

*GUIA DE SEGURIDAD BIOLÓGICA DEL
CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA
REQUERIMIENTOS MÍNIMOS EXIGIDOS*



**Organización Panamericana de la Salud
Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina Regional de la
Organización Mundial de la Salud**

CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA (OPS/OMS)
Caixa Postal 589, 20001 Rio de Janeiro, RJ, Brasil

1987

**GUIA DE SEGURIDAD BIOLÓGICA DEL
CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA
REQUERIMIENTOS MINIMOS EXIGIDOS**

*Ivo Gomes*¹

¹ Investigador, Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (OPS/OMS). Responsable por la seguridad biológica.

CONTENIDO

INTRODUCCION	5
SEGURIDAD BIOLÓGICA	6
Objetivos	6
REGLAMENTOS	8
1. Personal	8
2. Entrada y salida de los laboratorios	10
3. Visitas	11
4. Becarios y Aprendices	12
5. Procedimientos en los laboratorios que no manipulan agentes infecciosos	13
6. Procedimientos padronizados en los laboratorios que trabajan con agentes infecciosos	15
7. Equipamientos de contención contra escape de virus e instalaciones de laboratorio	17
8. Materiales radiactivos	19
9. Reglas especiales para el trabajo con rayos Beta muy energéticos (^{32}P)	22
10. Tránsito de materiales infecciosos dentro del CPFA. Tratamiento de efluentes y basura	23
11. Animales de laboratorio	25
12. Grandes animales - Aislamientos	27
13. Experimentos de Campo	29
Trabajos consultados	31

INTRODUCCION

El Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (CPFA), como organismo de referencia para enfermedades vesiculares en las Américas, tiene como objetivos principales en sus laboratorios, actividades dirigidas al diagnóstico, control de vacunas, prestación de servicios, adiestramiento, producción de vacunas e investigación. Por lo tanto, en los sectores donde se desarrollan esas actividades con manipulación de agentes patógenos de diferentes etiologías, se debe adoptar medidas más estrictas de seguridad biológica. Esas medidas podrán ser gradualmente ampliadas y periódicamente revisadas de acuerdo con las diversas actividades del CPFA y como garantía para el país sede y los Países Miembros de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) que soliciten sus servicios. Por otro lado, se debe preservar y ampliar las áreas verdes en la región donde está situado el Centro, procurando prevenir los riesgos que la presencia de animales podría ocasionar.

Esta Guía de Seguridad Biológica tiene por finalidad de establecer los procedimientos que deben ser adoptados para que se alcancen resultados positivos en ese importante aspecto de nuestras actividades.

SEGURIDAD BIOLÓGICA

Objetivos

La seguridad biológica de laboratorios que trabajan con agentes de enfermedades infecciosas se basa en tres principios fundamentales:

- 1) Proteger a los que trabajan en laboratorios de infecciones con los agentes infecciosos que están manipulando.
- 2) Prevenir y asegurar la integridad de los estudios experimentales o pruebas clínicas que se estén realizando.
- 3) Controlar y contener todos los agentes infecciosos para minimizar la posibilidad de riesgos causados por esos agentes en las comunidades vecinas y en la ganadería, y que puedan estar asociados al laboratorio.

Aunque cualquier programa de bioseguridad depende de una buena comprensión de los riesgos biológicos, así como de los equipos y procedimientos para su control, su éxito está más íntimamente ligado al elemento humano que al grado de mecanismos especializados disponibles.

Todos los funcionarios del CPFA, así como becarios, quienes reciben adiestramiento en servicios o visitas deben tomar conocimiento de los requisitos mínimos de seguridad biológica exigidos en esta Guía y cumplirlos cabalmente. Cada persona tiene la responsabilidad moral y legal de asegurar el máximo de precauciones con referencia a la bioseguridad en todas las operaciones en que participe.

