

## APÉNDICE 8. LABORATORIOS: REQUERIMIENTOS DE LOS NIVELES DE BIOSEGURIDAD

### INTRODUCCIÓN

El trabajo en laboratorio se debe realizar en unas determinadas condiciones de bioseguridad, para evitar o minimizar la liberación de material biológico y la exposición a este y, con ello, proteger al personal del laboratorio, al resto del edificio, al público en general y al medioambiente.

Se conoce por **bioseguridad** la aplicación combinada de unas buenas prácticas y técnicas de trabajo y de los elementos de contención para prevenir la exposición a agentes biológicos o su liberación accidental.

En el trabajo con agentes infecciosos o materiales potencialmente infectados es fundamental el cumplimiento estricto de unas buenas prácticas de trabajo y técnicas microbiológicas. Las personas que trabajan con agentes infecciosos deben conocer los posibles riesgos y estar capacitadas para manipular dichos materiales de forma segura.

Cada laboratorio tiene que desarrollar, implementar y mantener actualizado un manual de bioseguridad que

recoja estos procedimientos y prácticas de trabajo, identifique los riesgos que puedan producirse y especifique las medidas destinadas a evitar o minimizar la exposición a los agentes biológicos. Este manual se encontrará disponible en el laboratorio y debe ser conocido y leído por todo el personal.

La capacitación del personal, las prácticas y las técnicas de laboratorio se complementan con los elementos de contención. Por **contención** se entiende el confinamiento físico del agente patógeno mediante equipos de seguridad y el diseño y la construcción de las instalaciones del laboratorio.

Los equipos de seguridad o barreras físicas primarias tienen como objetivo evitar la fuga de microorganismos hacia el entorno de trabajo. Incluyen, entre otros, las cabinas de seguridad biológica (CSB), los recipientes cerrados, los autoclaves y los cestillos de cierre hermético de las centrifugas. En la tabla 1 se muestran algunos equipos de seguridad utilizados en los laboratorios, sus características y los usos más frecuentes.

Equipo	Protección frente a:	Características de seguridad	Usos
Cabinas de seguridad biológica (CSB). Clases I y II	Bioaerosoles Salpicaduras	<ul style="list-style-type: none"> <li>Trabajo a través de la abertura frontal.</li> <li>Flujo de aire frontal. Flujo de aire descendente laminar sobre el área de trabajo (CSB Clase II).</li> <li>Filtración (HEPA) del aire expulsado.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Operaciones que generen bioaerosoles en grandes cantidades o trabajos con agentes patógenos por vía aérea.</li> <li>Manipulación de equipos, paquetes o material contaminado o sospechoso de estarlo.</li> </ul>
CSB. Clase III	Bioaerosoles Salpicaduras	<ul style="list-style-type: none"> <li>Trabajo a través de mangas largas y guantes. Contención máxima.</li> <li>Filtración (HEPA) del aire introducido y expulsado.</li> </ul>	Operaciones con agentes biológicos grupo 4.
Aisladores			Operaciones que no se pueden realizar en CSB Clase III.
Propipetas (dispositivos de pipeteo)	Ingestión de patógenos Bioaerosoles	<ul style="list-style-type: none"> <li>Protege al usuario al evitar el pipeteo con la boca.</li> <li>Evita el goteo de la pipeta.</li> </ul>	Siempre que se requiera pipetear con pipeta de vidrio.
Asas de siembra desechables	Salpicaduras Bioaerosoles	<ul style="list-style-type: none"> <li>Un solo uso, no precisan calentamiento.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Cultivo microbiológico.</li> <li>Óptimas para el trabajo en CSB.</li> </ul>
Microincineradores (gas o electricidad)	Salpicaduras Bioaerosoles	<ul style="list-style-type: none"> <li>Protección mediante tubo de vidrio o cerámica. Evita las salpicaduras y la dispersión de bioaerosoles.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Esterilización de asas de siembra reutilizables en CSB.</li> </ul> <i>Colocar en la parte trasera de la superficie de trabajo de la CSB para evitar perturbar el flujo de aire.</i>
Frascos con tapón de rosca	Bioaerosoles Derrames	<ul style="list-style-type: none"> <li>Contención eficaz.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Apertura de frascos, recipientes de cultivo que puedan estar a una presión diferente de la atmosférica.</li> </ul>
Recipientes para agentes biológicos o muestras que los contengan	Liberación de microorganismos	<ul style="list-style-type: none"> <li>Robustez.</li> <li>Recipiente primario hermético para la muestra.</li> <li>Material absorbente para escapes.</li> <li>Recipiente secundario hermético y resistente a caídas (recogiendo al recipiente primario más el material absorbente).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Transporte entre laboratorios e instituciones.</li> </ul>

