deben establecerse los siguientes requisitos de bioseguridad para hacer frente a riesgos potenciales concretos como los mencionados anteriormente.

c) Uso de las áreas de trabajo.

El área técnica utilizada para procesar las muestras para baciloscopia, prueba automatizada de amplificación de ácidos nucleicos y recepción de muestras debe estar separada de las zonas administrativas utilizadas para las actividades de gestión y/o lectura de baciloscopia.

d) Ventilación y flujos de aire unidireccional.

Los frotis realizados directamente en muestras de esputo y el tratamiento de muestras para el ensayo Xpert® MTB/RIF ULTRA y XDR pueden realizarse en un mesón de trabajo que se encuentre en una zona debidamente ventilada, siempre que se utilicen técnicas microbiológicas apropiadas.

La ventilación adecuada para los laboratorios de TB se describe típicamente como un flujo de aire unidireccional con 6 a 12 CAH (Anexo 2. Ventilación). El flujo de aire unidireccional se refiere al aire que fluye de las zonas limpias hacia las zonas en las que pueden generarse aerosoles; ese aire debe extraerse de manera segura de la habitación. La expresión «cambio de aire por hora (CAH)» se refiere al número de veces que el volumen de aire de la habitación se evacúa y se sustituye por aire limpio cada hora.

**RECOMENDACIONES PARA REDUCIR EL RIESGO DE INFECCIÓN EN
LABORATORIOS DE TB DE RIESGO BAJO**

LABORATORIOS QUE PROCESAN MENOS DE 30 BACILOSCOPIAS O PRUEBA AUTOMATIZADA DE AMPLIFICACIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS DIARIAS, SE RECOMIENDA REALIZAR EL TRABAJO TÉCNICO EN UNA SALA CON VENTILACIÓN NATURAL ADECUADA O MESÓN ABIERTO CON USO DE MECHERO.

LABORATORIOS QUE PROCESAN MÁS DE 30 BACILOSCOPIAS O PRUEBA AUTOMATIZADA DE AMPLIFICACIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS DIARIAS, SE RECOMIENDA REALIZAR EL TRABAJO TÉCNICO EN UN GBS CLASE II A2.

Solo deben instalarse climatizadores una vez que se haya examinado la dirección del flujo de aire. Es importante asegurar que el aire del laboratorio circule de modo que se aleje del personal técnico. Los puestos de trabajo ventilados son otra posibilidad que puede tenerse en cuenta para la contención de aerosoles durante la baciloscopia del esputo o el ensayo Xpert® MTB/RIF ULTRA y XDR para aquellas situaciones en las que la ventilación natural o mecánica no resulte práctica.



e) Reducir al mínimo la generación de aerosoles.

Como ya se ha discutido anteriormente la preparación de muestras de esputo para la baciloscopia o para el ensayo Xpert® MTB/RIF ULTRA y XDR en teoría tiene el potencial de generar aerosoles. Sin embargo, dado que las muestras de esputo suelen ser viscosas, la generación de aerosoles puede reducirse al mínimo utilizando buenas técnicas microbiológicas:

- Al abrir los recipientes de muestras debe procederse con precaución, pues pueden haber sido agitados durante su transporte al laboratorio, con riesgo de derrame al retirar la tapa.
- Debe evitarse que el material infeccioso salpique cuando se secan los frotis. Es preferible que los frotis se sequen a temperatura ambiente y utilizar calor para fijarlos solo cuando estén completamente secos.
- El extendido de la muestra debe ser lento y cuidadoso (detrás del mechero cuando se trabaja sobre el mesón). Esta es la etapa que implica un mayor riesgo, por la cantidad de aerosoles que se producen.
- Si se realizan procedimientos técnicos dentro de una CSB se debe delimitar el área de trabajo con un trozo de papel absorbente impregnado en desinfectante, con el objetivo de contener las posibles salpicaduras.

2. LABORATORIO DE TB DE RIESGO MODERADO.

Los requerimientos son los mismos que para los laboratorios que realizan sólo baciloscopia y pruebas moleculares rápidas, además de disponer de CSB Clase II A2, se debe agregar:

- Utilizar pipeta Pasteur plástica desechable para trasvasar la muestra.
- Utilizar tubos tapa rosca para evitar apertura y dispersión de aerosoles.
- Sembrar con pipeta Pasteur plástica desechable.
- Centrifugar las muestras líquidas en tubos o contenedores con tapa rosca.
- Trasladar los tubos sembrados en cajas, en un número que no implique riesgo de caída.

Para transportar las muestras, se debe disponer de un carro metálico auxiliar con ruedas y que en la parte superior tenga bordes, para evitar la caída de las cajas. El personal debe estar consciente del peligro y preparado para tomar medidas correctivas. Para esto, ambos procedimientos requieren contar con capacitaciones sobre cómo actuar en caso de accidentes.