REGLAMENTOS

1. **Personal**
- 1.1 Todos los funcionarios del CPFA deben tomar conocimiento por escrito de los reglamentos de seguridad biológica, los cuales deben ser comprendidos en su totalidad.
- 1.2 Los sectores administrativos deben tener en cuenta las necesidades de bioseguridad cuando se seleccionen nuevos funcionarios.
- 1.3 Adiestrar cada nuevo funcionario con la finalidad de que comprenda la importancia de la seguridad biológica y sus razones.
- 1.4 Establecer responsabilidades sobre seguridad: cada supervisor debe ser responsable por el cumplimiento de los procedimientos de los funcionarios a su cargo; sin embargo, cada funcionario debe tener la responsabilidad personal de cumplir con las normas en el desempeño de sus funciones.
- 1.5 Todos los funcionarios de laboratorio que trabajen con sustancias tóxicas, inflamables o de otra naturaleza que puedan perjudicar su integridad física, deben hacerlo con anteojos, guantes y máscaras protectoras apropiadas

- 1.6 Los responsables por la seguridad biológica deben informar cualquier accidente, contusiones o infecciones adquiridas en el laboratorio inmediatamente que ocurran, teniendo la precaución de determinar sus causas y evitar la repetición.
- 1.7 Estimular a los funcionarios de todos los niveles a presentar sugerencias para mejorar los procedimientos de seguridad biológica en cada sector en particular.
- 1.8 Todos los funcionarios que no pertenezcan a los laboratorios deben ser orientados sobre la existencia y la necesidad de cumplir los procedimientos de seguridad biológica. De ese modo, los funcionarios administrativos, personal de limpieza y mantenimiento, etc. deben entrar en las áreas de laboratorio solo para ejecutar un trabajo específico y con la debida autorización del supervisor encargado. En esos casos deben seguir todos los procedimientos prescritos con relación a ropas, calzado, etc.

2. **Entrada y salida de los laboratorios**

2.1 **Funcionarios de los laboratorios**

El procedimiento incluye cambio de ropa de calle en la parte externa del vestuario, entrada en la parte interna donde se usarán los uniformes de trabajo y calzado de lona. Cuando el almuerzo es en el CPFA se deberá usar un guardapolvo blanco sobre la ropa de trabajo y un calzado de lona azul o zapatos que deberán permanecer en la parte externa. Cuando el funcionario salga del CPFA para almorzar deberá bañarse y usar ropa de calle. El baño es obligatorio para todos los funcionarios a la salida, al final de la jornada de trabajo. (Instrucciones específicas por separado). Para los funcionarios de las áreas limpias, además de lo establecido, sería aconsejable bañarse al inicio de las tareas diarias.

2.2 **Funcionarios de mantenimiento**

Deberán avisar cuando necesiten hacer cualquier trabajo en los laboratorios y solo podrán entrar usando guardapolvos y botas de plástico sobre las ropas de trabajo.

3. Visitas

- 3.1 Se debe evitar la entrada de visitas en los laboratorios. El servicio de adiestramiento e información debe mantener colecciones de videocintas así como transparencias (35 mm) de las actividades desarrolladas en los laboratorios para mostrar a las visitas en el auditorio.
- 3.2 Las visitas que por motivos especiales necesiten entrar en los laboratorios para visitar sus instalaciones deberán usar guardapolvos descartables y botas de plástico.
- 3.3 Las visitas que tengan que participar en algún trabajo en los laboratorios deberán seguir los reglamentos prescritos para todos los funcionarios.

4. **Becarios y Aprendices**

- 4.1 El sector de adiestramiento deberá dirigirlos al responsable por la seguridad biológica para una exposición sobre los procedimientos adoptados en el CPFA, acompañada de una copia de los reglamentos.
- 4.2 Deberán seguir todos los procedimientos prescritos para los funcionarios de los laboratorios.
- 4.3 Especialmente para los becarios de áreas libres de fiebre aftosa, el supervisor debe aconsejar que haga sus apuntes a lápiz en notas que no tengan que salir del laboratorio antes del final del aprendizaje. Al final de los estudios esos papeles con los apuntes deberán ser colocados en sobres, autoclavados y luego hacer fotocopias que son las de deberán acompañar al becario al regresar a su país.

