

BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS

Jaime Esteban Moreno

Departamento de Microbiología Clínica, Fundación Jiménez Díaz, Madrid

Los laboratorios de microbiología son ambientes de trabajo especiales y, en cierta medida, únicos, ya que en ellos el trabajador se encuentra potencialmente expuesto de forma más o menos habitual a una amplia variedad de agentes patógenos. En ese sentido, los trabajadores de los laboratorios forman una categoría especial dentro del personal sanitario, ya que su riesgo de contagio posee características especiales. Ya en el siglo pasado, los diversos estudios publicados demostraron que en el personal de laboratorio eran especialmente frecuentes enfermedades tales como la brucelosis, la fiebre tifoidea, la tularemia, la infección estreptocócica y la tuberculosis. Actualizaciones posteriores de estos estudios incluyeron enfermedades como la hepatitis o distintas arboviriasis. Es de un interés especial el hecho de que la mayoría de los casos estuviesen en relación con la propagación de aerosoles generados como consecuencia de la propia actividad del laboratorio.

Dentro del laboratorio de microbiología, el laboratorio de micobacterias supone un entorno único donde los trabajadores están expuestos al contagio, no por la vía habitual, sino como consecuencia de la manipulación de muestras clínicas o de cultivos, lo que implica la potencial exposición a grandes cantidades de organismos infecciosos vivos. Dado que la transmisión de la tuberculosis se realiza habitualmente por vía aérea, el mayor riesgo de infección se producirá como consecuencia de procedimientos que impliquen la formación de aerosoles. Tales procedimientos son muy comunes en el laboratorio de microbiología, aunque dichos aerosoles no sean claramente aparentes (tabla 1). Conviene prestar una atención particular cuando dichas manipulaciones se realizan en muestras o cultivos que contengan microorganismos altamente contagiosos, como es el caso de *Mycobacterium tuberculosis*.

Tabla 1. Procedimientos habituales en el laboratorio de microbiología que pueden generar aerosoles.

Subcultivar colonias
Abrir placas de cultivo
Calentar y enfriar asas
Pipetear o inyectar suspensiones con cultivos
Centrifugar muestras o cultivos
Homogeneizar biopsias
Manipular y filtrar líquidos
Liofilizar cultivos y muestras
Mezcla por agitación mecánica o manual

Como consecuencia de estos riesgos, el personal de laboratorio posee un riesgo mayor que el resto de la población, aunque dicho incremento de riesgo presenta enormes oscilaciones según los estudios (entre 2 y 100 veces superior), e incluso parece que no es el laboratorio de microbiología, sino el de anatomía patológica, el que presenta mayor riesgo. Incluso en estudios recientes, se ha demostrado que la tasa de infecciones en el personal del laboratorio es similar a la de la población global, lo que hablaría a favor de la eficacia de las medidas de seguridad y de la mayor concienciación de los profesionales.

Dentro de las distintas clasificaciones de los microorganismos en función del riesgo biológico que representan, *M. tuberculosis* y los otros miembros del complejo figuran como organismos del nivel 3, incluida la clasificación existente en la legislación española, en la que también poseen ese nivel *Mycobacterium leprae* y *Mycobacterium ulcerans*. Los microorganismos de nivel 3 se definen como aquellos que pueden causar una enfermedad grave en el hombre y presentan un serio peligro para los trabajadores, con riesgo de que se propaguen a la colectividad y existiendo generalmente una profilaxis o tratamiento eficaz. En el caso de las micobacterias, la legislación vigente especifica que la transmisión por vía aérea de *M. ulcerans* y *M. leprae* es excepcional. Sin embargo, a pesar de esta clasificación, no es imprescindible que todas las manipulaciones necesarias para el diagnóstico de tuberculosis se realicen bajo las condiciones exigidas para el nivel 3 de bioseguridad. Más específicamente, la realización de las extensiones para tinciones ácido-alcohol resistentes pueden llevarse a cabo en condiciones de nivel II de seguridad, si bien es prudente que se realicen dentro de una campana de seguridad biológica.