Equipo	Protección frente a:	Características de seguridad	Usos
Recipientes para material infeccioso	Bioaerosoles, derrames y fugas	<ul style="list-style-type: none"> <li>Herméticos, con tapa.</li> <li>Esterilización en autoclave.</li> <li>Duraderos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Recogida y transporte de material infeccioso destinado a la esterilización dentro del laboratorio.</li> </ul>
Mecanismo de bioseguridad de los instrumentos cortantes y punzantes	Cortes y pinchazos	<ul style="list-style-type: none"> <li>Impiden acceder a la zona cortante o punzante.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Extracción de sangre y otros fluidos biológicos.</li> <li>Otras técnicas médicas.</li> </ul>
Contenedores para objetos cortantes y punzantes	Cortes y pinchazos	<ul style="list-style-type: none"> <li>Robustos, a prueba de perforaciones.</li> <li>Posibilidad de tratamiento en autoclave.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Eliminación de objetos cortantes y punzantes con la mínima manipulación.</li> </ul>
Autoclaves	Material infeccioso	<ul style="list-style-type: none"> <li>Diseño aprobado.</li> <li>Esterilización térmica eficaz.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Destrucción de toda forma de vida en materiales destinados a la reutilización o a su eliminación.</li> </ul>
Ropa de protección	Contacto directo	<ul style="list-style-type: none"> <li>De protección frente a agentes biológicos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Siempre que se prevea la posibilidad de contacto con fluidos contaminados.</li> </ul>
Guantes	Contacto directo Cortes	<ul style="list-style-type: none"> <li>Guantes de protección biológica frente a hongos y bacterias o, adicionalmente, frente a virus, según el caso.</li> <li>Guantes de protección mecánica con resistencia al corte. <i>Pueden no ser desechables.</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Manipulación de agentes infecciosos, sangre y otros fluidos biológicos.</li> <li>Manejo de instrumentos cortantes o punzantes.</li> </ul>
Equipos de protección respiratoria (EPR)	Bioaerosoles	<ul style="list-style-type: none"> <li>Diferentes tipos de EPR. Su elección será acorde con el resultado de la evaluación de riesgos.</li> <li>En cualquier caso, los EPR filtrantes deben tener marcado el filtro con la letra P y el color blanco.</li> <li>Los EPR autofiltrantes llevarán el marcado FFP. <i>Para que el uso de los EPR dependientes del medio sea correcto, estos deben ajustarse herméticamente al rostro.</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Operaciones en las que se generan bioaerosoles que no se pueden evitar por otros medios.</li> </ul>
Protección ocular y facial	Contacto directo	<ul style="list-style-type: none"> <li>Gafas integrales.</li> <li>Pantallas faciales.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Operaciones en las que se prevea la posibilidad de proyección de partículas, las salpicaduras o la deposición de gotas en las mucosas.</li> </ul>

Tabla 1. Equipos de bioseguridad.

También se consideran como equipos de seguridad los EPI (guantes, ropa de protección, calzado y cubrecalzado, mascarillas, gafas, pantallas faciales) utilizados en combinación con otros elementos de contención como las CSB. En algunas situaciones en las que no se pueda trabajar en CSB, los EPI constituyen la única barrera entre la persona expuesta y los materiales infecciosos, como, por ejemplo, en actividades de necropsias en animales de gran tamaño y en actividades de mantenimiento, reparación o soporte de equipos o instalaciones del laboratorio.

El diseño y la construcción del laboratorio o barreras físicas secundarias tiene como objetivo impedir la liberación de microorganismos hacia el entorno o hacia otras zonas de trabajo, proporcionando una barrera de protección para las personas que se encuentran fuera del laboratorio, las personas y los animales de la comunidad y el medioambiente.

Como ejemplos de estas barreras de diseño y construcción se pueden citar los sistemas de ventilación especializados para garantizar el flujo de aire unidireccional, la instalación de filtros HEPA para descontaminar o eliminar agentes del aire y las esclusas que separan el laboratorio del resto del edificio.

El nivel de contención necesario para el trabajo en laboratorio con un agente biológico determinado se establece a partir del resultado de una evaluación de riesgos en la que se han de tener en cuenta:

- El peligro intrínseco del agente biológico que se va a manipular, que depende de las características del agente (patogenicidad, vías de transmisión, facilidad de contagio, disponibilidad de tratamiento, etc.). Este peligro queda establecido a partir de la inclusión del agente en uno de los grupos, en función del riesgo de infección, definidos en el artículo 3 del Real Decreto 664/1997, de 12 de mayo.

