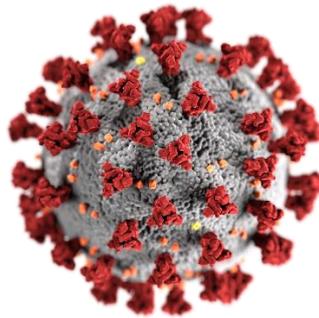


Gestión del riesgo biológico en laboratorios que manipulen muestras con SARS-CoV-2 (COVID-19)



Abril. 2020



Contenido

1	Introducción	3
2	Objetivo	3
3	Advertencias.....	3
4	Medidas básicas de control en laboratorios con muestras de SARS-CoV-2.....	3
4.1	Procedimientos y barreras primarias básicas	3
4.2	Controles administrativos y organizativos	4
5	Nivel de Contención Biológica 2 (NCB2).....	5
5.1	Técnicas de laboratorio que se deberían desarrollar con este nivel de contención.....	5
5.2	Instalaciones.....	5
5.3	Otras medidas de control	6
6	Nivel de Contención Biológica 3 (NCB3).....	6
6.1	Técnicas de laboratorio que se deberían desarrollar con este nivel de contención.....	6
6.2	Instalaciones.....	6
6.3	Otras medidas de control	7
7	Biocustodia (biosecurity).....	7
8	Transporte de muestras	8
9	Desinfectantes.....	8
10	Gestión de residuos.....	9
11	Recogida de vertidos	10
12	Referencias	11

1 Introducción

La Asociación Española de Bioseguridad (AEBioS), a petición de la Red Nacional de Biobancos (RNBB), ha desarrollado una actividad informativa y elaborado el presente documento como orientación para la manipulación de muestras con SARS-CoV-2 (COVID-19). Aunque, la motivación inicial surge del manejo de muestras en biobancos, las recomendaciones recogidas a continuación son aplicables a cualquier laboratorio que desarrolle otro tipo de actividades (p.e. diagnóstico, investigación) que vayan a manipular este tipo de muestras.

2 Objetivo

- Proporcionar orientación a los laboratorios para la manipulación de muestras o material biológico que contengan o puedan contener el coronavirus SARS-CoV-2 que causa la enfermedad denominada COVID-19.
- Para cada proceso con riesgo potencial, se detallan instrucciones y requerimientos cuyo seguimiento trata de reducirlos hasta límites de seguridad aceptables y de garantizar el cumplimiento del marco legislativo y normativo vigente.

3 Advertencias

- El presente documento se basa en los conocimientos actuales existentes sobre este y otros coronavirus (SARS-CoV y MERS-CoV) y en las guías y recomendaciones establecidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (8) y otros documentos relacionados (1, 3).
- Los conocimientos sobre COVID-19 están evolucionando rápidamente y se continúa monitorizando todos los desarrollos y nuevas investigaciones que se producen, por lo que la presente guía podrá ser revisada según se vayan descubriendo nuevos datos.
- La legislación y/o normativas de cada país (9) pueden estar en discordancia con las consideraciones de este documento, siendo la primera la que, en cualquier caso, debería prevalecer.
- Cada institución deberá realizar su propia evaluación de riesgos para determinar los protocolos de trabajo y los medios de protección más adecuados a su actividad específica, no pudiéndose considerar el presente documento como un protocolo de trabajo de aplicación directa.

4 Medidas básicas de control en laboratorios con muestras de SARS-CoV-2

4.1 Procedimientos y barreras primarias básicas

- Las recomendaciones descritas en la “Guía técnica para la Evaluación y prevención de los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos” (INSST) (7), especialmente los requerimientos de los niveles de bioseguridad para los laboratorios (Apéndice 12), serán de aplicación a TODOS los procedimientos de laboratorio que impliquen la manipulación de muestras posiblemente contaminadas por SARS-CoV-2.