Dentro de las medidas a aplicar en caso de manejar microorganismos de nivel 3, se encuentra una amplia variedad de ellas, si bien se pueden agrupar en dos grandes grupos: infraestructuras y prácticas de laboratorio a tomar por parte del personal. La obligatoriedad o no de tomarlas dependerá en buena medida del manual o la legislación que se siga, aunque en la inmensa mayoría de los casos todas las recomendaciones coinciden en los aspectos fundamentales (tabla 2).

INFRAESTRUCTURAS

Dentro de las infraestructuras, el diseño del laboratorio juega un papel fundamental, dado que tiene que cumplir con determinados requerimientos específicos. El laboratorio tendrá que cumplir, además, con requisitos que son comunes a otras partes del laboratorio, tales como el diseño y las características del mobiliario (sólido, resistente a ácidos y álcalis, fácil de limpiar) y de las superficies (fáciles de descontaminar y, asimismo, resistentes a los desinfectantes), la existencia de lavabos suficientes (que, en el caso del nivel 3, se recomendará que puedan accionarse con el pie o con el codo), programas de desinsectación y desratización, sistemas adecuados de eliminación de residuos, etc.

El diseño del laboratorio de nivel 3 tendrá especial cuidado en evitar en lo posible la salida de los organismos patógenos en caso de accidente o, simplemente, como consecuencia del trabajo. Por ello, deberá estar señalizado adecuadamente con el símbolo internacional de peligro biológico. Se recomienda que el laboratorio esté separado del resto mediante un sistema de doble puerta, y la puerta de acceso directo al laboratorio de nivel 3, además, deberá ser de cierre automático, siendo recomendable la instalación de una ventanilla de observación o un dispositivo alternativo (por ejemplo, cámaras) en la zona de trabajo, de manera que puedan verse sus ocupantes, así como poner de manifiesto los accidentes e incidentes que puedan producirse. Alguna guía recomienda emplear la regla de las parejas, de tal forma que el trabajo no sea ejecutado por una sola persona, de tal forma que nunca haya un solo trabajador en el laboratorio. Las ventanas existentes deberán sellarse para imposibilitar su apertura, y cualquier canalización o entrada de tuberías irá cubierta de manera que se pueda efectuar la descontaminación del laboratorio en las condiciones adecuadas.

La ventilación del laboratorio es un tema particularmente importante, teniendo en cuenta la transmisibilidad aérea de las micobacterias de nivel 3 que habitualmente se manejan en los laboratorios asistenciales. En ese sentido, debe existir un sistema de regulación del flujo de aire que evite la salida de corrientes desde el laboratorio de seguridad

hacia el resto de las instalaciones, mediante el mantenimiento de una presión atmosférica inferior a la existente en el exterior del mismo (presión negativa). Este sistema es considerado como de crucial importancia en la mayoría de guías, si bien la legislación vigente en nuestro país sólo lo considera como deseable. A pesar de este hecho, y dado el consenso casi generalizado sobre este asunto, todo aquel laboratorio que trabaje con cultivos del complejo *M. tuberculosis* debería tener dicha presión negativa, dada la transmisión aérea del organismo a través de gotas de pequeño tamaño, susceptibles de permanecer en suspensión en el aire durante periodos de tiempo prolongados, con el consiguiente riesgo de transmisión a distancia merced a las corrientes de aire. Además, la posibilidad de que se esté trabajando con cepas resistentes representa en el momento actual un riesgo a tener en cuenta en todo laboratorio asistencial. Además, hay que tener en cuenta que la legislación sí que obliga a que todo el aire que salga de las instalaciones de seguridad biológica sea filtrado a través de filtros HEPA, medida indudablemente complementaria a la anterior.

