
Módulo 2: Guía de Bioseguridad

Contenido de este módulo

- Transmisión del bacilo de TB
- Niveles y precaución de riesgos
- Prácticas y manejo de laboratorio
- Prácticas seguras en el laboratorio de microscopia de TB y con Xpert/RIF
- Descarte seguro de desechos infecciosos

Objetivos de aprendizaje

- Comprender los riesgos relativos al uso del Xpert MTB/RIF en el laboratorio
- Comprender las precauciones que deben ser tomadas para asegurar el uso de Xpert MTB/RIF

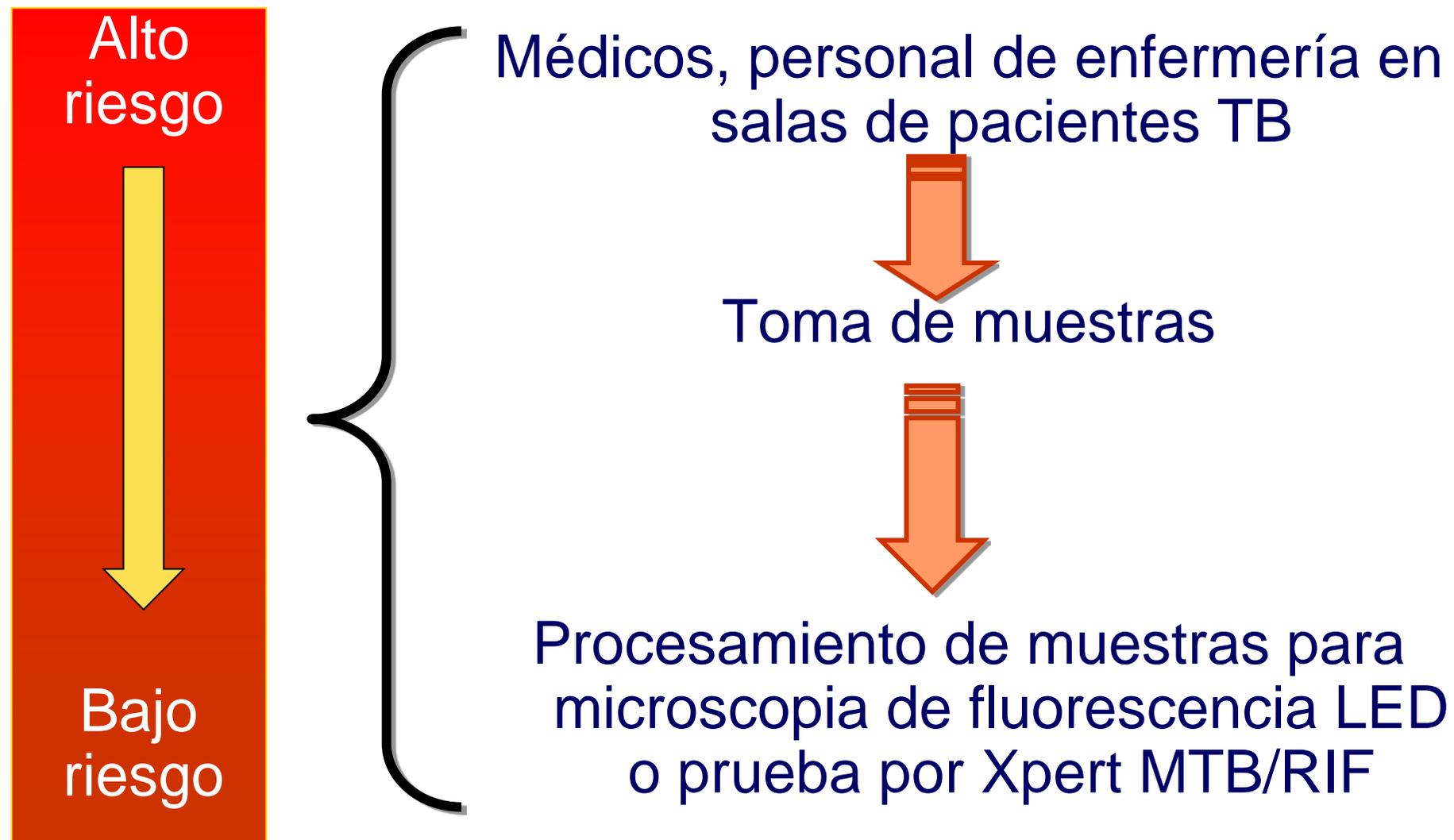
Importancia de la seguridad en el Laboratorio