- Además, se deberían tener en cuenta las recomendaciones indicadas por la OMS en sus publicaciones específicas sobre COVID-19 (8).
- Adicionalmente, se necesitarán implementar técnicas, prácticas y equipos de protección individual y colectiva según el tipo de manipulación que se vaya a realizar.
- Para el trabajo con muestras donde se puedan producir aerosoles o salpicaduras se deberán utilizar los siguientes equipos de protección individual (EPI):
 - Bata de laboratorio resistente a salpicaduras (preferiblemente cerrada por delante y anudada a la espalda y con puños elásticos) (tipo PB[4]-B) (EN 14126, EN 14605). Se puede sustituir por mono completo, como mínimo, de tipo 4B (EN ISO 13688, EN 14126, EN 14605).
 - Doble guante de protección certificados frente al riesgo biológico (EN ISO 374-5).
 - Mascarilla tipo FFP2 o superior (EN 149).
 - Gafas de protección ocular hermética a salpicaduras o en su defecto, pantallas faciales protectoras (EN 166).
 - Gorro desechable.
 - Cubre zapatos desechables (calzas).
- La manipulación de cualquier material biológico no inactivado se realizará en Cabina de Seguridad Biológica (CSB) de clase II certificada (EN 12469) con cualificación vigente.
- Se deberán usar micropipetas (o en su defecto sus puntas) con barreras antiaerosoles.
- Se deberán usar contenedores, tubos, etc., con tapón de rosca para evitar derrames por apertura accidental.
- Cualquier material deberá ser desinfectado antes de retirarlo de la cabina.
- Después de los trabajos se deberá desinfectar todas las superficies interiores de la cabina.
- Se deberán tener establecidos programas de limpieza y desinfección de la instrumentación utilizada, mobiliario y superficies del laboratorio
- Se deberá realizar una gestión de residuos peligrosos conforme a la normativa vigente.

4.2 Controles administrativos y organizativos

- Se deberá realizar una evaluación del riesgo biológico específica para los trabajos a realizar con SARS-CoV-2.
- La Institución debería contar con un Asesor en Bioseguridad (ABS) (UNE-CWA 16335) como pieza clave para todas las actividades relacionadas con la gestión del riesgo biológico: evaluación de riesgos, selección de equipamiento y EPIs, definición de procedimientos, formación del personal, etc.
- Es obligatorio que todo el personal esté familiarizado y se haya verificado su entrenamiento tanto en el uso de equipos de protección colectiva e individual, como en el seguimiento de las medidas de emergencia y contingencia establecidas.
- Se deberá realizar la vigilancia de la salud de los trabajadores adecuada y específica en relación con los riesgos por exposición a agentes biológicos. Es aconsejable que la vigilancia médica incluya la realización de pruebas diagnósticas para COVID-19 (PCR) iniciales, periódicas o siempre que se sospeche de una exposición involuntaria. Se recomienda un seguimiento serológico.
- Es obligatoria la comunicación de cualquier incidente o accidente ocurrido en el laboratorio al ABS y/o al servicio de prevención de riesgos laborales, según corresponda.

	Gestión del riesgo biológico en laboratorios que manipulen muestras con SARS-CoV-2 (COVID-19)	 Fecha: 11/4/2020 Página: 5 / 11
---	--	---

5 Nivel de Contención Biológica 2 (NCB2)

5.1 Técnicas de laboratorio que se deberían desarrollar con este nivel de contención

- Como norma general, las técnicas diagnósticas que no impliquen proliferación ni amplificación del virus de muestras no inactivadas se realizarán en un laboratorio NCB2 en cabina de bioseguridad.
- Ejemplos de estas técnicas:
 - Preparación de las muestras frescas no inactivadas.
 - Disgregación de muestras solidas o viscosas (p.e. esputo, lavados bronquiales, etc.).
 - Adición de tampón de lisis.
 - Fijación de muestras.
 - Alicuotado de lisados de virus (muestras donde las partículas virales han sido lisadas o inactivadas).
 - Alicuotado de muestras biológicas (plasma, sangre, etc.) no inactivadas.
 - Preparación de muestras no inactivadas para centrifugación.
 - FACS (fluorescence-activated cell sorting) y separación celular de muestras previamente fijadas. Estos equipos deberían disponer, en cualquier caso, de sistemas de gestión de aerosoles (AMS) (6).
 - FACS y separación celular de muestras no inactivadas, siempre y cuando el equipo se encuentre contenido en su propia cabina de bioseguridad clase II específicamente diseñada, certificada y con cualificación vigente (6).
- Aquellas muestras que se hayan fijado o inactivado mediante un proceso validado o con suficiente evidencia científica de efectividad, se podrán procesar fuera del laboratorio NCB2.
- Ejemplos de este tipo de técnicas son:
 - Extracción de ácidos nucleicos por métodos manuales o automáticos de muestras fijadas o inactivadas.
 - RT-PCR de muestras de ácidos nucleicos.
 - Alicuotado de muestras biológicas (plasma, sangre, etc.) inactivadas.
 - Tinción y análisis microscópico de frotis previamente fijados.
 - Tinción y examinación de tejidos fijados.
 - Microscopía electrónica de especímenes previamente fijados.
 - Citometría con muestras fijadas.
- Para las técnicas a desarrollar fuera del NCB2 serán de aplicación las Buenas Prácticas y Procedimientos Microbiológicos (GMPP) recogidas por la OMS.