Otra de las medidas sobre la cual existe un consenso en todas las recomendaciones y legislaciones es la necesidad de campanas de seguridad biológica, en el interior de las cuales se realizará toda la manipulación de muestras y cultivos. Existen distintos modelos de campanas o cabinas de bioseguridad, si bien en el caso del laboratorio de nivel 3 en que se manipulen cultivos es necesario disponer de cabinas de clase II o incluso 3. Estas cabinas están diseñadas para proteger tanto los cultivos como a los trabajadores. Otro material necesario en el laboratorio es el empleo de centrifugas con sistemas de protección frente a accidentes o roturas que permitan que, en estos casos, se puedan abrir los contenedores dentro de las cabinas de bioseguridad, así como un autoclave para esterilizar material independientemente del resto. En todos los casos, una vez que se termine de trabajar en las cabinas, éstas deberán descontaminarse.

PRÁCTICAS DE LABORATORIO

Dentro del laboratorio de nivel 3 deberán llevarse a cabo aquellas prácticas comunes a todos los niveles. Estas incluyen la descontaminación de las superficies de trabajo al menos una vez al día y después de cada derramamiento de material infectado, la eliminación adecuada de los residuos generados en el laboratorio, la prohibición de pipetear con la boca, comer, beber, fumar, tomar medicamentos o maquillarse en las zonas de trabajo, el lavado de manos cada vez que maneje material o animales infectados, o al abandonar el laboratorio, y la adopción de todas aquellas medidas que minimicen la generación de aerosoles.

Además de estas prácticas, deberán llevarse a cabo una serie de prácticas específicas de este nivel. En este sentido, el acceso al laboratorio estará restringido sólo al personal necesario, debiendo cerrarse las puertas siempre que se trabaje en el mismo. También dentro del laboratorio de micobacterias deberán adoptarse otras medidas que no son habituales en otras áreas. El empleo de diversas ropas protectoras es una de las medidas de seguridad fundamentales, recomendándose el empleo de batas impermeables de cierre trasero, guantes (no necesariamente estériles) y manguitos. Todo este equipo debe permanecer en el interior del laboratorio de nivel 3 y no debe usarse en el exterior del mismo, pudiendo ser desechable en algunos casos. Aquellas prendas que sean reutilizables deberán ser desinfectadas antes de ser enviadas a la lavandería. Además del empleo de estas prendas, se recomienda el lavado de manos frecuente, que deberá realizarse aunque se haya trabajado con guantes.

Otro de los elementos fundamentales es el empleo de protección respiratoria siempre que se realice alguna actividad con muestras o cultivos. Aunque alguna guía considera

dicha protección necesaria sólo cuando se trabaje fuera de cabinas de seguridad biológica, el riesgo de accidentes que comprometan la capacidad protectora de éstas hace recomendable el empleo de dicha protección incluso cuando se trabaje dentro de ellas. Esta protección deberá ser llevada a cabo mediante el empleo de respiradores de seguridad N95, no siendo deseable el empleo de mascarillas quirúrgicas, salvo en caso de extrema necesidad. Las mascarillas N95 poseen una capacidad de filtración igual o superior al 95 % y son las que se recomiendan para el aislamiento de enfermos tuberculosos. Aunque existen datos que avalan un cierto grado de protección con las mascarillas quirúrgicas en el aislamiento respiratorio, dado que el inóculo potencial es muy superior en el caso del laboratorio, es claramente deseable su empleo en detrimento de estas últimas.

En relación con la eliminación de los residuos, se recomienda que los materiales contaminados que han de salir del laboratorio para su descontaminación sean depositados en contenedores apropiados para tal fin, contenedores que se cerrarán al ser trasladados fuera del laboratorio. Todo el material de deshecho debe ser descontaminado antes de su eliminación. Las agujas y otros objetos cortantes o punzantes se desecharán en contenedores rígidos apropiados, pudiendo esterilizarse en el autoclave antes de su eliminación.

Cualquier accidente que implique la posible liberación del agente infeccioso fuera de las zonas de contención deberá comunicarse urgentemente al responsable de seguridad e higiene. Hay que tener en cuenta, además, que la mayoría de las guías recomiendan tener siempre un manual para caso de accidentes donde figuren todas las medidas que deben tomarse.