- Prevenir en el personal infecciones adquiridas en el laboratorio, así como la diseminación de microorganismos en el ambiente del laboratorio
- El equipo especializado puede ayudar a las buenas prácticas de laboratorio pero no las reemplaza.
- **Siempre que se manipulen muestras de pacientes debe utilizarse guantes y batas de laboratorio.**

Transmisión del bacilo de TB en el laboratorio

- Los principales riesgos en el laboratorio de TB están relacionados a la generación de aerosoles que podrían ser inhalados por los trabajadores del laboratorio.
- El riesgo de la generación de aerosoles está asociado con:
 - El tipo de procedimiento
 - Frecuencia de realización de las pruebas y la carga de trabajo
 - Consistencia de los materiales y su disposición para generar aerosoles (ej., líquidos viscosos vs sólidos secos)
 - Carga bacilar de los materiales

Riesgo relativo de la exposición a la infección por TB

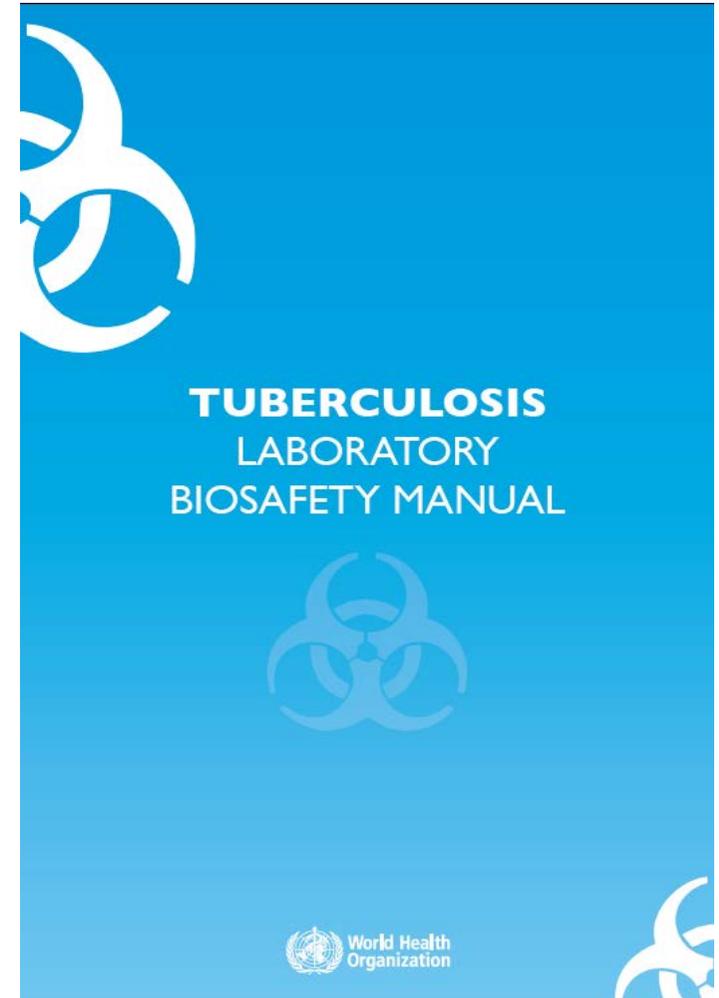


Los nuevos enfoques están basados en evaluación del riesgo

Un enfoque basado en riesgo ha sido adoptado y evalúa el **riesgo asociado a diferentes procedimientos técnicos** realizados en diferentes tipos de laboratorios de TB

- Las clasificaciones de grupo de riesgo o niveles de bioseguridad (NB) ya no son utilizados
- El manual de bioseguridad en laboratorios de TB de la OMS describe los requerimientos MINIMOS para los establecimientos y los procedimientos que pueden ser realizados siguiendo la evaluación de riesgo:

<http://www.who.int/tb/laboratory/resource>



Que es la evaluación de riesgo?