5. **Procedimientos en los laboratorios que no manipulan agentes infecciosos**
- 5.1 Cultivos de Células y Medios de Cultivo .
 - 5.1.1 Usar pipetas tamponadas con algodón.
 - 5.1.2 Evitar pipetar con la boca .
 - 5.1.3 Utilizar gorros y máscaras cuando se siembren células.
 - 5.1.4 Lavar y desinfectar cuidadosamente las manos cuando se manipulen células, medios de cultivo, sueros, etc.
 - 5.1.5 Las cajas que transportan botellas de células deben ser exclusivas del sector, estar pintadas de color diferente de las del área infectada y no de deben pasar de un sector para otro.
 - 5.1.6 El mismo procedimiento se aplica para los estantes de las estufas de CO₂ que transportan placas de microtécnica y de Petri con células. El sector contaminado con virus debe poseer estantes propios que no pueden ingresar al área limpia.

5.2 Area de Producción de Vacunas

- 5.2.1 Recepción y preparo de sueros provenientes de mataderos en instalaciones externas de la planta de producción.
- 5.2.2 El envío de vacunas para el exterior del CPF A deberá hacerse en cajas de poliuretano nuevas.
- 5.2.3 Los vehículos que transportan las cajas de vacunas para el exterior del CPF A deberán ser desinfectados.
- 5.2.4 Es aconsejable que las cajas de poliuretano en las cuales las vacunas son transportadas sean desinfectadas en la parte externa con un paño embebido en desinfectantes apropiados.
- 5.2.5 Se debe tomar cuidados especiales en el envío de vacunas de emergencia para países libres de fiebre aftosa y para aquellos donde no se ha identificado el virus tipo C.

6. **Procedimientos padronizados en los laboratorios que trabajan con agentes infecciosos**
- 6.1 Evitar al máximo pipetar con la boca.
- 6.2 Las pipetas deben ser tamponadas con algodón.
- 6.3 Para evitar la formación de aerosoles es aconsejable usar un mezclador para hacer diluciones con materiales infecciosos en vez de pipetar dentro del tubo.
- 6.4 Colocar las pipetas o cualquier otro material de vidriería utilizado en el trabajo con agentes infecciosos en solución desinfectante autorizada (por 24 horas) antes de enviarlos a la esterilización.
- 6.5 Antes de la centrifugación verificar si hay rajaduras en los tubos o algún cuerpo extraño en la copa metálica, y el estado de las gomas del fondo que puedan ocasionar ruptura de los mismos. Si ocurre ruptura, las copas deben ser completamente desinfectadas así como todo el material en el interior, incluso los trozos de vidrio.
- 6.6 La centrifugación debe hacerse con los tubos cerrados.
- 6.7 La retirada del material centrifugado (sobrenadante o sedimento) debe hacerse en las cámaras de flujo laminar.

- 6.8 Nunca se debe circular dentro del laboratorio o en los corredores con recipientes abiertos que contengan suspensiones infecciosas.
- 6.9 Los congeladores con material infeccioso deben ser examinados periódicamente para retirar los tubos o ampollas rotos.
- 6.10 Se debe desinfectar las manos antes y después de manipular materiales infecciosos. Evite colocarlas en la boca, nariz, ojos y rostro. Este procedimiento tiene como finalidad evitar autoinoculaciones.
- 6.11 Se prohíbe fumar en los laboratorios o en cualquier otra instalación del CPFA.
- 6.12 Se deben tomar precauciones para evitar la inoculación oral, intranasal e intratraqueal de materiales infecciosos.