Las recomendaciones descritas en este capítulo son los requisitos mínimos necesarios para limitar o reducir los riesgos de infección en los laboratorios que realizan procedimientos concretos que se consideran con riesgo moderado de propagar la tuberculosis. Pueden considerarse necesarias otras medidas después de una evaluación de riesgos del lugar concreto. Los laboratorios de riesgo moderado que aplican los requisitos mínimos de bioseguridad descritos en el presente capítulo pueden realizar en condiciones seguras ciertos procedimientos que implican un riesgo moderado de aerosolización de muestras con una concentración relativamente reducida de partículas infecciosas.

Los laboratorios de riesgo moderado pueden:

- Realizar las mismas actividades que los laboratorios de bajo riesgo (baciloscopia y prueba automatizada de amplificación de ácidos nucleicos).
- Tratar muestras para la inoculación en medios de cultivo sólido y líquido.

a) Factores que aumentan el riesgo de infección



Además de los riesgos generales que se abordan mediante las medidas de seguridad descritas previamente, en el laboratorio de TB clasificado de riesgo moderado también pueden presentarse las siguientes situaciones que aumentan el riesgo:

- Trabajar en zonas con ventilación y/o iluminación deficiente.
- Mantenimiento inadecuado o falta de certificación de las CSB.
- Conductos mal instalados en las CSB.
- Presencia de polvo en el entorno de trabajo que obstruye los filtros HEPA de la CSB.
- Falta de precaución en la manipulación de las muestras, lo que puede producir aerosoles.
- Utilización indebida del agitador vórtex (por ejemplo, si se utiliza fuera de la CSB).
- Roturas o fugas de los recipientes que contienen las muestras durante las operaciones de centrifugación.
- Abertura de las cubetas de la centrífuga fuera de la CSB.
- Falta de advertencias adecuadas respecto de los peligros biológicos o información sobre la persona de contacto durante una emergencia.

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

b) Medidas de bioseguridad mínimas y características específicas en el laboratorio.

En los laboratorios donde existe un riesgo moderado de infección hay dos niveles de contención: la CSB (contención primaria) y la planta física del laboratorio (contención secundaria). Para hacer frente a los riesgos específicos asociados a un laboratorio de riesgo moderado, se establece como una medida de mitigación y control el uso de la CSB para todas las operaciones de tratamiento y digestión de las muestras clínicas y la manipulación de muestras de esputo licuado.

La CSB es la forma primaria de contención mientras las muestras están siendo tratadas para la inoculación de cultivos. Por consiguiente, una buena técnica microbiológica y el uso adecuado de la CSB son fundamentales para que el trabajo se realice en condiciones de seguridad. El uso indebido de una CSB permite que se liberen aerosoles al laboratorio (Véase el capítulo II-1 para más información sobre las CSB).

c) Ventilación.

La barrera secundaria de contención de aerosoles incluye la infraestructura del laboratorio y el sistema de ventilación. La ventilación se consigue manteniendo un flujo de aire unidireccional desde las áreas limpias hacia las sucias, asegurando un mínimo de 6 a 12 CAH gracias a la instalación de un sistema de inyección y extracción de aire que se adecue a las necesidades de la planta física del laboratorio. El sistema de ventilación del edificio debe estar construido de tal manera que en un laboratorio de riesgo moderado el aire no se recicle en otras zonas del edificio.

Un método sencillo de crear un flujo de aire unidireccional se consigue mediante el uso de acopladores tipo dedal en las CSB del laboratorio. Para esto, se debe instalar una celosía o rejilla de ventilación en la puerta de ingreso al laboratorio, para que permita el ingreso de aire hacia las zonas limpias del laboratorio y continúe hacia las zonas sucias donde se ubica la CSB; el aire limpio expulsado desde la CSB continua su evacuación a través del sistema de ventilación del laboratorio hacia el medio ambiente. En consecuencia, se consigue un flujo pasivo de aire unidireccional desde las zonas limpias hacia las sucias, siempre y cuando la CSB se encuentre en funcionamiento.

Puede instalarse un ventilador externo con o sin conexión al estado de funcionamiento de la cámara. La mejor solución es que el ventilador externo tenga un interruptor independiente de la CSB, o



acoplarlo con un circuito de relé de modo que el ventilador exterior siga funcionando durante un tiempo determinado después de que se haya apagado la CSB, a fin de asegurar que todo el aire evacuado de esta se lleva al exterior. La principal ventaja de una CSB con conexiones en dedal es que no es preciso realizar ajustes en la cámara y que la dirección del aire que circula desde el laboratorio hasta el exterior se mantiene constante. Debe instalarse un dispositivo de control visual con o sin alarma de modo que el personal pueda asegurar en todo momento que se mantiene el debido flujo de aire direccional en el laboratorio.