- Una evaluación de riesgo es simplemente la examinación cuidadosa de los peligros o riesgos que podrían causar daño a las personas en el lugar de trabajo
- Una evaluación de riesgo debe tomar en cuenta:
 - Carga bacteriana de los materiales y la viabilidad de los bacilos de TB
 - Ruta o vía de transmisión de TB
 - Si el manejo del material y la manipulación requerida para cada procedimiento tiene probabilidad de generar aerosoles
 - Número de maniobras para cada técnica que puede generar aerosoles
 - Carga de trabajo de laboratorio para cada miembro del personal
 - Localización del laboratorio
 - Epidemiología de la enfermedad y población de pacientes
 - Nivel de experiencia y competencia del personal de laboratorio
 - Salud del personal (especialmente el personal con VIH)

Como realizar una evaluación de riesgo?

- Identificar los potenciales peligros
- Establecer quién puede ser afectado y como
- Evaluar los riesgos y establecer las precauciones
 - Determinar las condiciones adecuadas de infraestructura
 - Evaluar al personal sobre el cumplimiento de prácticas seguras
 - Evaluar la integridad del equipo de seguridad
- Registrar los hallazgos e implementar correcciones
- Revisar su evaluación y actualizarla si es necesario
- Una herramienta para la evaluación de riesgo esta disponible en <http://www.gliquality.org/>

Niveles de precaución de riesgos: nivel bajo

Nivel de riesgo para laboratorio de TB	Actividad de laboratorio	Evaluación de riesgo
Bajo riesgo	Preparación de la muestra para baciloscopia o Xpert MTB/RIF	Bajo riesgo de generación de aerosoles infecciosos de las muestras; baja concentración de partículas infecciosas

Niveles de precaución de riesgos: nivel moderado

Nivel de riesgo para laboratorio de TB	Actividad de laboratorio	Evaluación de riesgo
Riesgo moderado	Procesamiento y concentración de muestras para análisis por Xpert MTB/RIF o inoculación primaria en medios de cultivo; separación de muestras; prueba directa de PSD (ej LPA de esputo procesado)	Riesgo moderado de generar aerosoles infecciosos de muestras; baja o moderada concentración de partículas infecciosas

Niveles de precaución de riesgos: nivel alto

Nivel de riesgo para laboratorio de TB	Actividad de laboratorio	Evaluación de riesgo
Alto riesgo (Laboratorios de contención o bioseguridad en TB)	Manipulación de cultivos para identificación; PSD o LPA en aislados de cultivo	Alto riesgo de generar aerosoles infecciosos de las muestras; alta concentración de partículas infecciosas

Requerimientos de bioseguridad para Xpert MTB/RIF: revisión

- Xpert MTB/RIF es un procedimiento de bajo riesgo y requiere del mismo nivel de precaución que se utiliza para realizar un análisis de microscopia fluorescente LED
- Trabajar en un área bien ventilada
- Utilizar guantes y bata de laboratorio durante todo el tiempo en que se manipulen muestras
- En establecimientos con alta carga de TB MDR, se deben tomar precauciones adicionales (mascarillas N95, cabinas de bioseguridad , etc) basado en la evaluación de riesgo

Preparación de muestras para analizar por Xpert MTB/RIF

- Agregue 2:1 partes de reactivo a la muestra. Este paso inactiva al bacilo *M. tuberculosis* de la muestra, por lo tanto reduce significativamente el riesgo para el personal que manipula la muestra.
- Cepheid provee 8 mL de reactivo para muestra por espécimen. Para procesar muestras mayores de 4ml se requiere más de un vial de reactivo de muestra.
- La separación o concentración de la muestra debe ser realizada en una cabina de bioseguridad (CBS) debido al riesgo de generar aerosoles