- Las características de la actividad: volumen y concentración de material infeccioso, procedimientos de trabajo, posibilidad de dispersión o de generación de bioaerosoles, uso de material punzante o cortante, etc.

Por tanto, **no debe equipararse directamente el nivel de contención con el grupo de riesgo** en el que se encuentra clasificado el agente biológico.

Teniendo todo esto en cuenta y en función de la combinación de las prácticas y las técnicas de laboratorio y de los elementos de contención, se establecen cuatro niveles de bioseguridad en laboratorios.

Además, aunque algunos agentes biológicos no sean patógenos para los humanos (grupo 1), sí pueden serlo para los animales y las plantas. En consecuencia, los requerimientos en bioseguridad están también condicionados por la protección de los animales y del medioambiente.

### CARACTERÍSTICAS DE LOS LABORATORIOS SEGÚN SU NIVEL DE BIOSEGURIDAD

A continuación, se indica un conjunto de recomendaciones con el propósito de orientar acerca de los requisitos mínimos que deben cumplir los laboratorios de los diferentes niveles de bioseguridad.

#### Laboratorio de nivel de bioseguridad 1

Este nivel es adecuado para trabajar con agentes biológicos bien caracterizados que se sabe que es poco probable que causen una enfermedad en adultos sanos y presentan un riesgo mínimo para el personal de laboratorio y el medioambiente.

Las características de bioseguridad de estos laboratorios son las siguientes.

##### *Prácticas y técnicas de laboratorio*

- Las puertas del laboratorio deben mantenerse cerradas y el acceso al mismo se limitará cuando los experimentos se hallen en marcha.
- Las superficies de trabajo se descontaminarán al menos una vez al día, al final de la jornada de trabajo, y después de cualquier derrame de material biológico.
- Se ha de mantener el orden y la limpieza dentro del laboratorio. Evitar acumulaciones de material y su almacenamiento en altura.
- La recogida y limpieza de derrames se realizará de forma segura según procedimiento escrito, que debe estar disponible en el laboratorio. El personal de limpieza debe estar adecuadamente formado y equipado.

- Debe evitarse el uso innecesario de agujas hipodérmicas, de jeringas o de otros instrumentos cortantes o punzantes. Cuando su uso sea imprescindible se utilizarán instrumentos con dispositivos de seguridad, a la vez que se especificarán y aplicarán procedimientos seguros tanto para su utilización como para su eliminación y la de los residuos contaminados (véase el apéndice 6).
- Los residuos cortantes o punzantes se recogerán en los contenedores correspondientes (véase el apéndice 4).
- En la medida de lo posible, se sustituirá el material de vidrio por el de plástico.
- Cualquier técnica o manipulación debe efectuarse de manera que se minimice la generación de bioaerosoles y salpicaduras.
- Está prohibido pipetear con la boca; para ello se emplearán dispositivos de tipo mecánico.
- Se evitará llevarse las manos o cualquier material a la boca, así como frotarse los ojos. El cabello debe llevarse recogido.
- Evitar la exposición de heridas abiertas, cubriéndolas con apósitos estériles e impermeables.
- Cubrir o quitarse cualquier joya que pueda rasgar los guantes, contaminarse fácilmente o convertirse en fómites. Se debe considerar la limpieza y descontaminación de joyas o gafas, si tales artículos se llevan con regularidad.
- Prohibir el uso de auriculares, que pueden distraer al personal e impedir que se oigan las alarmas de equipo o de las instalaciones. Mantener los dispositivos electrónicos portátiles en zonas en las que no puedan contaminarse o actuar como fómites que transmitan la infección.
- No está permitido comer, beber, fumar, aplicarse cosméticos o llevar lentes de contacto en el laboratorio.
- No guardar comida ni bebida ni objetos personales en el laboratorio.
- El personal deberá lavarse las manos tras la manipulación de materiales o animales contaminados, después de quitarse los guantes y antes de salir del laboratorio.
- Estará prohibido salir del laboratorio con la ropa de trabajo y con los equipos de protección puestos.
- La ropa de trabajo no se guardará en el mismo lugar que la ropa de calle, recomendándose una doble taquilla, una para la ropa de calle y otra para la ropa de trabajo.