Cuando el aire evacuado del laboratorio se expulse al exterior del edificio, deberá dispersarse de modo que se aleje de edificios ocupados y entradas de aire. En los laboratorios de TB de riesgo moderado las ventanas se mantendrán cerradas en todo momento.

d) Equipo de protección personal.

Cada laboratorio debe evaluar sus riesgos (valorando las actividades y la carga de trabajo del laboratorio, la epidemiología local de la TB y TB resistente) y decidir cuál es el grado apropiado de protección para el personal. En estos laboratorios el personal llevará en todo momento batas de laboratorio y guantes de protección los que deberán cambiarse con frecuencia.

Durante el tratamiento de las muestras se realizan procedimientos que las licúan, lo que aumenta la probabilidad de que se generen aerosoles. En estricto rigor, no se necesitan respiradores siempre que las muestras se traten dentro de una CSB debidamente mantenida y utilizando buenas técnicas microbiológicas. Los respiradores no deben considerarse como una alternativa a las CSB. El uso de este EPP debe respaldarse por una robusta evaluación de riesgos para cada laboratorio.

e) Diseño del laboratorio.

El laboratorio debe estar separado de las zonas abiertas al tránsito sin restricciones dentro del edificio. Debe disponerse un lugar para lavarse las manos en las proximidades de la salida del laboratorio.

f) Descontaminación y eliminación de desechos.

Todos los desechos infecciosos deben ser retirados de los laboratorios de riesgo moderado para eliminarlos de manera segura. Los desechos se transportarán en bolsas o recipientes de plástico cerrados siguiendo la normativa vigente. Todo material que se reutilice debe descontaminarse en la autoclave antes de retirarlo del laboratorio.

g) Reducción al mínimo de la generación de aerosoles.

La capacitación del personal incluirá siempre información sobre los métodos más seguros que deben utilizarse en los procedimientos de cultivo, a fin de prevenir la generación e inhalación de aerosoles generados cuando se utilizan asas y pipetas, se abren recipientes de muestras, se manipulan recipientes dañados o con fugas, en la centrífuga y en los agitadores vórtex. Se recomienda utilizar asas y pipetas Pasteur desechables estériles. Las centrífugas deben llevar cubetas de seguridad o rotores de contención. El material infeccioso puede ser centrifugado en el laboratorio utilizando los contenedores de seguridad cerrados y estos contenedores ser cargados y descargados dentro de una CSB.



ANEXO 1. EVALUACIÓN DE RIESGOS.

Las Infecciones Adquiridas en Laboratorios (IAL) siguen siendo una preocupación en la actualidad. Si bien los reportes de IAL son casi inexistentes para su análisis (tanto en nuestro país como a nivel mundial), siguen siendo mencionados en guías internacionales como un problema latente. Lo anterior obliga a trabajar en los temas de bioseguridad y en el compromiso de los directivos, para su implementación en las políticas de seguridad para los trabajadores.

El riesgo de infección está asociado típicamente con defectos de diseño del laboratorio y/o a la falta o insuficiencia de procedimientos de seguridad y capacitación adecuados. Promover una cultura organizacional de la evaluación sistemática de todos los procesos y procedimientos de trabajo para identificar los riesgos asociados e implementar planes para mitigar dichos riesgos es la forma de fomentar una cultura de seguridad.

El jefe del laboratorio es el responsable de la identificación de los posibles peligros, evaluar o encomendar a personal idóneo la evaluación de los riesgos asociados a ellos y establecer las precauciones, equipos, instalaciones y procedimientos estandarizados para minimizar la exposición de los funcionarios del laboratorio a esos riesgos.

Las precauciones del laboratorio en materia de bioseguridad deben revisarse periódicamente y modificarse cuando proceda, particularmente después de la introducción de nuevos procedimientos o técnicas.

Para garantizar que el trabajo se realice en las condiciones más seguras, los resultados de las evaluaciones periódicas del riesgo deben determinar el equipo de laboratorio apropiado, los EPP y las características de diseño de las instalaciones que han de incorporarse respecto de cada procedimiento o actividad específica que se lleva a cabo en el laboratorio.