Clasificación de las actividades de laboratorio

- Preparación y tinción del frotis, proceso e inoculación de muestra en el cartucho para análisis en el Xpert MTB/RIF: [Actividad sucia]
- Observación microscópica de frotis teñidos: [Actividad limpia]
- Carga de cartuchos en el aparato de GeneXpert: [Actividad limpia]
- Registro y mantenimiento: [Actividad limpia]

Prácticas seguras: Flujo de aire



Adaptar de acuerdo a las guías del PNT en el país

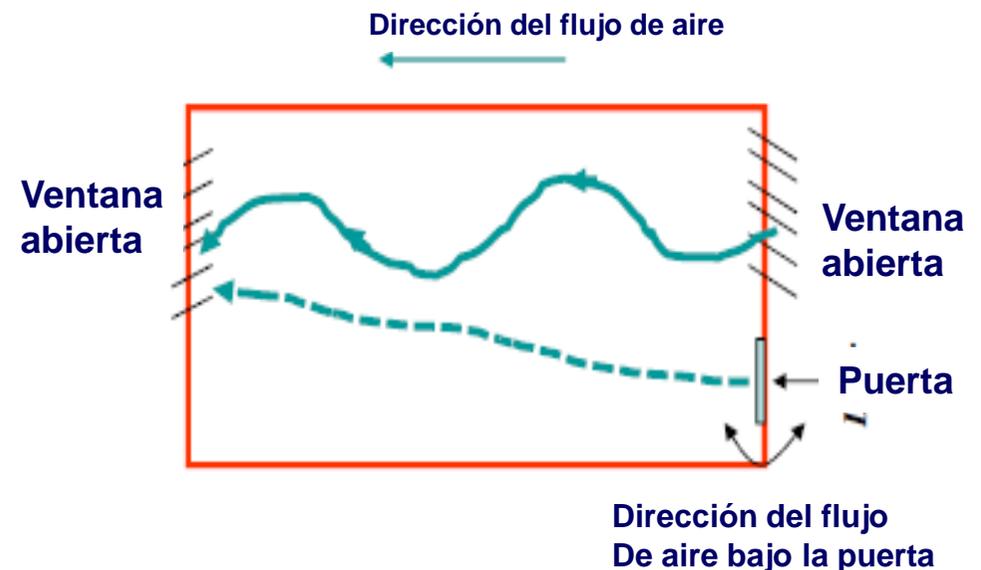
- **Uso del espacio en la mesa de trabajo:** La mesa de trabajo utilizada para procesar las muestras para la microscopia o para la preparación del análisis en el Xpert MTB/RIF deben estar separadas de las áreas de recepción de muestras y de las áreas administrativas del laboratorio.
- **Ventilación:** Los procesos de observación de frotis y preparación de muestras para análisis en Xpert MTB/RIF, deben ser llevados a cabo en área suficientemente ventilada utilizando técnicas microbiológicas apropiadas.



Prácticas seguras: adecuada ventilación

Adaptar de acuerdo a las guías del PNT en el país

- Para procedimientos de riesgo bajo, la ventilación natural debe ser suficiente y fluir a través del área de trabajo y hacia afuera.
- Cuando el clima impide que las ventanas se abran, se debe considerar la posibilidad de utilizar sistemas de ventilación mecánica, por ejemplo, ventilador eléctrico.
- Cuando la ventilación natural o mecánica no es apropiada, las estaciones de trabajo bien ventiladas son una opción viable para evitar los aerosoles de la preparación de frotis para microscopía o en la preparación de muestras para análisis en el Xpert MTB/RIF
(http://www.aphl.org/aphlprograms/global/Documents/GH_2011July_VentilatedWorkstationGuidance.pdf)
- Una CSB no es esencial para usar el Xpert MTB/RIF en muestras directas (i.e., muestras que no requieren separación o concentración)





Prácticas seguras: ventilación adecuada

Adaptar de acuerdo a las guías del PNT en el país

- La ventilación para laboratorios de TB ha sido descrita como un flujo de aire direccional con 6 a 12 cambios de aire por hora (CAH)
- Flujo de aire direccional se refiere al flujo de aire de las “áreas limpias” a través de las áreas donde se pueden generar aerosoles (áreas sucias) y hacia afuera.



