

SEGURIDAD

Se supone que la vía principal de infección humana con hantavirus es por inhalación de virus en aerosol, eliminado por orina, materia fecal y saliva de los roedores infectados. La exposición a roedores infectados en ambientes cerrados es particularmente peligrosa. Se detectaron casos de FHSR (fiebre hemorrágica con síndrome renal) en personas que estuvieron expuestas durante pocos minutos en cuartos que contenían animales infectados o en laboratorios de investigación (Tsai 1987). Se han detectado varios casos de SPH (síndrome pulmonar por hantavirus) en personas que han estado trabajando o viviendo al interior de ambientes con roedores. El contacto de membranas mucosas, conjuntiva o lesiones cutáneas con virus o material potencialmente infectado puede conducir a la infección humana, al igual que las mordeduras de roedores. La manipulación u obtención de muestras de sangre o tejido de animales vivos o recién muertos son fuente de exposición al virus presente en esos medios. Las medidas profilácticas más importantes que puede tomar el personal que realiza capturas, procesamiento, sangrado y disección de roedores es conocer las rutas potenciales de infección y evitar las situaciones que conduzcan a transmisión (CDC 1993). Las principales precauciones incluyen: reducir al mínimo la exposición a las heces de los roedores; evitar la creación de aerosoles; usar ropa protectora; anestesiarse profundamente a los animales antes de manipularlos, y desinfectar adecuadamente las superficies de trabajo, equipo y ropa. También es necesario usar precaución para manipular muestras congeladas provenientes de animales potencialmente infectados (CDC 1994).

Es importante que el personal que realice la captura y procesamiento de los roedores potencialmente infectados conozca el peligro asociado con dichas actividades para reducir al mínimo los riesgos de infección. Antes de iniciar la actividad de captura y procesamiento de roedores, se deberá tomar una muestra de suero de cada uno de los integrantes del equipo (muestra de base), que se conservará a -20 °C. El personal deberá saber reconocer los síntomas de SPH (Duchin et al. 1994), de modo que todo trabajador que padezca de síntomas dentro de un plazo de 45 días después de la exposición, consulte al médico y le informe sobre las actividades de riesgo realizadas y la posibilidad de infección por hantavirus. La presencia de fiebre y mialgias puede ser suficiente para una primera evaluación. El reconocimiento temprano de la enfermedad y la atención apropiada pueden salvar la vida del paciente. Si el médico sospecha la presencia de infección por hantavirus deberá contactarse con las autoridades de salud pública local. Asimismo, el médico deberá tomar una muestra de sangre del paciente y enviarla junto con el suero de base al departamento de salud para examen de hantavirus. El grupo de trabajo de hantavirus del CDC cuenta con bibliografía adicional sobre reducción de riesgos que se puede obtener llamando al teléfono (404) 639-1510.

Desinfectantes

Una de las medidas más simples para prevenir la infección por hantavirus es el uso de desinfectantes apropiados. Los hantavirus tienen una envoltura lipídica y son sensibles a soluciones diluidas de hipoclorito (lavandina al 10% o lejía), Lysol® de grado hospitalario al 5%, compuestos fenólicos, detergentes y otros desinfectantes de uso doméstico. La estabilidad de los hantavirus en el medio ambiente no está bien determinada, pero los viriones contenidos sobre superficies secas pueden permanecer viables por un período de dos días (J. Huggins et al. datos no publicados). Los desinfectantes deben usarse para:

1. limpiar los guantes de goma después de manipular trampas que contuvieron roedores o que contienen desechos de roedores;
2. descontaminar las trampas que contuvieron roedores o que contienen desechos de dichos animales;
3. limpiar las manos enguantadas después de manipular cada roedor o de realizar una disección y antes de quitarse
4. sumergir y desinfectar los instrumentos utilizados en la disección, y
5. limpiar las superficies de trabajo y otros materiales que puedan haberse contaminado al trabajar con los roedores.