7. **Equipamientos de contención contra escape de virus e instalaciones de laboratorio**
- 7.1 En todas las operaciones que involucren materiales infecciosos se deben usar cámaras de flujo laminar. Con los materiales que sean desconocidos o que puedan ser infectantes para el hombre (ejemplo: estomatitis vesicular), las cámaras de flujo laminar vertical deben ser las preferidas. Todos los materiales virulentos contenidos en tubos de centrifuga, copas de homogenizador, licuadora, etc., solo deben ser abiertos en las cámaras de flujo laminar. Después de usadas las cámaras deben ser descontaminadas con desinfectantes apropiados y luz ultravioleta.
- 7.2 Las bancadas (mesas) deben ser impermeables al agua y resistentes a ácidos, álcalis, solventes orgánicos y calentamiento moderado. El uso de manteles de material absorbente con desinfectante sobre las superficies de trabajo donde puedan ocurrir derramamientos de materiales infecciosos facilita la limpieza y minimiza la formación de aerosoles.
- 7.3 Cada laboratorio debe tener un recipiente con desinfectante para ser usado después de cada operación con material infeccioso, así como en los vestuarios a la salida, al final de la jornada de trabajo.

- 7.4 Es aconsejable que en el mismo edificio del laboratorio haya una autoclave para esterilizar los materiales empleados en las operaciones, los uniformes de trabajo, basura que no pueda ser incinerada, etc. Donde no haya autoclave, la salida de ese tipo de materiales debe ser en bolsas de plástico y enviadas directamente para la esterilización u horno crematorio.
- 7.5 Cuando en un mismo edificio se trabaja con agentes etiológicos de enfermedades diferentes, en las puertas de los laboratorios se debe colocar una identificación del agente, el nombre del supervisor u otro responsable, prohibir o permitir la entrada, etc.

8. Materiales radiactivos

Los riesgos del trabajo con materiales radiactivos pueden ser eliminados o reducidos por la práctica de procedimientos de seguridad en el trabajo. El desarrollo de prácticas de seguridad involucra conocimientos específicos del material utilizado, o sea, cuál el isótopo y cantidad presente, su formulación física y química, el tipo de radiación y cualquier otra información pertinente sobre el material.

El conocimiento de esos parámetros posibilita el establecimiento de controles propios y prácticas de seguridad.

La protección del personal que trabaja en el laboratorio, incluyendo todos los funcionarios del CPF A en general, de radiaciones debidas a isótopos usados en los laboratorios es en primera instancia de responsabilidad del investigador que trabaja con ese tipo de material.

Las prácticas a seguir relativas a personal, identificación, almacenaje, pruebas de escapes y movimiento de materiales radiactivos deben ser:

- 8.1 Advertir a todo el personal que trabaja con radioisótopos sobre la seguridad radiobiológica, técnicas de operación, plan experimental y equipos.

- 8.2 La puerta del laboratorio donde se trabaja con material radiactivo debe ser marcada con el símbolo internacional de radiactividad. Las salas indicadas con el símbolo tienen su acceso restringido a los funcionarios con autorización para trabajar con radioisótopos, siendo **PROHIBIDA** a los demás.
- 8.3 Todo el personal con acceso a la sala destinada al trabajo con material radiactivo deberá usar guardapolvo adecuado y cuando termine o salga temporariamente del lugar de trabajo, deberá lavarse las manos con detergente "Count-Off".
- 8.4 **Se prohíbe fumar, beber o comer** en el local de trabajo.
- 8.5 Cuando se abran los frascos y durante toda la operación en que exista riesgo de contaminación se debe usar guantes. El trabajo con soluciones radiactivas concentradas **SIEMPRE** deberá realizarse sobre papel absorbente.
- 8.6 Durante la precipitación de material radiactivo (ácido nucleico, proteínas, etc.) el sobrenadante generalmente contiene una cantidad apreciable de isótopo que incorporó. Estas soluciones deben ser colocadas en frascos propios dentro de una caja de acrílico con tapa y debidamente identificados. La operación de pipetar se debe hacer con pipeta automática o pipetador ligado a la pipeta.

- 8.7 Todo el material que durante el trabajo llegue a contaminarse por solución radiactiva tendrá que ser marcado con una cinta amarilla. Además, todas las pruebas que sean almacenadas deberán ser marcadas.
- 8.8 En caso de accidente con material radiactivo, el lugar de trabajo debe ser controlado con el monitor antes y después del proceso de descontaminación. Comunicar inmediatamente al responsable por la seguridad.
- 8.9 En el caso de ^{32}P y ^{35}S material contaminado puede ser descontaminado usándose "Count-Off" o una solución de fosfato "frío" o sulfato "frío",
- 8.10 Toda la basura radiactiva sólida debe ser colocada dentro de una bolsa de plástico en una caja de acrílico con tapa y los líquidos en frasco propio también en caja de acrílico con tapa. Antes de ser enviada al depósito central de basura radiactiva, se debe identificar y datar.