CONTROLES DEL PERSONAL

Junto con las medidas anteriormente referidas correspondientes a los niveles 2 y 3, se recomienda la realización periódica de pruebas tuberculínicas (PPD) en el personal del laboratorio en general, y en el de micobacterias en particular. Este procedimiento deberá repetirse anualmente en todos aquellos profesionales mientras el resultado de la misma sea negativo. Debería además llevarse a cabo una prueba de refuerzo (*booster*) al inicio de los controles en el personal de nueva incorporación que resultase negativo. Si ocurriese un accidente con exposición del trabajador a inóculos elevados, todos aquellos trabajadores expuestos y que presenten la prueba PPD negativa, deberían ser estudiados en el momento del accidente y, si continuasen siendo negativos, a los 2-3 meses del mismo, para evaluar la posible existencia de conversiones. En aquellos trabajadores infectados se recomendará el tratamiento de la infección tuberculosa latente de acuerdo con las pautas existentes para el resto de la población.

NORMATIVAS LEGALES QUE SE APLICAN

Real Decreto 664/1997, de 12 de mayo sobre protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo. Boletín Oficial del Estado, 24 de mayo de 1997; pp 16100-16111.

Orden de 25 de marzo de 1998 por la que se adapta en función del progreso técnico el Real Decreto 664/1997, de 12 de mayo, sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo. Boletín Oficial del Estado, 30 de marzo de 1998; pp 10637-10638.

Directiva 2000/54/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 18 de septiembre de 2000 sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a

agentes biológicos durante el trabajo. Diario Oficial de las Comunidades Europeas 2000. 262: 21-45.

BIBLIOGRAFÍA

ANÓNIMO. INSTITUTO NACIONAL DE SEGURIDAD E HIGIENE EN EL TRABAJO. Guía técnica para la evaluación y prevención de los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos. Madrid: Ministerio de Trabajo, 1997.

ANÓNIMO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Laboratory biosafety manual (2ª ed). Interim guidelines. Genève: World Health Organization, 2003.

ESTEBAN J. Tuberculosis in special groups and occupational hazards. En: Madkour MM (ed). Tuberculosis. Berlin: Springer-Verlag, 2003; pp 93-111.

RICHMOND JY, MCKINNEY RW. Bioseguridad en laboratorios de microbiología y biomedicina (4ª ed, versión española). Atlanta: Centers for Disease Control, National Institutes of Health, 2002.

Tabla 2. Medidas recomendadas para laboratorios de nivel 3 de seguridad biológica^a.

Medidas	EE UU (BMBL 4 ^a ed)	WHO/OMS (LBM 2 ^a ed)	Unión Europea (Directiva 2000/54/CE)	España (R.D. 664/97)
Separación física de otras áreas de trabajo o pasillos	Sí	Sí	Aconsejable	Aconsejable
Filtrado del aire a través de filtros HEPA	Sí, para el aire extraído de las cabinas de bioseguridad	Recomendado	Sí, para el aire extraído	Sí, para el aire extraído
Acceso restringido	Sí	Sí	Sí	Sí
Presión negativa respecto a la atmosférica	Sí	Sí	Aconsejable	Aconsejable
Superficies impermeables y de fácil limpieza	Sí	Sí	Sí, para el banco de trabajo y suelo	Sí, para el banco de trabajo y suelo
El área de trabajo deberá poder precintarse para su desinfección	Sí	Sí	Aconsejable	Aconsejable
Superficies resistentes a sustancias químicas	Sí	Sí	Sí	Sí
Se instalarán ventanillas de observación o dispositivos alternativos para poder ver a los ocupantes	No especificado	No especificado	Aconsejable	Aconsejable
Laboratorio con equipo propio	No especificado	No especificado	Aconsejable	Aconsejable ^b
Uso de cabinas de bioseguridad para manipulación de muestras o cultivos	Sí	Sí	Sí	Sí
Disponibilidad de autoclave o incinerador	Sí	Sí	Sí (disponible)	Sí (disponible)
Acceso a través de doble puerta de cierre automático	Sí	Sí	No especificado	No especificado ^b

^aAbreviaturas. BMBL: Biosafety in microbiology and biomedicine laboratories; LBM: Laboratory biosafety manual; INSHT: Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo.

^bRecomendado en la Guía Técnica del INSHT.