Para el uso de cualquiera de los desinfectantes aprobados por el Organismo de Protección del Ambiente (EUA) deben seguirse las instrucciones del fabricante. El Lysol® es un desinfectante eficaz, que se mantiene estable por períodos prolongados. En el campo se puede preparar fácilmente una solución al 5% (dilución 1/20 con agua común) y colocarla en recipientes grandes con capacidad para sumergir las trampas tipo Sherman® o Tomahawk®. Este tipo de descontaminación no alterará el éxito del trapeo posterior si después del contacto con Lysol las trampas se enjuagan adecuadamente. La lejía es un desinfectante económico y fácil de obtener. Una solución al 1% (dilución 1/100) es adecuada para limpiar superficies potencialmente contaminadas. Una solución al 10% es más eficaz para áreas muy sucias o materiales contaminados con materia fecal de roedores o materiales de los nidos de los roedores. Se deberán usar soluciones frescas (preparadas en el día) de hipoclorito; no se recomienda este producto para desinfectar trampas, porque corroe el material. Es práctico usar botellas plásticas con sistema de aerosol para contener el desinfectante en la dilución adecuada; de esta manera se logra una buena dispersión sobre los instrumentos, guantes o superficies de trabajo.

Ropa protectora y equipo

Para la colocación de trampas limpias se recomienda usar pantalones largos, medias, zapatos amarrados o botas de goma. Una medida de seguridad adicional puede ser el uso de overoles que se quiten después de finalizar el trapeo y



Figura 2. El personal que recoge las trampas con animales capturados deberá usar camisa de manga larga, botas o zapatos con cordones y guantes de goma gruesa. Las trampas que contienen animales deberán colocarse en doble bolsa plástica para ser transportadas al lugar de procesamiento.

procesamiento de los animales. Esta ropa debe lavarse al terminar el día; se deberá también usar guantes de goma gruesa para manipular las trampas que contienen roedores o están potencialmente contaminadas por dichos animales (figura 2). No se aconseja usar guantes de látex puesto que pueden romperse fácilmente al contacto con superficies cortantes de las trampas. Para la manipulación y procesamiento de roedores, el personal debe usar: 1) ropa de cirugía atada en la espalda (camisolín), descartable, u overoles descartables; 2) cubrecalzados (cubrebotas) descartables; 3) dos pares de guantes de látex y 4) respirador con fuente de purificación de aire o respiradores de media cara y anteojos protectores. Los respiradores deberán ser con filtros HEPA (filtros de alta eficiencia). Al finalizar el trabajo (procesamiento de los roedores y limpieza del material y del área de trabajo), el material descartable (camisolines u overoles, guantes y cubrebotas) deberá ponerse en bolsas plásticas bien cerradas y descartarse siguiendo las normas y reglamentos locales. Si la ropa utilizada no es descartable, se deberá sumergir en un desinfectante líquido (procedimiento realizado con guantes) y posteriormente deberá ser lavada con agua caliente y detergente. Con los guantes puestos, se lavarán las manos con un desinfectante o con agua y jabón; luego, se procederá a retirar los guantes y se lavarán las manos con agua y jabón. Se recomienda secar la ropa en máquina secadora en ciclo de alta temperatura o al sol.

Seguridad respiratoria

Antes de utilizar un respirador, es indispensable realizar un adiestramiento completo sobre protección respiratoria, que incluya pruebas sobre la eficacia del sello, pruebas de capacidad pulmonar e instrucciones sobre el uso y cuidado del respirador (Ref. 29 CFR 1910.134, Normas de Protección Respiratoria de la Administración de Salud y Seguridad Ocupacional de los Estados Unidos, OSHA). El departamento local de salud o la oficina de área de la OSHA

podrán proporcionar orientación en estos aspectos. Las oficinas de seguridad de la mayoría de las universidades de los Estados Unidos proporcionarán pautas y procedimientos para obtener y usar los respiradores.

