

Objetivos

- Proporcionar **orientación** para la **manipulación** de muestras con SARS-CoV-2.
- Ofrecer **instrucciones** para **reducir el riesgo** a límites aceptables y garantizar el **cumplimiento legal** vigente.

Advertencias

- La información ofrecida se basa en los conocimientos actuales sobre este y otros coronavirus (SARS-CoV y MERS-CoV) y en las guías y recomendaciones establecidas por la OMS y otros documentos relacionados.
- Los conocimientos sobre COVID-19 evolucionan rápidamente, por lo que la presente guía podrá ser revisada a la luz de nuevos datos.
- La legislación y/o normativas de cada país tendrán prevalencia sobre lo indicado aquí, si hubiese discordancia.
- Cada institución debe desarrollar la evaluación de riesgo y los procedimientos de trabajo específicos para su actividad. Este documento no puede considerar un protocolo de aplicación directa.

Medidas básicas de control

Procedimientos y barreras primarias básicas.

- Aplicar **recomendaciones** de la "Guía técnica del RD 664/1997" (INSST) y de la **OMS**.
- Técnicas, prácticas, equipos y EPIs específicos según técnicas a realizar.
- Uso de **EPIs** si hay riesgo de aerosoles o salpicaduras:
 - **Bata** de laboratorio resistente a salpicaduras (cierres trasero + puños elásticos) o **mono** completo, al menos tipo 4B.
 - **Guantes** de protección frente al riesgo biológico.
 - **Mascarilla** tipo FFP2 o superior.
 - **Gafas** hermética a salpicaduras o **pantallas** faciales.
 - **Gorro** desechable.
 - **Cubrezapatos**.
- Material biológico **no inactivado** en **Cabina de Seguridad Biológica** (CSB) de clase II certificada con cualificación vigente.
- **Micropipetas** (o puntas) con **barreras antiaerosoles**.
- **Contenedores** con **tapón de rosca**.
- **Desinfección** del **material** antes de retirarlo de la CBS.
- **Desinfección** de todas las **superficies** interiores de la CBS al finalizar el trabajo.
- **Programas de limpieza** y desinfección y de **gestión de residuos** peligrosos adecuados.

Controles administrativos y organizativos.

- **Evaluación** del **riesgo** biológico específica previa.
- Disponer de un **Asesor en Bioseguridad** (ABS).
- **Formación y entrenamiento** en uso de EPIs, equipos y normas de emergencia y contingencia.
- **Vigilancia** de la **salud** específica. Es aconsejable incluir pruebas diagnósticas para COVID-19 (PCR) (iniciales, periódicas y ante sospecha de exposición) y seguimiento serológico.
- **Comunicación** de cualquier **incidente** o **accidente** al ABS y/o al personal de prevención.

Biocustodia

- **Registros** que permitan **trazabilidad**:
 - Entradas y salidas.
 - Inventario y localización.
 - Utilización.
 - Destrucción.
- **Registros** informáticos **seguros** en emplazamiento seguro.
- **Control de acceso**.
- **Verificación** periódica de inventario.
- **Notificación** inmediata de **anomalías** al responsable de biocustodia.
- **Señalización** riesgo biológico.

Inactivación o fijado por métodos validados o con evidencia científica

Fuera del NCB2

Técnicas de laboratorio.

- **Extracción** manual o automática de **AANN**.
- **RT-PCR** de AANN.
- **Alicuotado** de **muestras biológicas inactivadas**.
- **Tinción** y análisis **microscópico**.
- **Tinción** y **examinación**.
- **Microscopía electrónica**.
- **Citometría**.

Medidas de control.

- Aplicar Buenas Prácticas y Procedimientos Microbiológicos (GMPP).

NCB2

Técnicas de laboratorio.

- Técnicas diagnósticas que **no impliquen proliferación del virus**.
 - **Preparación** de **muestras** frescas no inactivadas.
 - **Disgregación** de muestras solidas o viscosas (esputo, lavados).
 - **Adición** de **tampón** de lisis.
 - **Fijación** de **muestras**.
 - **Alicuotado** de **muestras biológicas no inactivadas**.
 - **Centrifugación** de muestras no inactivadas.
 - **Cell-sorting** o **FACS** de **muestras fijadas** (AMS).
 - **Cell-sorting** o **FACS** de **muestras no inactivadas**, con equipo en **CBS** específicamente diseñada, certificada y con cualificación vigente.

Instalaciones.

- **Superficies** descontaminables en mesa de trabajo, suelo y paredes.
- **Control de acceso**, preferiblemente electrónico.
- **Autoclave** disponible en el edificio.
- Recomendable sistema de **ventilación independiente y sin recirculación** de aire.