1. Evaluación de riesgos en los laboratorios de TB

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

En la evaluación de riesgos en un laboratorio de TB se tiene en cuenta lo siguiente:

- *La carga bacteriana de la matriz analizada (como las muestras de esputo, muestras extrapulmonares y los cultivos) y la viabilidad de los bacilos tuberculosos.*
- *La vía de transmisión de la tuberculosis.*
- *Si la matriz analizada y las manipulaciones necesarias en cada actividad, tienen probabilidad de generar aerosoles infecciosos. La cantidad de eventos que impliquen las manipulaciones de material infeccioso que puedan generar aerosoles.*
- *La carga de trabajo del laboratorio y de cada uno de sus trabajadores.*
- *La ubicación del laboratorio de TB dentro del laboratorio central.*
- *La epidemiología de la enfermedad y la población de pacientes que atiende el laboratorio.*
- *El nivel de experiencia y la competencia de los técnicos del laboratorio.*



- *El estado de salud de los trabajadores del laboratorio (en especial los técnicos seropositivos para el VIH, embarazo y tratamientos inmunosupresores).*

A continuación, se presentan algunos conceptos relacionados con el riesgo (se puede revisar la Figura 4 para visualizar la relación de cada uno):

- 1. Riesgo (de un incidente de laboratorio):** *La probabilidad de un incidente (es decir, la exposición a y / o liberación de un agente biológico) que se produce en el curso del trabajo de laboratorio. Las rutas de infección son específicas del entorno del laboratorio y no se ven comúnmente en la comunidad en general.*
- 2. Riesgo aceptable:** *El riesgo que se considera aceptable y permite que el trabajo continúe, en base al beneficio esperado de las actividades planificadas.*
- 3. Riesgo alto:** *El riesgo de generar aerosoles infecciosos durante la manipulación de cultivos; alta concentración de partículas infecciosas.*
- 4. Riesgo bajo:** *El riesgo de generar aerosoles infecciosos a partir de muestras clínicas; baja concentración de partículas infecciosas.*
- 5. Riesgo inicial:** *Riesgo asociado con las actividades o procedimientos de laboratorio que se llevan a cabo.*
- 6. Riesgo moderado:** *El riesgo de generar aerosoles infecciosos a partir de muestras clínicas; baja concentración de partículas infecciosas.*
- 7. Riesgo residual:** *Peligro que permanece después de que se han seleccionado cuidadosamente las medidas de control de riesgo. Si el riesgo residual no es aceptable, puede ser necesario aplicar medidas de control de riesgos adicionales o detener la actividad del laboratorio.*
- 8. Riesgo:** *Una combinación de la probabilidad de que ocurra un incidente y la gravedad del daño (consecuencias) si este se produce.*

Además, es preciso tener en cuenta la capacidad del personal del laboratorio para controlar los peligros. Esa capacidad dependerá de su competencia, su pericia técnica y las prácticas microbiológicas de todos los técnicos del laboratorio; la integridad operacional del equipo de contención; los sistemas de protección del establecimiento, y la disponibilidad y el uso correcto de los debidos procedimientos estandarizados.

2. Identificación de peligros

Se denomina “peligro” a todo aquello que tenga potencial para provocar daño, con independencia de la probabilidad de que ocurra. Puede tratarse de una situación física (como un incendio o una explosión), una actividad (como el uso de pipetas) o un material (como aerosoles que contienen bacilos infecciosos).

A menos que se identifiquen eficazmente los peligros, no es posible evaluar de manera precisa los riesgos asociados al laboratorio y a sus actividades. El peligro de mayor riesgo en los laboratorios de TB corresponde a los aerosoles infecciosos (contienen M. tuberculosis). En la Tabla 9 se indican algunas de las características pertenecientes a M. tuberculosis, que deben ser tomadas en cuenta para la evaluación de riesgos.

Tabla 9: Consideraciones a tener en cuenta para realizar una evaluación de riesgos en el trabajo con M. tuberculosis.



Factores a tener en cuenta en los laboratorios de TB	Consideraciones
Patogenicidad.	• Tasa de mortalidad de 30-50% en pacientes con TB no tratada. • 30% de personas sometidas a exposición prolongada a paciente con TB activa se infectan. • 5-10% de infectados desarrollan la enfermedad.
Dosis infectiva.	Se estima que en el ser humano es de 10 bacilos por inhalación (cifra extrapolada de estudios en animales).
Vía de transmisión primaria.	Inhalación de aerosoles infecciosos.
Vía de transmisión secundaria (raras en laboratorio).	Ingestión, inoculación directa.
Estabilidad.	Los bacilos tuberculosos pueden seguir viables por mucho tiempo en el medio ambiente.
Susceptibilidad a enfermar de las personas inmunocompetentes.	5-10% de las personas inmunocompetentes infectadas contraen TB a lo largo de su vida.
Susceptibilidad a enfermar de las personas inmunodeficientes.	5-10% de las personas inmunodeficientes infectadas contraen TB por año.
Exposición.	La mayor proximidad física, frecuencia y duración aumentan el riesgo de transmisión.
Vacuna eficaz.	Ninguna disponible hasta la fecha.
Tratamiento eficaz contra cepas sensibles a distintos fármacos.	Sí.
Tratamiento eficaz contra cepas MDR.	Sí, pero más difícil de tratar que cepas sensibles.
Tratamiento eficaz contra cepas XDR.	Sí, pero más difícil de tratar que cepas sensibles.