9. **Reglas especiales para el trabajo con rayos Beta muy energéticos (^{32}P)**
- 9.1 Todo el trabajo con soluciones de ^{32}P conteniendo $>50\mu\text{Ci/ml}$ o cantidad total superior a $50\mu\text{Ci}$ **SIEMPRE** debe realizarse por detrás de una placa de acrílico, con un espesor no inferior a 1,5 cm y protegido con un delantal de plomo.
- 9.2 El trabajo debe realizarse en local especial y **SIEMPRE** sobre papel absorbente.
- 9.3 **Nadie debe quedar innecesariamente a menos de un metro del local.**
- 9.4 Las soluciones como la arriba mencionada **SIEMPRE** deben ser transportadas en el laboratorio dentro de plomo o en caja de acrílico en la especificación arriba.
- 9.5 **SIEMPRE** mantener el monitor conectado durante el trabajo con soluciones de esa naturaleza.
- 9.6 Todo el material contaminado con ^{32}P debe ser colocado en cajas de acrílico debidamente identificado.

10. **Tránsito de materiales infecciosos dentro del CPFA. Tratamiento de efluentes y basura**
- 10.1 El envío de materiales infecciosos de los laboratorios para el sector de diagnóstico y de este para los diversos laboratorios deberá ser efectuado en frascos cerrados colocados en cajas de poliuretano o un material similar.
- 10.2 Los materiales originarios de la Sección de Diagnóstico deben ser enviados para la esterilización en recipientes cerrados, previa descontaminación por 24 horas en el propio laboratorio.
- 10.3 Los materiales procedentes de las áreas de laboratorio que trabajan con virus y que no sean inflamables (papel aluminio, latas, vidriería rota) deben ser descontaminados y colocados separadamente en bolsas que tendrán un destino apropiado que no sea el horno crematorio.
- 10.4 Toda la basura del área del CPFA deberá ser incinerada de acuerdo con la capacidad del horno crematorio.
- 10.5 Hasta que se disponga de un sistema central de tratamiento, todos los efluentes de los laboratorios deberán ser tratados químicamente (pH 12,0) para eliminar el virus presente.

- 10.6 Los efluentes de las áreas donde se mantengan animales infectados deberán ser tratados de la misma manera.

11. Animales de laboratorio

El CPFA posee un bioterio con animales normales donde solo se reproducen y crían esos animales, y dispone de un sistema completo de seguridad, lavado, desinfección y limpieza. Otras unidades de laboratorio solicitan esos animales y los utilizan para trabajos diversos con o sin agentes infecciosos.

- 11.1 Los laboratorios que trabajan con inoculaciones de ratones, cobayos o conejos deben tener instalaciones propias para tal fin, así como cajas, jaulas, botellas para agua, etc.
- 11.2 Los materiales usados en esos laboratorios no deberán regresar al bioterio normal salvo en ocasiones excepcionales, previamente desinfectados y esterilizados y con autorización del responsable por la seguridad.
- 11.3 Los restos de alimentación, camas (viruta o similar), pasto, etc. deben ser incinerados en el local propio del laboratorio o enviados en bolsas cerradas para el horno crematorio.
- 11.4 Terminada la prueba, las cajas que contenían los animales así como los frascos de agua deben ser desinfectados y lavados para ser usados en otra prueba.

- 11.5 Terminada la prueba, todos los animales sobrevivientes deben ser sacrificados con una sustancia química indicada y solo después de confirmada la muerte deben ser cremados en el incinerador. Se prohíbe terminantemente la colocación de animales vivos en el incinerador.

- 11.6 Es expresamente prohibido alimentarse con animales de laboratorio.