El principio de los respiradores es que todo el aire inspirado pasa a través del filtro HEPA eliminándose partículas de tamaño muy pequeño. Es indispensable que el respirador esté correctamente ajustado y evitar así el ingreso de aire no filtrado. Existe otro tipo más nuevo de respiradores que eliminan este riesgo, pero es más caro. Consiste en una capucha que cubre toda la cabeza y la cara y, por medio de una batería, genera un flujo continuo de aire filtrado a través de filtros HEPA. Estos equipos (PAPR, figura 3) son más cómodos que los respiradores de presión negativa, pero también requieren capacitación y mantenimiento apropiados.



Figura 3. Usar equipo de protección para manipular y obtener nuestras de animales capturados. El uso de un respirador, como el PAPR mostrado aquí,

Captura y transporte de los roedores

Las trampas que contienen roedores capturados deberán manipularse con guantes de goma gruesa. No se recomienda el uso de guantes de cuero, debido a que estos no pueden ser descontaminados con desinfectante. Las trampas que contienen roedores deberán ser colocadas inmediatamente dentro de una bolsa plástica doble que deberá cerrarse perfectamente (figura 2). Las bolsas se abrirán solamente cuando se llegue al lugar de procesamiento y con ropa protectora, incluso respiradores. Se deberá tener en cuenta que si se han generado aerosoles, estos se encuentran concentrados en una pequeña área dentro de la bolsa. Las bolsas con los roedores deberán ser transportadas en la parte trasera de una camioneta para proteger a los pasajeros. Si no se dispone de camioneta, los roedores deberán ser transportados en el baúl de un auto. Si las bolsas son transportadas en camioneta, se deberán cubrir con una lona de color claro para proteger a los animales del sol en los días de calor.

Selección del sitio de procesamiento

Es imprescindible localizar un área adecuada de procesamiento antes de iniciar las actividades de trampeo. El sitio de procesamiento deberá estar ubicado en un sector separado, lejos de la circulación humana, ganado u otros animales domésticos. En condiciones favorables de tiempo, es preferible realizar el procesamiento al aire libre, por la ventilación y para aprovechar el efecto antiviral de la luz ultravioleta natural. Una lona sostenida por tensores protegerá a los técnicos de la lluvia y el sol. Si se debe trabajar adentro, el lugar deberá tener un ventilador o ventanas que permitan ventilar el lugar. La tabla de procesar, las superficies de trabajo, las sillas y el piso deberán ser de un material no poroso que pueda desinfectarse y limpiarse fácilmente. Si el procesamiento se realiza sobre una superficie de madera, ésta deberá cubrirse con un material plástico que facilite la descontaminación.

Cuando el trabajo se realiza al aire libre, los trabajadores deberán sentarse con el viento de atrás formando un ángulo de 45°; los animales capturados y contenidos en las bolsas plásticas deberán ser colocados a favor del viento, y los vehículos y equipo contra el viento. Una vez que se han abierto las bolsas que contienen los animales capturados, todo el personal sin protección respiratoria deberá permanecer contra el viento, a una distancia de 10 m, por lo menos, del área de procesamiento. Dicho personal podrá regresar al área de procesamiento solamente después de que haya finalizado el mismo, los materiales contaminados se hayan colocado en bolsas plásticas de bioseguridad cerradas y el área haya sido