3. Determinación de los riesgos.

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

4. Vigilancia de los riesgos y medidas de mitigación.

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



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

- Inicio de nuevos trabajos o cambios en el programa de trabajo, o alteraciones en el flujo o el volumen de trabajo.
- Personal nuevo.
- Nueva construcción o modificaciones en los laboratorios, o introducción de nuevos equipos.
- Modificaciones en los procedimientos estandarizados o las prácticas de trabajo (por ejemplo, cambios en los protocolos de desinfección o gestión de desechos, suministro y uso de equipo de protección personal, cambios en los protocolos de entrada o salida).
- Un incidente en el laboratorio (por ejemplo, un derrame importante).
- Pruebas o sospecha de una infección adquirida en el laboratorio.
- Examen de las respuestas de emergencia y los requisitos de planificación de contingencias.
- Proceso existente de examen del sistema de gestión (por ejemplo, frecuencia anual u otra apropiada y previamente determinada).

5. Programa de salud ocupacional para los trabajadores.

Los programas de salud ocupacional para los empleados deben promover un lugar de trabajo seguro y saludable. A continuación, se mencionan medidas que deben implementarse para dicho fin:

- Reducir al mínimo la posibilidad de exposición.
- Debe estudiarse la posibilidad de realizar un examen médico inicial para todo el personal antes de que comience a trabajar en el laboratorio de TB, incluso antes de realizar cualquier trabajo o prácticas en centros de salud, también se debe prever exámenes periódicos.
- El personal médico que presta servicios de salud ocupacional debe conocer debidamente la naturaleza de los potenciales riesgos de salud en los laboratorios de TB y contar con expertos a los que consultar.
- Los servicios médicos deben estar fácilmente accesibles para permitir una evaluación y un tratamiento oportuno y apropiado.
- Incluir las instrucciones descritas en la norma técnica del PROCET vigente.

6. Recomendación sobre cómo realizar una evaluación de riesgo de un laboratorio de TB.

La evaluación de riesgos es un proceso subjetivo que exige tener en cuenta las características peligrosas de los microorganismos y los procedimientos; en ocasiones, los juicios se basan en información incompleta. Una evaluación de riesgos es un examen minucioso de aquello que puede ser nocivo para las personas en el lugar de trabajo; esto permite valorar si se han adoptado las suficientes precauciones o es preciso incorporar otras nuevas para prevenir daños. Los trabajadores y otras personas del laboratorio tienen derecho a estar protegidos de los daños provocados por no adoptar medidas de control razonables, tal como lo explicita la Ley 16.744 y el Decreto supremo n°44 de 2023, aprueba reglamento sobre prevención de riesgos profesionales.

Aunque no existe un enfoque normalizado para realizar una evaluación de riesgos, se pueden seguir los pasos que se enumeran a continuación para orientar el proceso.

a) Determinar los peligros intrínsecos.

Las distintas cepas de *M. tuberculosis* conllevan distintos niveles de peligro individual y colectivo. Las cepas resistentes, en particular las MDR y las XDR, suponen mayores riesgos debido a los daños más



graves que causarían en una persona infectada, ya que los tratamientos son más largos, pueden llegar a ser limitados, de mayor costo y menos eficaces. Los laboratorios que trabajan con estas cepas deben establecer precauciones de mayor nivel.

b) Decidir quién puede resultar afectado y cómo.

Los principales riesgos de procedimiento en un laboratorio de TB guardan relación con la generación de aerosoles que podrían ser inhalados por los trabajadores. Esos aerosoles están asociados a ciertas actividades que tienen más probabilidades de generarse según la frecuencia de realización de pruebas o la carga de trabajo, la uniformidad del material y su propensión a generar aerosoles (por ejemplo, muestras líquidas viscosas frente a muestras sólidas secas), la carga bacilar de los materiales empleados y la viabilidad de los bacilos. También es importante reconocer que la susceptibilidad a la TB entre el personal del laboratorio puede variar. Las personas con inmunidad reducida, a causa de ciertos fármacos, la infección por el VIH o el embarazo, pueden generar un mayor riesgo de infección. Si en un laboratorio de TB trabajan personas inmunodeficientes, es importante consultar con un médico especializado en riesgos ocupacionales que tenga conocimientos sobre la TB.

c) Evaluar los riesgos y decidir las precauciones, de acuerdo a lo expuesto en este Anexo.

d) Determinar la idoneidad de la planta física.

La determinación final del nivel apropiado de riesgo de TB y de cualquier otra precaución que pudiera ser necesaria requiere un conocimiento completo de las prácticas, el equipo de seguridad y las medidas de protección presente en las instalaciones. Si una evaluación de riesgos indica que es preciso alterar las medidas de bioseguridad específicas para el nivel seleccionado de riesgo de TB, un profesional con experiencia en gestión de riesgos biológicos debe validar este juicio de manera independiente y proporcionar al jefe del laboratorio información y recomendaciones pertinentes antes de reforzar la barrera secundaria de las instalaciones.

e) Evaluar la competencia del personal en el empleo de prácticas seguras.