- 12. Grandes animales - Aislamientos**
- 12.1 El personal que trabaja con grandes animales no debe lidiar con bovinos, porcinos, ovinos y caprinos fuera del CPFA, para evitar la posibilidad de infecciones de dentro para afuera y viceversa.
- 12.2 Los aislamientos donde se cobijan los animales de experimentación deben permanecer cerrados. La entrada en esos recintos sólo se puede hacer con la autorización del investigador encargado del experimento. En ningún caso se permitirá la entrada de personal sin seguir los requisitos exigidos (baño, cambio de ropa, botas, etc.).
- 12.3 Todos los materiales que entren o salgan de los aislamientos deben ser desinfectados o esterilizados.
- 12.4 Todas las ropas, toallas deben ser esterilizadas y las botas desinfectadas para trabajar en los aislamientos, así como después del término de los trabajos.
- 12.5 Terminando un experimento con bovinos, y después de la cicatrización de las lesiones y el estado general sanitario considerado satisfactorio por el investigador responsable, el animal podrá ser abatido en el interior del aislamiento y la carne consumida en la cantina del CPFA. Los animales en pie o la carne nunca deberán salir del CPFA.

- 12.6 Después del término de los experimentos con virus de fiebre aftosa en porcinos y posterior cicatrización de las lesiones, los animales podrán ser abatidos y consumidos en la cantina del CPFA o vendidos en pie a sus funcionarios, pues esta especie no es portadora del virus de la fiebre aftosa.
- 12.7 En una etapa posterior de control y erradicación, o de controles de seguridad biológica más estrictos, todos los animales grandes usados en pruebas deberán ser eliminados y sus carcasas destruidas en el interior del aislamiento.

13. Experimentos de Campo

El CPFA utiliza establecimientos ganaderos particulares para realizar experimentos con grandes animales, y mantiene en esas propiedades un elevado número, especialmente de bovinos, sin ninguna cobertura vacunal. Por lo tanto es necesario que sean mantenidas todas las precauciones cuanto a condición de susceptibilidad de esos animales y que no ocurra ninguna infección a consecuencia de las visitas del personal del Centro al establecimiento.

Procedimientos:

- 13.1 El vehículo destinado a los trabajos de campo no deberá hacer ningún trabajo interno (esterilización, matadero, etc.). Es aconsejable que ese vehículo sea desinfectado y lavado antes de cargar material destinado al campo.
- 13.2 Todos los materiales a ser utilizados en los trabajos de campo (vidriería, jeringas, agujas, etc.) deberán ser esterilizados.
- 13.3 Los mamelucos deberán ser esterilizados, empaquetados individualmente y nuevamente autoclavados cuando tengan que ser utilizados en los trabajos de campo. Las botas, lazos, garrotes, etc. deberán ser desinfectados.

- 13.4 Para atender los focos se deberán seguir rigurosamente los procedimientos recomendados por el CPFA en el "Manual de Procedimientos para la Atención de un Predio donde ocurre Fiebre Aftosa", Ser. Man. Téc. N° 1, CPFA, 1974.

Esta Guía fue elaborada consultando los siguientes trabajos:

1. Plum Island Animal Disease Center. Safety regulations and applicable instructions. 1963.
2. Sullivan, J.F. Biological Security and Environmental Pollution. Proc. of 75th Annual Meeting U.S. Animal Health Association. 1971.
3. Songer, J.R. & Sullivan, J.F. Cx VII. Safety in the Biological Laboratory. Reprinted from Journal of Chemical Education, vol. 51, Pag. A48. Oct. 1974.
4. Richmond, J.Y. (Biological Safety Officer). Plum Island. Biological Safety. Instructions and regulations. Sept. 1979.
5. Guidelines for Laboratory Facilities and Containment Equipment and Isolation Facilities for Persons Infected with Dangerous Pathogens. WHO/CAMR Meeting (Porton Down, 20-24 Oct. 1980).
6. Mann, J.A. Minimum standards for laboratories working with FMD virus both *in vitro* and *in vivo*. Animal Virus Research Institute (AVRI), June 1984.