5.2 Instalaciones

- Superficies resistentes a la humedad y a los productos químicos en mesa de trabajo, suelo y paredes.
- Control de acceso, preferiblemente electrónico.
- Autoclave disponible en el edificio.
- Es recomendable que los laboratorios NCB2 dispongan de un sistema de ventilación independiente y sin recirculación de aire.

	Gestión del riesgo biológico en laboratorios que manipulen muestras con SARS-CoV-2 (COVID-19)	 Fecha: 11/4/2020 Página: 6 / 11
---	--	---

5.3 Otras medidas de control

- Todas las medidas básicas de control descritas anteriormente, especialmente el uso de EPIs.
- Señalización de riesgo biológico.
- Acceso restringido al laboratorio al personal formado y entrenado.
- Entrenamiento supervisado y aprobado por el ABS en los procedimientos de bioseguridad y uso de equipos de protección individual y colectiva, planes de contingencia y emergencia.
- Descontaminación de espacios y las superficies con procedimientos y productos eficaces y validados contra virus con envuelta, siguiendo las recomendaciones del ABS (ver más adelante).
- Uso de centrifugas con tapas antiaerosoles. La carga y descarga de los rotores o cestillos se realizarán en CBS.
- Puertas y ventanas (si fueran practicables) deberán permanecer cerradas en todo momento.

6 Nivel de Contención Biológica 3 (NCB3)

6.1 Técnicas de laboratorio que se deberían desarrollar con este nivel de contención

- Cultivo, aislamiento, purificación y caracterización de partículas virales de SARS-CoV-2 procedentes o recuperadas de cultivos.
- FACS y separación celular con células viables infectadas con virus no inactivado (6).

6.2 Instalaciones

- Todas las aplicables al NCB2.
- Superficies resistentes a la humedad y a los productos químicos en mesa de trabajo, suelo, paredes y techos.
- Control de acceso electrónico, preferentemente biométrico.
- Antesalas en el acceso al área de trabajo.
- Ventanas no practicables y estancas.
- Sistema de ventilación sin recirculación e independiente.
- Presión negativa (subatmosférica) en gradiente diferencial unidireccional de flujo continuo.
- Control visual *in situ* del mantenimiento de la presión negativa diferencial dotado de alarmas ópticas y/o acústicas.
- Filtración HEPA H14 (EN 1822) en el aire de extracción.
- Se recomienda filtración HEPA en aire de impulsión, al menos H13 (EN 1822).
- Sistemas de intercambio de materiales (SAS, airlocks, dunk tanks, autoclaves) que aseguren que el proceso de salida se realiza de manera segura tras un proceso de descontaminación adecuado.
- Área (vestuario) para el cambio completo de ropa y colocación y retirada segura de ropa de protección y EPIs sobre ropa de trabajo. El vestuario puede disponer además de duchas de descontaminación para el personal a la salida de la zona biocontenida.
- En caso de disponer de duchas de biodescontaminación personal, tratamiento centralizado de los efluentes generados mediante métodos validados.

	Gestión del riesgo biológico en laboratorios que manipulen muestras con SARS-CoV-2 (COVID-19)	 Fecha: 11/4/2020 Página: 7 / 11
---	--	---

- En caso de no disponer de un sistema de tratamiento de efluentes general o común para toda la instalación, se deberán utilizar sistemas localizados de inactivación de los efluentes generados en el laboratorio (sistema asociado al fregadero u otros sistemas), antes de su retirada o vertido al sistema general de desagüe. Debe tenerse en cuenta la normativa de protección para el medio ambiente.
- Autoclave de doble puerta disponible en la barrera de la zona de contención.

6.3 Otras medidas de control

- Todas las medidas para NCB2.
- Formación y entrenamiento en condiciones NCB3, informado y autorizado por el ABS.
- Protección corporal y respiratoria completa:
 - Mono completo y calzas tipo 4B / PB[4]-B o superior (EN ISO 13688, EN 14126, EN 14605).
 - Mascarilla FFP3 (EN 149), y/o en su caso capuz ventilado (EN 12941).
 - Uso de doble guante con certificación “virus” (EN ISO 374-5).
- Descontaminación de EPI antes de abandonar la zona de trabajo.
- Retirada de EPI en zona segura por procedimientos homologados normalizados
- 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 de utilización de material biológico en el laboratorio.