La protección del personal del laboratorio y otras personas asociadas a este, dependerá en última instancia de ellos mismos. En la realización de una evaluación de riesgos, la jefatura del laboratorio debe asegurar que los trabajadores hayan adquirido las competencias técnicas necesarias en el empleo de buenas prácticas microbiológicas, que cuenten con el equipo necesario para la manipulación en condiciones de seguridad de material potencialmente infeccioso, y que han desarrollado hábitos que sostienen la excelencia en la realización de esas prácticas. Asegurarse de que la persona es competente, tiene experiencia en la manipulación de agentes infecciosos, sabe utilizar técnicas de desinfección, CSB y tiene la capacidad de responder en caso de emergencia, además de estar dispuesta a aceptar la responsabilidad de protegerse a sí mismo y a otras personas, supone una importante garantía de que un técnico de laboratorio es capaz de trabajar de forma segura.

f) Evaluar la integridad del equipo de seguridad.

El jefe del laboratorio debe asegurar que se dispone del equipo de seguridad necesario, y que este ha sido certificado por un profesional calificado en cuanto a su correcto funcionamiento; además, debe velar por la integridad del equipo y que este sea verificado periódicamente. Por ejemplo, una CSB que no ha sido certificada representa un riesgo potencialmente grave para los trabajadores que



lo utilizan y para otras personas del laboratorio. Además, debe instruirse a los trabajadores del laboratorio para que realicen pruebas sencillas a diario con el fin de cerciorarse de que el equipo de laboratorio funciona debidamente. Por ejemplo, deben verificar que las tapas de las cubetas de la centrífuga no están agrietadas, que los sellos estén en buen estado. Todos los días se debe verificar que el aire de entrada a la CSB tiene la dirección correcta.

g) Anotar las observaciones y tomar las medidas necesarias.

Las observaciones de la evaluación de riesgos y las precauciones que hay que adoptar deben quedar documentadas como parte del sistema de calidad. Los resultados de la evaluación de riesgos mostrarán que se realizó una comprobación correcta y se habrá identificado a las personas expuestas por realizar determinados procedimientos. Aunque algunos peligros como la producción de aerosoles no pueden eliminarse por completo en el laboratorio de TB, hay que aplicar precauciones razonables que hagan que el riesgo residual sea lo más bajo posible.

h) Revisar la evaluación y actualizarla en caso necesario.

Periódicamente deben revisarse los procedimientos y prácticas que tengan potencial de riesgo; esto debe convertirse en un protocolo estandarizado con el fin de promover y establecer prácticas de laboratorio seguras. Las medidas de bioseguridad que ya existan se revisarán al menos una vez al año; se modificarán siempre que sea necesario después de una evaluación del riesgo, y siempre después de la introducción de un nuevo procedimiento o técnica, cambio en planta física o ingreso de nuevos integrantes al equipo de trabajo en el laboratorio.

ANEXO 2.

DETERMINACIÓN DE LAS NECESIDADES DE VENTILACIÓN.

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

- Tasa de ventilación – cantidad de aire exterior que entra en el laboratorio.
- Dirección del flujo de aire – dirección general del aire que circula en el laboratorio y que debe dirigirse desde las zonas funcionalmente limpias a las zonas sucias.
- Diseño del flujo de aire – el aire exterior debe llegar a cada zona del laboratorio y ser evacuado de esta de manera eficiente. Para ventilar un laboratorio pueden utilizarse tres métodos: natural, mecánico e híbrido (mixto).

1. Ventilación natural.

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

2. Ventilación mecánica.



Pueden instalarse ventiladores mecánicos en las ventanas o las paredes, o instalarse en conductos que extraen el aire del laboratorio. Se considera que los sistemas de ventilación mecánica son fiables a la hora de conseguir la tasa deseada de flujo de aire, con independencia del efecto de los vientos variables y la temperatura ambiente. La ventilación mecánica puede utilizarse con un sistema de climatización para controlar la temperatura y la humedad. Como alternativa, la ventilación mecánica se puede conseguir también utilizando puestos de trabajo ventilados.

3. Ventilación híbrida (mixta).

La ventilación híbrida depende de las fuerzas naturales para obtener la tasa de flujo de aire deseada. La ventilación mecánica se activa cuando el flujo de la ventilación natural es demasiado bajo y no consigue el mínimo de recambios de aire; en este caso, pueden instalarse extractores para aumentar la ventilación en los laboratorios que realizan baciloscopia o PCR en tiempo real, por ejemplo. Sin embargo, los ventiladores deben instalarse de modo que el aire de la sala pueda ser expulsado directamente al exterior, a través de una pared o del techo. El número y el tamaño de extractores necesarios depende de la tasa de ventilación deseada, que debe calcularse antes de emplear este método.