, halotano, cloroformo, éter) deberán usarse en áreas ventiladas y mantenerse en recipientes debidamente cerrados. Los recipientes, a su vez, serán guardados lejos del fuego, así como las bolsas utilizadas para la anestesia, cámaras de anestesia y algodón o gasas embebidas con anestésico. Los derrames deberán ser contenidos inmediatamente. Habrá que tener extremo cuidado cuando se usa cloroformo, puesto que es tóxico y un carcinógeno potencial. El halotano tiene además el potencial de causar daño hepático. El éter es inflamable y explosivo y su uso no se recomienda. No se deben transferir los anestésicos de su recipiente original. Algunos anestésicos por inhalación pueden degradar el plástico y corroer el metal. Deberán tomarse precauciones especiales cuando se trasladan materiales peligrosos tales como cloroformo y formalina. Para mayor información, véanse los reglamentos federales de los Estados Unidos (49 CFR secciones 171 y 172) y las normas sobre cantidades máximas de productos que se pueden

Anestesia

Los animales no deberán manipularse fuera de las trampas, a menos que se encuentren profundamente anestesiados, según los procedimientos detallados en este manual. Se recomiendan los anestésicos por inhalación más que los inyectables, para evitar el uso de agujas. Se recomienda el uso de metoxiflurano (Metofane[®]) sobre otros inhalantes tales como halotano, cloroformo, éter o dióxido de carbono, debido a su seguridad y mayor margen terapéutico de error. Asimismo, es menos probable que se administre una sobredosis a los animales y los hará permanecer inconscientes por más tiempo. Si mientras se intenta anestésiar a un animal éste se escapa, los trabajadores no deberán intentar recapturarlo con las manos, puesto que el peligro de mordedura es muy grande. Si el procesamiento se realiza en un recinto cerrado, el animal puede ser recapturado por medio de varias trampas de captura viva o trampas guillotina colocadas durante la noche.

Obtención de muestras de sangre

El sangrado del plexo retroorbitario es preferible a la punción cardíaca, debido al peligro asociado con el uso de agujas. Se recomienda que todo principiante adquiera la técnica practicando con ratones de laboratorio antes de trabajar con los roedores del campo. Con práctica, la técnica es segura, rápida y provee un volumen de sangre adecuado. Se deberá tomar el tubo capilar heparinizado o pipeta Pasteur, de aproximadamente 1,5 cm, de la parte terminal que entra en la órbita y aplicar una presión suave para evitar romper el tubo. Cuando ha terminado el sangrado, no es necesario expulsar la pequeña cantidad de sangre que puede sobrar en el tubo capilar. Si se usa una pipeta Pasteur, la sangre puede ser expulsada suavemente dentro de un criovial con un bulbo de goma. Se deberá evitar la formación de espuma o burbujas y dejar el último milímetro de sangre en la pipeta para evitar la creación innecesaria de aerosoles. Un animal que empieza a despertarse mientras está sangrando, deberá colocarse inmediatamente en la cámara de anestesia y el trabajo de los técnicos continuará solamente después de que el animal esté profundamente anestesiado. En roedores grandes (por ejemplo ratas), el sangrado retroorbitario puede ser difícil; entre los roedores pequeños, el sangrado

Peromyscus) que en otros (*Microtus*). En ciertas circunstancias, puede ser

necesario hacer punción cardíaca para obtener suficiente cantidad de sangre. En tales casos, deberán tomarse precauciones extremas para evitar lesiones por punción con aguja. Los trabajadores deberán usar una jeringa y aguja limpias para cada animal, y nunca se deberá restituir la tapa plástica o sacar la aguja de la jeringa después de su uso. Las jeringas y agujas, después de su uso, deberán descartarse en un recipiente sin rajaduras, de paredes resistentes al paso de agujas u otros elementos punzantes. Más adelante, se detallan las técnicas de sangrado.

Si se produce alguna lesión, mordedura o punción que lesione la piel, se debe parar el trabajo que se está realizando y limpiar las manos enguantadas o el área de la lesión con desinfectante. A continuación la persona afectada dejará el área de procesamiento, se quitará los guantes u otra cobertura de la piel, se lavará las manos y se tratará de sacar sangre o fluido de la herida, que se limpiará cuidadosamente con desinfectante. Se deberá informar inmediatamente el accidente al personal médico. Si aparece fiebre y dolores musculares u otros síntomas similares a la influenza en un plazo de 45 días después del accidente, se buscará atención médica y se notificará al médico de la posibilidad de infección por hantavirus.