7 Biocustodia (biosecurity)

Serán de aplicación las siguientes medidas:

- Se deberán establecer los registros necesarios que permitan una trazabilidad de las muestras desde su entrada en la instalación hasta su eliminación o envío. Entre ellos:
 - Registro de entradas y salidas del material biológico (fecha, hora, origen, destino) con codificación única de cada muestra.
 - Registro e inventario de la localización de las muestras biológicas y su almacenamiento.
 - Registro de utilización que recoja destino, movimientos, usos (técnicas) dentro de la instalación NCB2/NCB3, incluyendo la recodificación de alícuotas en su caso.
 - Registro de destrucción de muestras biológicas.
 - Registro de personal implicado en la biocustodia.
- Se deberían utilizar preferentemente registros informáticos seguros con copia de seguridad, igualmente segura.
- Conservar en lugar y medio seguro la documentación y registros físicos e informáticos generados durante al menos cinco años.
- Control de accesos a los cuartos de almacenamiento.
- Verificación periódica de la situación física de las muestras biológicas.
- En caso de apreciarse anomalías contables, informar de manera inmediata al responsable de biocustodia (ABS o persona designada).

	Gestión del riesgo biológico en laboratorios que manipulen muestras con SARS-CoV-2 (COVID-19)	 Fecha: 11/4/2020 Página: 8 / 11
---	--	---

- Señalización de riesgo biológico del área de biocustodia.

8 Transporte de muestras

- Envío de muestras al exterior (transporte externo):
 - El transporte externo de muestras de diagnóstico potencialmente infectadas con SARS-CoV-2 se realizarán conforme a las normas para sustancias infecciosas de categoría B (instrucción de embalaje P650 y UN3373), solo con embalajes certificados (8).
 - El transporte externo de cultivos o concentrados virales infectadas con SARS-CoV-2 se realizarán conforme a las normas para sustancias infecciosas de categoría A (instrucción de embalaje P620 y UN2814), solo con embalajes homologados (8).
 - Está prohibido el transporte en vehículos privados.
 - Sólo se usarán contenedores primarios que aseguren un cierre estanco.
 - Si el transporte se realiza desde una instalación NCB2: El recipiente primario se desinfectará antes de retirarlo de la cabina. En el propio laboratorio NCB2 se preparará el contenedor secundario. El contenedor secundario se desinfectará superficialmente antes de retirarlo del NCB2.
 - Si el transporte se realiza desde una instalación NCB3: El contenedor primario y secundario se prepararán en cabina de bioseguridad, descontaminando el contenedor secundario también interiormente dentro de la cabina. El contenedor secundario cerrado se descontaminará exteriormente antes de retirarlo de la cabina y antes de sacarlo de la zona de contención NCB3.
 - Se asegurará la descontaminación exterior de contenedores primarios y secundarios con desinfectantes de probada eficacia (ver más adelante).
- Transporte interno y almacenamiento:
 - Se aconseja el uso de contenedores secundarios (certificados para transporte externo, rígidos o bolsa) para el almacenado final en ultracongeladores.
 - El transporte interno de muestras se realizará en contenedores secundarios resistentes a caídas y estancos.

9 Desinfectantes

- Procedimiento básico de desinfección de superficies:
 1. Limpieza previa.
 2. Aplicación del desinfectante (pulverización, paño, etc.).
 3. Esperar tiempo de actuación.
 4. Lavado del desinfectante, si fuese oportuno en función del desinfectante utilizado.
- De acuerdo con las recomendaciones de la OMS y otros estudios (2, 4, 5, 8), los siguientes desinfectantes se consideran eficaces para virus con envuelta.

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

- (1) Vertidos o líquidos con carga orgánica: residuos de lisado de plasma o sangre, residuos de cultivo celular, lisados víricos, lavados alveolares, residuos de disgregación de muestras sólidas o viscosas, ...
- (2) En la desinfección con Virkon™ se recomienda un lavado posterior con etanol o agua destilada.