Prácticas seguras: adecuada ventilación

Adaptar de acuerdo a las guías del PNT en el país

- Como determinar una adecuada ventilación:

Velocidad del aire

- Anemómetro

- Instrumento preciso
- Evaluación y verificación



- Vaneometer

- Simple & asequible
- Velocidad y dirección del aire
- Uso rutinario



Dirección del aire

- ▀ Tubos con humo



Cortesía de P. Jensen - CDC



Equipo de protección personal (EPP)

Adaptar de acuerdo a las guías del PNT en el país

- Guantes – esencial (descartables, sin talco)
- Bata de laboratorio – esencial
- Mascarillas – usualmente no se requiere, pero:
 - Su uso se establece basado en la evaluación de riesgo
 - Siempre debe haber en los equipos para derrames
 - N95 (NIOSH N95) / FFP2 (EN 149:2001)



EPP: Guantes

Adaptar de acuerdo a las guías del PNT en el país

- Requeridos para el procesamiento de muestras para análisis en el Xpert MTB/RIF testing
- Descartables, sin talco
- Utilizar guantes puede dar una falsa sensación de seguridad a los técnicos
 - **Es esencial el lavado regular de las manos**
- Quitese los guantes antes de usar la computadora para evitar contaminación
- NO reusar los guantes
- NO use guantes fuera del laboratorio





EPP: Batas de laboratorio

Adaptar de acuerdo a las guías del PNT en el país

- El uso de batas de laboratorio es esencial:
 - Deje las batas en el laboratorio (No llevar a casa)
 - Abrochese la bata cuando la tenga puesta
 - Utilice el tamaño y tipo adecuado
 - NO la utilice fuera del laboratorio
 - Lávela al menos semanalmente y seguido de alguna contaminación durante algún proceso (no se la lleve a casa); desinfectar antes de lavar

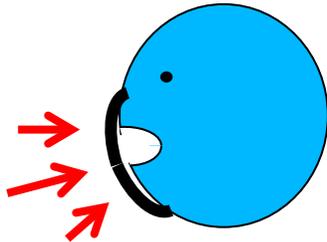




EPP: Mascarillas

Adaptar de acuerdo a las guías del PNT en el país

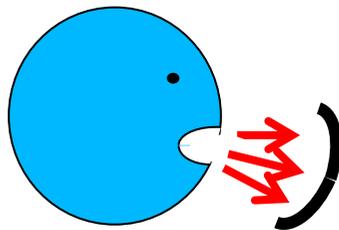
- Las mascarillas N95/FFP2 filtran efectivamente > 94-95% de las partículas de diámetro $\geq 0.3-0.4 \mu\text{m}$
- Las mascarillas tienen que estar adecuadamente colocadas en la cara!!



Proteger al usuario de la inhalación de núcleos de gotitas
(protección contra la inhalación)



- Mascarillas quirúrgicas no proveen protección contra la inhalación de aerosoles infecciosos



Prevenir la propagación de los microorganismos desde el usuario
(protección de la exhalación)



Desinfectantes

- Un desinfectante es un químico o mezcla de químicos usados para eliminar microorganismos
- Los desinfectantes son usualmente aplicados a las superficies u objetos inanimados
- Los desinfectantes pueden ser usados para tratamiento de decontaminación antes de autoclavar

NOTA: Debido a la estructura específica de su pared celular, el bacilo de TB es resistente a la mayoría de desinfectantes comunes, por ejemplo, los componentes de amonio cuaternario son inefectivos



Desinfectantes

Adaptar de acuerdo a las guías del PNT en el país

Seleccionar adecuadamente los desinfectantes para eliminar mycobacterias basado en el material a ser desinfectado:

- **FENOL**, 2-5% en agua (desionizada): Altamente irritante y se debe ser cuidadoso en su preparación, se utiliza como:
 - Descontaminar equipo, superficies, y objetos/líquidos previos a su descarte (es necesario usar guantes!)
 - Preparar diariamente y dejar en contacto con la superficie al menos durante 15 minutos para asegurar la descontaminación.
- **CLORO** 1-5% (hipoclorito de sodio - blanqueador): es irritante, y muy corrosivo para metales y plásticos
 - Para desinfectar en general, incluyendo objetos contaminados
 - Prepare diariamente y deje al menos 15 minutos en contacto para asegurar la descontaminación
 - ALMACENE EN UN ÁREA BIEN VENTILADA (gas tóxico) y NUNCA AUTOCLAVE
- **ALCOHOL** 70%: no residual, pero es volátil e inflamable
 - Utilice como desinfectante tanto de piel (seguido de lavado con jabón) como de superficies (incluyendo metales)
- **ACIDO PERACETICO**: no residual, pero con estabilidad de 48 horas posterior a su preparación
 - Rápida acción contra todos los microorganismos

Desinfectantes

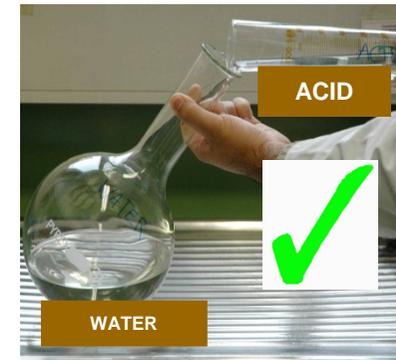
- Las soluciones diluidas deben prepararse diariamente
- Almacene las soluciones de acuerdo a las recomendaciones del fabricante
- Utilice soluciones comerciales para “situaciones sucias o difíciles” (asegúrese que el producto esta etiquetado como tuberculocida)
- Siga las guías nacionales de seguridad de químicos

NEVER ADD WATER TO ACID



Results in excessive heat, foaming, splashing!

ALWAYS ADD ACID TO WATER

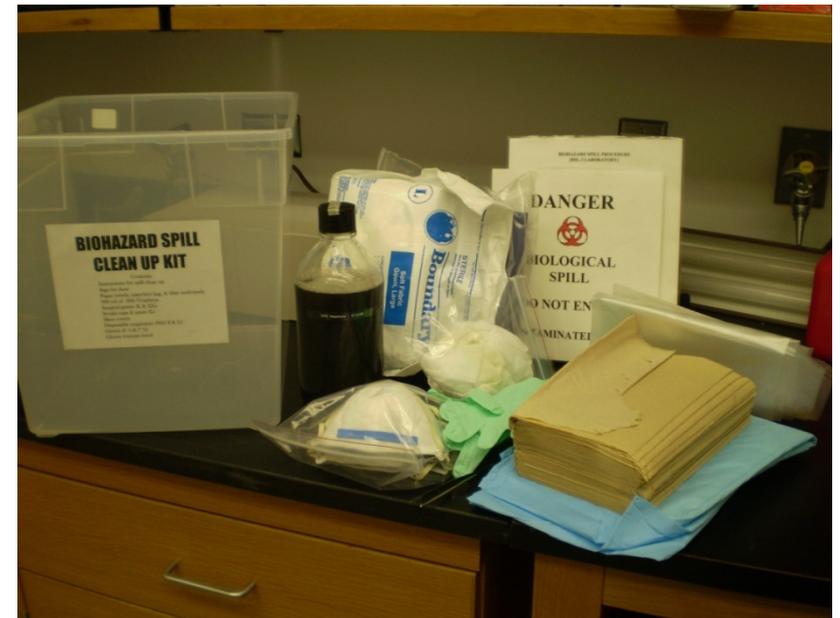


Pour slowly to avoid excessive heat build-up.