Autopsia

Para reducir el peligro de accidentes durante el procesamiento, los técnicos deberán usar tijeras romas para la autopsia de animales muertos. Los guantes deberán ajustarse bien sobre los dedos antes de iniciar la incisión para evitar cortarlos. Una vez que se abre la cavidad abdominal, la tijera no se utilizará más. A menos que por el protocolo de investigación se requiera evitar la contaminación cruzada entre órganos, se puede utilizar un simple par de pinzas de punta roma, sin dientes, para obtener todos los órganos requeridos. También se pueden utilizar las pinzas para tomar y romper el diafragma y tener acceso a la cavidad torácica. Los instrumentos usados deberán colocarse en un recipiente con desinfectante mientras dura el procesamiento o por un mínimo de 15 minutos; seguidamente se deberán limpiar en desinfectante fresco mediante frotado con un cepillo, como se describirá más adelante. Después de procesar cada animal, todas las gasas o algodones sucios, toallas de papel y otras basuras deberán colocarse en bolsas claramente identificadas como peligro biológico; los guantes, superficies de trabajo y el exterior de los viales que contienen los especímenes deberán limpiarse con desinfectante y toallas de papel antes de procesar el próximo animal.

Los cadáveres que no se guarden deberán ser rociados con desinfectante y colocados en doble bolsa plástica para luego incinerarlos. Sin embargo, es preferible sean enviados para certificación de especímenes a un museo. En ese caso deberán ser colocados en formalina al 10% (9 partes de agua y 1 parte de formalina comercial, la cual es una solución de 40% de gas formaldehído en agua) para fijar los tejidos e inactivar cualquier virus.

Si los cadáveres no se han abierto para tomar muestras de órganos, deberán abrirse desde la parte inferior del abdomen hasta la parte superior del tórax para que la formalina penetre en todos los tejidos. Es importante no colocar demasiada cantidad de animales en el recipiente en relación con la cantidad de formalina preparada. La relación de volumen de cadáveres a volumen de fijador no deberá exceder 1:2 y los primeros deberán quedar totalmente sumergidos; se permitirá su fijación por 7 días antes manipularlos.

Las trampas que contuvieron animales capturados o que fueron visitadas por animales (demostrado por la presencia de orina, materia fecal o materiales de nido) deberán ser descontaminadas antes de volverlas a usar o guardarlas. La descontaminación deberá realizarse sumergiendo las jaulas y cepillándolas en un baño desinfectante, como se describe más adelante en este manual. Los guantes de látex finos pueden cortarse fácilmente con los alambres u otras partes cortantes de la superficie exterior de la trampa, sin que el técnico se de cuenta. Siempre deberán usarse guantes de goma gruesa para manipular las trampas (por ejemplo, al sacudir los animales de la trampa dentro de la bolsa de anestesia y al descontaminar las trampas en baño de desinfectante). Los guantes de goma gruesa pueden ponerse encima de los guantes

Limpieza

Una vez finalizado el procesamiento de roedores, el área de procesamiento deberá ser cuidadosamente descontaminada, siguiendo paso a paso las instrucciones de la sección de métodos de este manual. Los contactos con un

laboratorio local u hospital para que se reciban las bolsas de peligro biológico que contienen basura para descarte deberán hacerse por adelantado, de acuerdo con regulaciones locales y estatales.

Solamente se usarán crioviales con tapa de rosca, preferentemente externa (en el anexo 7 figura una lista de proveedores) y con cierre hermético. Cualquier fragmento de sangre o tejido deberá limpiarse de la superficie de los viales con desinfectante y toalla de papel. Los viales deberán ser claramente rotulados con el número de animal y tipo de tejido; luego se colocarán en cajas de congelador u otro recipiente duro y se embalarán con hielo seco, con material de embalaje absorbente, de acuerdo con los procedimientos descritos en este manual.