10 Gestión de residuos

- Los residuos sólidos provenientes de muestras no inactivadas se tratarán previamente, dentro de la cabina, con desinfectantes químicos eficaces (ver anteriormente).
- Posteriormente, serán gestionados como residuos biológicos (residuos sanitarios o biosanitarios clase III especiales, según la comunidad autónoma) o esterilizados en la propia instalación mediante autoclavado, si la misma estuviese preparada y autorizada por la autoridad competente.
- Los residuos líquidos en el NCB2 podrán ser inactivados mediante doble desinfección con desinfectantes químicos eficaces con la concentración adecuada para la inactivación de líquidos con carga orgánica (adición previa y posterior de la concentración necesaria de desinfectante para el volumen de residuo a producir) o mediante autoclavado (pequeños volúmenes).
- Si los volúmenes de trabajo lo permiten y previa consulta al gestor de residuos, restos de pequeños volúmenes de residuos líquidos de muestras frescas en sus tubos de recogida se podrán desechar en los contenedores de residuos biológicos, previo tratamiento con desinfectantes químicos.
- En los laboratorios NCB3, se seguirán los procedimientos de gestión de residuos ya establecidos en la propia instalación.

11 Recogida de vertidos

- Para la recogida de vertidos de material biológico no inactivado se tendrá en cuenta lo siguiente:
 1. Colocar material absorbente (tapetes, papel secamanos, absorbente granulado, etc.) sobre el vertido.
 2. Añadir sobre dicho material desinfectante con la concentración adecuada para la recogida de vertidos o inactivación de líquidos con carga orgánica.
 3. Recoger intentando producir la menor cantidad de aerosoles posibles y desechar como residuos biológicos.
 4. Desinfectar toda la superficie afectada.
- Si el vertido se produce en cabina, se detendrá el trabajo y se recogerá el vertido.
- Si el vertido se produce fuera de cabina se evacuará el laboratorio y se evitará el acceso al mismo.
- Se utilizarán los EPIs indicados en los procedimientos básicos. Si el vertido se produce fuera de la cabina, dependiendo del volumen del mismo, se optará por bata o mono desechable con cubrebotas.
- Todo el material desechable (absorbente, bolsas, EPIs) se desechará como residuo biológico.
- En los laboratorios NCB3, se seguirán los procedimientos de recogida de vertidos ya establecidos en la propia instalación.

12 Referencias

- (1) American Biological Safety Association (ABSA International). Considerations for Handling Potential SARS-CoV-2 Samples. 20/3/2020.
https://absa.org/wp-content/uploads/2020/03/ABSA2020_Covid-19-dr3.pdf
- (2) Anexo suplementario a Chin A W H, Chu J T S, Perera M R A, et al. Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions. Lancet Microbe. 2020.
[https://www.thelancet.com/journals/lanmic/article/PIIS2666-5247\(20\)30003-3/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanmic/article/PIIS2666-5247(20)30003-3/fulltext)
- (3) Center for Disease Control and Prevention (CDC). Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) (página web). Revisión 31/3/2020.
<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/lab-biosafety-guidelines.html>
- (4) Chin A W H, Chu J T S, Perera M R A, et al. Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions. Lancet Microbe. 2020. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(20\)30003-3](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(20)30003-3).
- (5) G. Kampf, D. Todt, S. Pfaender, E. Steinmann. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. Journal of Hospital Infection 104, 246-251. 2020.
[https://www.journalofhospitalinfection.com/article/S0195-6701\(20\)30046-3/pdf](https://www.journalofhospitalinfection.com/article/S0195-6701(20)30046-3/pdf)
- (6) International Society for Advancement of Cytometry (ISAC). New SARS-COV-2 sorting protocols released (página web). 26/3/2020.
<https://isac-net.org/news/news.asp?id=497501>
- (7) Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo (INSST). Guía técnica para la evaluación y prevención de los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos. 2014.
<https://www.insst.es/documents/94886/203536/Gu%C3%ADa+t%C3%A9cnica+para+la+evaluaci%C3%B3n+y+prevenci%C3%B3n+de+los+riesgos+relacionados+con+la+exposici%C3%B3n+a+agentes+biol%C3%B3gicos/22fd163d-8d8f-4259-a571-c0c14aeebeaf>
- (8) Organización Mundial de la Salud (OMS). Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease (COVID-19). 19/3/2020.
[https://www.who.int/publications-detail/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-2019-\(covid-19\)](https://www.who.int/publications-detail/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-2019-(covid-19))
- (9) R.D. 664/1997, de 12 de mayo, sobre Protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición de agentes biológicos durante el trabajo.
<https://www.boe.es/buscar/act.php?id=BOE-A-1997-11144&p=19980330&tn=3>