4. ¿Cómo determinar la ventilación adecuada en un laboratorio de TB que utilice ventilación mecánica?

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

- Identificar la(s) salida(s) o de los extractores de aire.
- Cubrirlas con un trozo de cartón que tenga una abertura de 10 cm x 10 cm.
- Medir la velocidad del aire saliente con un anemómetro.
- Calcular la tasa volumétrica del flujo de aire en cada puerto de salida de aire según la siguiente fórmula:

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

Q = tasa volumétrica del flujo de aire en m³/h
V = velocidad del aire en m/s
A = superficie de la abertura en m² (por ejemplo, 10 cm [0,1 m] x 10 cm = 0,01 m²) 3600 = conversión de horas en segundos;

- Sumar los resultados de todas las salidas de aire de la sala.
- Medir el volumen de la sala.

Vol. = Longitud x Anchura x Altura = m³ (medida en metros);

- Calcular los intercambios de aire por hora CAH = Q/Vol.

Las mediciones de los CAH cuando se utiliza ventilación natural son muy variables para dar una medida fiable de la ventilación. En su lugar es preferible utilizar el flujo de aire direccional para proporcionar condiciones de trabajo seguras. Asegurar que el aire fluye alejándose del trabajador, atraviesa la zona de trabajo donde hay material potencialmente infeccioso y se aleja de las zonas



ocupadas de la sala debe ser suficiente protección frente a los aerosoles generados en la zona de trabajo.

¿Cómo calcular el número de intercambios de aire por hora en un laboratorio que utilice una CSB con conexiones de dedal?

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

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

BIBLIOGRAFÍA

1. Acid-fast direct smear microscopy training package. Atlanta, GA, Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, 2006.
2. Actualización DS N°745, "Reglamento sobre condiciones sanitarias y ambientales básicas en los lugares de trabajo". DISAM, Ministerio de Salud, octubre 1998.
3. Barry M, Russi M, Armstrong L, Geller D, Tesh R, Dembry L, et al. Brief report: treatment of a laboratory-acquired *Sabiá* virus infection. *N Engl J Med*. 1995 Aug3;333(5):294-6. doi: 10.1056/NEJM199508033330505
4. Biorisck Managment: Laboratory biosecurity guidance, Organización Mundial de la Salud 2006.
5. Bioseguridad en Unidades Hemoterápicas y Laboratorios de Salud Pública, -Brasilia: Ministerio de salud, programa nacional de ETS y SIDA.
6. Boletín Oficina Sanitaria Panamericana 118 (2) 1995. Instantáneas Pag. 156.
7. Bouza E, Sánchez-Carrillo C, Hernán Gómez S, González MJ. Laboratory-acquired brucellosis: a Spanish national survey. *J Hosp. Infect.* 2005 Sep;61(1):80-3. doi: 10.1016/j.jhin.2005.02.018
8. CDC, Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories Recommendations of a CDC-Convened, Biosafety Blue Ribbon Panel Supplement/Vol.61 January 6, 2012.
9. Cichowicz J., Shaffer R., Shamblin M. To Beard or not to Beard? That's a good Question! Niosh Science Blog, Center for Disease Control and Prevention. Noviembre 2, 2017.
10. Colditz G. A. Brewer TF, Berkey CS, et al. "Efficacy of BCG vaccine in the prevention of Tuberculosis: Meta – Analysis of Published literature *Jama* 1994; 271; 698 – 702.