Otros agentes infecciosos

Las personas que manipulan pequeños mamíferos y realizan trabajo de campo en zonas de bosques y arbustos corren el riesgo de adquirir muchas infecciones zoonóticas. Las precauciones para prevenir la infección por hantavirus también son eficaces para prevenir la infección por leptospirosis o virus de la coriomeningitis linfocitaria, los cuales pueden ser distribuidos por aerosoles o contacto directo con orina infecciosa. La fiebre por mordedura de rata es otra infección sistémica que puede contraerse por la mordedura de un roedor infectado. Esta es otra razón por la cual no se debe intentar capturar con la mano a los roedores que se hayan escapado. Los animales solamente se deben manipular cuando están profundamente anestesiados.

Por otra parte, distintas infecciones pueden ser transmitidas por ectoparásitos de los animales (por ejemplo, fiebre de Colorado transmitida por garrapatas, erlichiosis, enfermedad de Lyme, fiebre maculosa de las Montañas Rocosas, tularemia). Es importante hacer lo posible para prevenir picaduras de ácaros o garrapatas y remover rápidamente cualquier ácaro que comience a fijarse. La fijación de ácaros puede reducirse al mínimo usando pantalones largos de colores claros con el puño plegado dentro de las medias, camisa de manga larga, sombrero y zapatos cerrados (Buchstein y Gardner 1991). La ropa, especialmente las medias y los puños de los pantalones y la camisa, puede ser tratada con un repelente para artrópodos, como permetrina. Sin embargo, se deberá evitar la inhalación, ingestión o el contacto de la piel con la permetrina. Al final del día, se deberá realizar una búsqueda cuidadosa de ácaros en todo el cuerpo, especialmente en la ingle, la axila y el cuero cabelludo. Cualquier garrapata que se encuentre se sacará cuidadosamente tomándola con una gasa o pinzas y sin apretarla. El área afectada deberá limpiarse bien con un antiséptico antes y después de quitar la garrapata. Se lavarán las manos.

Las personas que trabajan con roedores salvajes en zonas que se encuentran al oeste del meridiano 101° en los Estados Unidos pueden estar expuestas al bacilo de la peste por la picadura de garrapatas infectadas. Las mismas medidas seguidas para prevenir la fijación de ácaros pueden ser útiles para proteger de la garrapata. Cuando se procesan animales, los guantes de látex deberán ponerse sobre el puño de la vestimenta u overol para impedir que las garrapatas lleguen a los brazos.

Los trabajadores que están frecuentemente expuestos a animales salvajes deberán estar vacunados contra la rabia.

Este manual no trata el tema de procedimientos de laboratorio para la manipulación de sangre y muestras de tejidos potencialmente infectados. Estas muestras deberán tratarse de acuerdo con las prácticas de bioseguridad de nivel 3. Refiérase a CDC (1994a) para protocolos de diagnóstico con muestras de roedores. Todo trabajo de laboratorio que incluya inocular muestras con virus a *P. maniculatus* u otras especies permisivas deberá ser realizado en un nivel 4 de bioseguridad (CDC 1994b, Mills et al. 1995). Véase CDC y NIH (1993) donde figura una explicación de los criterios de niveles de bioseguridad.

Cuando haya especies que son reservorios conocidos o sospechosos de SNV o cepas relacionadas, deberán aplicarse consideraciones especiales para 1) preparar pieles para museos y esqueletos de animales muertos recientemente o congelados; 2) manipular especímenes o tejidos de museo congelados; 3) conducir clases en el terreno para estudiantes de biología de vida silvestre; 4) realizar estudios con marcación y recaptura, y 5) establecer o expandir colonias de laboratorio de roedores salvajes. Estas precauciones y consideraciones se tratan en otra parte (Mills et al. 1995).