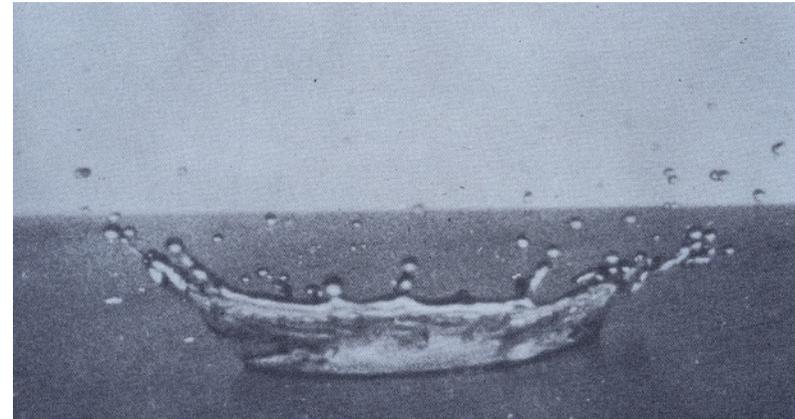
Equipo para derrames

- Todos los laboratorios que manipulen y procesen muestras para diagnóstico de TB deben contar con un equipo para derrames que contenga :
 - Instrucciones (POE) para limpieza de derrames
 - Bolsa grande de bioseguridad (autoclavable)
 - Desinfectante tuberculocida adecuado: hipoclorito (preparado recientemente), o derivados de fenol, almacenados en botella oscura
 - Batas de laboratorio (descartable) y lentes
 - Caja de guantes (de diferente tamaño) y mascarillas (N95/FFP2)
 - Papel toalla, algodón o tela absorbente
 - Jabón, tabletas de cloro
 - Recipiente recogedor
 - Señal de derrame "no entrar"
- Revise su contenido regularmente y reemplace lo necesario o cuando los materiales estén caducados



Procedimientos ante derrames

- Todo el personal del laboratorio debe estar entrenado ante derrames
- Las acciones requeridas son dependientes de donde ocurrió el derrame:
 - Fuera de una CSB
 - Dentro de una CSB



Procedimiento de limpieza de derrames

- ***Derrames fuera de una CSB (importancia mayor)***
 - Todo el personal debe ser evacuado y el laboratorio cerrarse e informar al director del laboratorio
 - Dejar el laboratorio con los sistemas de ventilación **encendidos**, incluyendo las CSB
 - No ingrese al laboratorio al menos durante una hora (coloque señales de prohibición de ingreso)
 - Antes de reingresar al área, **colóquese guantes, bata y mascarilla.**
 - Cubra el derrame con tela o papel absorbente y cubra con adecuado desinfectante (aplique el desinfectante concéntricamente, desde fuera hacia el centro del derrame)
 - Permita suficiente tiempo para que actúe el desinfectante (al menos 30-60 min.) antes de descartar cualquier material

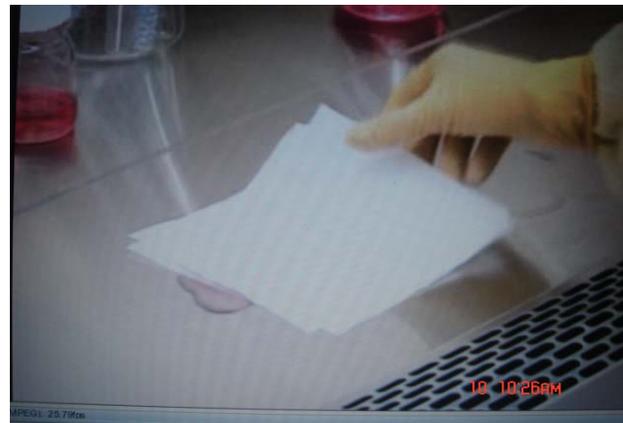
Procedimiento de limpieza de derrames

- ***Derrame fuera de la CSB (importancia mayor)- continua***
 - Recoja y coloque todo el material de limpieza en una bolsa descartable suministrada en el equipo de derrames, coloque la bolsa en un contenedor para ser autoclaveado (utilice un contenedor adecuado para objetos punzo-cortantes)
 - Cámbiese guantes si han sido contaminados; descártelos junto con el material descartable
 - Limpie y desinfecte el área de derrame
 - Refiera al personal expuesto para evaluación médica y registre los detalles del incidente en el libro de control de accidentes