11. Decreto 6 Aprueba reglamento sobre manejo de Residuos de Establecimientos de Atención de Salud (REAS)
12. Decreto 29, norma de emisión para incineración, incineración y procesamiento y deroga decreto nº 45, de 2007.
13. Decreto supremo nº44 de 2023, aprueba reglamento sobre prevención de riesgos profesionales. Dto. N° 6 de 2009, reglamento sobre manejo de residuos de establecimientos de atención de salud (reas).
14. Decreto supremo nº594 1995, aprueba reglamento sobre condiciones sanitarias y ambientales básicas en los lugares de trabajo.
15. Ergonul O, Celikbaş A, Tezeren D, Guvener E, Dokuzoğuz B. Analysis of risk factors for laboratory-acquired brucella infections. *J Hosp Infect.* 2004 Mar;56(3):223-7. doi: 10.1016/j.jhin.2003.12.020
16. Fogan M, Pland G. "Tuberculin skin testing in medical students a Survey of USA Medical Schools, Ann; Inten. Med 1994, 120:930 – 931.
17. Guía de bioseguridad para laboratorios clínicos 2019. Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia. Instituto de Salud Pública de Chile.
18. Guideline for infection control in health care personal. 1998 Volume 26, Number 3, 1998.
19. Guidelines for preventing the transmission of mycobacterium tuberculosis in health care facilities. 1994 MMWR.
20. Hsu CH, Farland J, Winters T, Gunn J, Caron D, Evans J. Laboratory-acquired vaccinia virus infection in a recently immunized person--Massachusetts, 2013. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2015 May 1;64(16):435-8.
21. Kortepeter MG, Martin JW, Rusnak JM, Cieslak TJ, Warfield KL, Anderson EL, et al. Managing potential laboratory exposure to Ebola virus by using a patient biocontainment care unit. *Emerg Infect Dis.* 2008 Jun;14(6):881-7. doi: 10.3201/eid1406.071489
22. Laboratory services in tuberculosis control. Part II: microscopy. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 2008 (WHO/TB/98.258).
23. Lim PL, Kurup A, Gopalakrishna G, Chan KP, Wong CW, Ng LC, et al. Laboratory acquired severe acute respiratory syndrome. *N Engl. J Med.* 2004 Apr 22; 350(17):1740-5. doi: 10.1056/NEJMoa032565
24. Manual de Bioseguridad en el Laboratorio de Tuberculosis, Organización Mundial de la Salud 2012.
25. Manual de bioseguridad en el laboratorio, 4a ed. Organización Mundial de la Salud. 2023.
26. Manual de prevención y Control de las IIH y Normas del Programa Nacional de Infecciones Intrahospitalarias; 1993: 54 – 66.
27. Manual de Seguridad En El Laboratorio. Edición Mundial. Washington, D.C.: OPS, -1, 2022. <https://iris.paho.org/handle/10665.2/55750>
28. Menzies D., Fanning A., Yuan L., Et al "Tuberculosis among health care workers". *New Engl. J. Medical* 1995; 332:92 – 98.
29. Guía técnica para el transporte de sustancias infecciosas hacia el instituto de salud pública Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia. Instituto de Salud Pública de Chile.2021
30. Normas Técnicas para el control y la eliminación de la tuberculosis, Subsecretaría de Salud Pública, Ministerio de Salud Chile, 2022.
31. Rieder HL. *Epidemiological basis of tuberculosis control.* Paris: International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, 1999.
32. Rieder HL, Zwahlen M, Resurrecting historical lessons from tuberculosis research on airborne transmission relevant to SARS-CoV-2. *Swiss Med Wkly.* 2021;151:w30096
33. Roy, C. J., & Milton, D. K. (2004). Airborne Transmission of Communicable Infection — The Elusive Pathway. *New England Journal of Medicine*, 350(17), 1710–1712.



34. Sehgal VN. Cutaneous tuberculosis. *Dermatologic Clinics* 1994; 12:645-53.
35. Sejvar JJ, Johnson D, Popovic T, Miller JM, Downes F, Somsel P, et al. Assessing the risk of laboratory-acquired meningococcal disease *J Clin Microbiol.* 2005 Sep;43(9):4811-4. doi: 10.1128/JCM.43.9.4811-4814.2005
36. Wenger P., Otten J., Breeden A., Orfas D., "Control nosocomial transmission of multidrug-resistant mycobacterium tuberculosis among healthcare workers and Hiv-infected Patients". *Lancet* 1995; 345:235 – 240.
37. William, Stead "Management of health care worker after inadvertent therapy". *Ann. Inter. Med.* 1995, 122:906-912.
38. Infection prevention and control of epidemic- and pandemic-prone acute respiratory diseases in health care. *WHO/CDS/EPR/20076* 2007.
39. Wurie FB, Lawn SD, Booth H, et al Bioaerosol production by patients with tuberculosis during normal tidal breathing: implications for transmission risk *Thorax* 2016;71:549-554. Wurtz N, Papa A, Hukic M, Di Caro A, Leparç-Goffart I, Leroy E, et al. Survey of laboratory-acquired infections around the world in biosafety level 3 and 4 laboratories. *Eur. J Clin Microbiol Infect Dis.* 2016 Aug;35(8):1247-58. doi: 10.1007/s10096-016-2657-1".

2.- AUTORIZASE al Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia a efectuar la publicación del presente manual en los formatos que estime pertinentes para su difusión, siempre que su contenido se encuentre en concordancia y refleje el exacto tenor de lo que en este acto administrativo se ha aprobado.

3.- PUBLÍQUESE una copia íntegra del presente acto administrativo en el sitio web institucional www.ispch.cl y un extracto del mismo en el Diario Oficial.

Anótese, comuníquese y publíquese

04/11/2025
Resol. CNA/N° 1030
Prov. 2743

Distribución:

- Fiscalía.
- Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.
- Oficina de Partes.