Medidas de control.

- **Medidas básicas** de control.
- **Señalización** de riesgo biológico.
- **Acceso restringido al personal formado y entrenado**.
- **Entrenamiento** en procedimientos de bioseguridad, equipos y EPIs (aprobado por ABS).
- Uso de **desinfectantes** adecuados.
- Uso de **centrifugas** con **tapas antiaerosoles**. Carga y descarga de los rotores o cestillos en CBS.
- **Puertas y ventanas cerradas** en todo momento.

NCB3

Técnicas de laboratorio.

- **Cultivo, aislamiento, purificación y caracterización** del virus.
- **Cell-sorting** o **FACS** de células viables con **virus no inactivado**.

Instalaciones.

- Todas las del **NCB2**.
- **Superficies** descontaminables en techos.
- **Control de acceso** electrónico (biométrico).
- **Antesalas** en acceso zona de contención.
- **Ventanas** no practicables y estancas.
- Sistema de **ventilación independiente sin recirculación**.
- **Gradiente diferencial unidireccional** de flujo continuo.
- **Control visual** in situ de **presión** diferencial con alarma.
- **Filtración HEPA** (H14) en **extracción**.
- Recomendado filtración HEPA en impulsión (H13).
- **Sistemas de intercambio de materiales** (SAS, airlocks, dunk tanks, autoclaves).
- **Vestuario** para cambio de ropa y colocación y retirada de EPIs o **duchas** de descontaminación a la salida.
- Si duchas de biodescontaminación, **tratamiento de efluentes** general.
- **Neutralización** de los **efluentes** generados en el laboratorio antes de su retirada o vertido al desagüe (general o localizado).
- **Autoclave** de **doble puerta** en barrera de contención.

Medidas de control.

- Todas las del **NCB2**.
- **Formación y entrenamiento** en condiciones NCB3 (aprobado por ABS).
- **EPIs**:
 - Mono completo y cubrebotas tipo 4B o superior.
 - Mascarilla FFP3, y/o en su caso capuz ventilado.
 - Uso de doble guante con certificado "virus".
- **Descontaminación** de **EPI** antes de abandonar la zona de trabajo.
- **Procedimientos** normalizados para **retirada** de **EPIs**.
- **Lavado de manos, expectoración**, limpieza de la **mucosa nasal** y **cepillado** de **uñas** antes de abandonar la zona NCB3.
- **Procedimientos de descontaminación validados** de superficies y espacios.
- **Registro** utilización material biológico.

Transporte

Exterior.

- **Muestras de diagnóstico: Categoría B** (UN3373).
- **Cultivos** de virus: **Categoría A** (UN2814).
- **No vehículos privados**.
- **Recipientes primarios estancos**.
- **NCB2**: preparación de recipiente primario en cabina, secundario en lab.
- **NCB3**: preparación de contenedores primario y secundario en cabina.
- **Desinfección** de contenedor **secundario** al salir del lab.

Interno.

- **Contenedor secundario** para **ultracongeladores**.
- **Contenedor secundario estanco y resistente** para transporte interno.

Desinfectantes	Concentración	Tiempo de contacto	Utilización
Etanol	70%	1 min	Superficies
Hipoclorito sódico (lejía)	0,1% (1.000 ppm)	10 min	Superficies
Hipoclorito sódico (lejía)	1% (10.000 ppm)	10 min	Vertidos o líquidos con carga orgánica
Amonios cuaternarios	Instrucciones del fabricante	Instrucciones del fabricante	
Peróxido de hidrógeno-ácido peracético	Instrucciones del fabricante	Instrucciones del fabricante	Superficies y vertidos o líquidos con carga orgánica
Virkon™	1% (10gr, 1 l)	10 min	
Perasafe™	1,62% (16,2 gr, 1l)	10 min	

Referencias

1. ABSA International. Considerations for Handling Potential SARS-CoV-2 Samples. 20/3/2020
2. CDC. Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with COVID-19 (web). 31/3/2020.
3. Chin A et al. Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions. Lancet Microbe. 2020. + Anexo suplementario.
4. G. Kampf et al. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. Journal of Hospital Infection. 2020.
5. ISAC. New SARS-COV-2 sorting protocols released (web). 26/3/2020.
6. INSST. Guía Técnica Evaluación y Prevención Riesgos con agentes biológicos. 2014.
7. OMS. Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease (COVID-19). 19/3/2020.
8. RD 664/1997. Protección de los trabajadores contra el riesgo biológico.