Procedimiento de limpieza de derrames

● *Derrame dentro de la CSB*

- Cubra el área del derrame con tela o papel absorbente y un desinfectante adecuado, concéntricamente:
 - Cualquier equipo o material que haya sido salpicado debe ser limpiado (paredes y superficie interna de la CSB, recipientes de seguridad, etc.)
 - No utilice blanqueador para desinfectar partes de metal (es corrosivo)
- Deje suficiente tiempo para que el desinfectante actúe (30-60 min.) antes de descartar cualquier material



Procedimiento de limpieza de derrames

- ***Derrame dentro de la CBS- continúa***
 - Sobre la CSB, coloque todos los contenedores y material utilizado en la limpieza y colóquelo en una bolsa descartable proveída por el equipo de derrame, cierre y póngala en un contenedor para autoclavar
 - Reemplace los guantes si han sido contaminados
 - Descártelos con los demás desechos infecciosos
 - Refiera al personal expuesto para revisión médica y registre el evento en el libro de control de accidentes

Procedimiento de limpieza de derrames

- ***Rotura de tubos dentro de los vasos con tapas de la centrifuga***
 - Siempre utilice centrífuga con vasos con tapas
 - Cargue y descárguelos en CSB



Descarte de desechos



Adaptar de acuerdo a las guías del PNT en el país

- Al final de cada día, cierre y selle el material contaminado (recipientes de esputo usados, puntas de pipetas y cartuchos usados) en una bolsa de bioseguridad y autoclave y/o incinere o entierre tan pronto como sea posible

- Precaución: la incineración de plásticos puede liberar toxinas dañinas inhaladas al respirar



- Descontamine las puntas de pipeta con un desinfectante apropiado previo a su descarte

Todo el material usado debe ser considerado como contaminado!

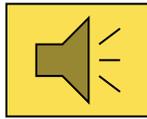


Si las guías actuales del PNT no describen adecuadamente el desecho de materiales infecciosos, pueden encontrar una guía general en la página 31 de la fuente a continuación en el caso que deseen cambiar esta diapositiva:

http://www.finddiagnostics.org/export/sites/default/resource-centre/reports_brochures/docs/malaria_rdt_transport_healthclinics_may09.pdf

Resumen

- El uso de Xpert MTB/RIF es un procedimiento de riesgo bajo y requiere el mismo nivel de precauciones que se utilizan cuando se realiza una baciloscopía
- El principal riesgo en el laboratorio está relacionado a la generación de aerosoles que puedan ser inhalados.
- El riesgo de la generación de aerosoles está asociado a los diferentes procedimientos realizados, su frecuencia, la carga de trabajo y la consistencia del material utilizado (viscoso vs sólido) y su carga bacilar.
- Una CSB es requerida solamente cuando se separa o se manejan concentrados de muestra.
- Seleccione desinfectantes adecuados contra mycobacterias basado en el material a desinfectar.
- Planes de preparación y respuesta ante emergencias: debe haber un plan ante accidentes en el laboratorio (derrames)



Evaluación

- ¿Cuáles son las fuentes de aerosoles infecciosos en el laboratorio?
- ¿Qué precauciones deben ser tomadas cuando se manipulan muestras para analizar en el Xpert MTB/RIF (directo e indirecto)?
- ¿Qué precauciones adicionales son necesarias para realizar el análisis en Xpert MTB/RIF comparado con la baciloscopia (directa e indirecta)?
- ¿Cuáles son los elementos críticos y el equipo necesario para procesar adecuadamente una muestra (directa o indirecta)?
- ¿Cuáles son los desinfectantes más eficientes en los laboratorios de TB?
- ¿Qué procedimientos deben ser seguidos cuando ocurre un accidente en el laboratorio?
- ¿Qué contiene un equipo contra derrames?
- ¿Cómo debe de manejar los desechos y materiales infecciosos?



Agradecimientos



TB CARE I