- Los equipos de protección deben retirarse de manera que se minimice la contaminación personal y la transferencia de material biológico fuera del área donde se manipulan.
- La recogida, la manipulación, el almacenamiento y el transporte de muestras, de material contaminado o de residuos se hará en contenedores específicos y de forma adecuada.
- Se implementará un sistema de gestión de residuos según la legislación específica (véase el apéndice 4).
- Se formará y capacitará a todo el personal en las distintas técnicas microbiológicas estándar, en el uso seguro de equipos e instrumental y en la puesta y retirada de EPI.
- Se debe implementar y mantener actualizado un manual de seguridad, accesible a todo el personal, que identifique los procedimientos y prácticas de trabajo, así como los protocolos para situaciones de emergencia, incluyendo exposiciones accidentales, emergencias médicas, mal funcionamiento de las instalaciones y otras emergencias potenciales. El personal del laboratorio debe recibir formación específica para estas emergencias.
- Se realizará la vigilancia de la salud del personal y la vacunación en función de los resultados de la evaluación.
- Se implantará un programa de desinsectación y desratización.
- No estará permitida la entrada de animales o plantas no relacionados con el trabajo del laboratorio.

#### *Equipos de seguridad*

- Normalmente no es necesario equipo de contención, como cabinas de seguridad biológica.
- Se dispondrá de sistemas mecánicos de pipeteo.
- Se recomienda el empleo de bata u otro tipo de ropa de trabajo que prevenga la contaminación de la ropa de calle.
- Se recomienda el uso de equipo de protección individual, como guantes y gafas o pantallas faciales, cuando exista la posibilidad de proyecciones o salpicaduras o para evitar el contacto mano-ojo.
- Cuando se trabaje con animales de experimentación se debe considerar el uso de otros EPI adicionales por la presencia de posibles alérgenos animales, como la protección respiratoria.

#### *Instalaciones*

- No es necesario que el laboratorio esté separado o aislado de otras zonas del edificio de tránsito público.
- Es recomendable que la puerta del laboratorio se cierre automáticamente, esté protegida contra incendios y esté provista de una ventanilla de observación u otro dispositivo alternativo que permita ver a los ocupantes, así como poner de manifiesto los accidentes e incidentes que puedan producirse.
- El laboratorio estará diseñado de manera que su limpieza resulte cómoda, con techos, paredes y suelos fáciles de limpiar.
- Las superficies de trabajo serán impermeables y resistentes a ácidos, álcalis, disolventes orgánicos y al calor moderado, fáciles de limpiar, evitando rendijas y esquinas que favorezcan la acumulación de suciedad.
- El mobiliario será robusto. Entre mesas, estanterías, armarios, cabinas y otros equipos debe haber el espacio suficiente para permitir la fácil limpieza y el movimiento cómodo de las personas trabajadoras. Las sillas del laboratorio deben estar recubiertas de un material no poroso de fácil limpieza y desinfección.
- El laboratorio dispondrá de lavamanos instalados cerca de la salida; si se considera necesario, se instalarán duchas de emergencia y lavaojos.
- Los vestuarios con taquillas para la ropa estarán fuera del laboratorio.
- En caso de ventanas practicables, estas deberán llevar protección frente a la entrada de insectos.
- Habrá espacio suficiente para el almacenamiento de materiales y reactivos de uso inmediato. Para el almacenamiento a largo plazo se recomienda un local fuera de la zona de trabajo. Se dispondrá de espacio e instalaciones para manejar y almacenar disolventes, material radioactivo y gases comprimidos en condiciones de seguridad y siguiendo las normativas específicas para ello.
- El laboratorio dispondrá de ventilación e iluminación adecuada, evitando reflejos y brillos molestos. Además, debe disponer de un sistema de iluminación de emergencia que permita salir del laboratorio en condiciones de seguridad y de un equipo eléctrico de reserva para alimentar los equipos esenciales (estufas, CSB, congeladores, etc.).
- El laboratorio contará con un botiquín y, si es necesario, con zona o sala de primeros auxilios.

## Laboratorio de nivel de bioseguridad 2

Este nivel es el adecuado para la manipulación de agentes biológicos que pueden causar enfermedades en el ser humano y suponen un peligro moderado para el personal y el ambiente.

Las principales vías de exposición del personal que trabaja con este tipo de agentes biológicos están relacionadas con accidentes, incluida la exposición por vía percutánea o mucosa y la ingestión de materiales potencialmente infecciosos.

**Se aplicarán todas las medidas descritas en el laboratorio de nivel de bioseguridad 1 más las que a continuación se expresan.**

### *Prácticas especiales*

- En la puerta de entrada del laboratorio se colocará la señal de peligro biológico, se identificará el nivel de bioseguridad del laboratorio, el agente o agentes infecciosos en uso, el nombre y el número de teléfono de las personas responsables y los requisitos especiales necesarios para poder acceder al laboratorio (por ejemplo, la necesidad de inmunización o el uso de mascarillas o de otros EPI).
- Solamente se permitirá el acceso al personal autorizado. Las personas especialmente sensibles no tendrán permitida la entrada.
- Se descontaminarán las superficies de trabajo de forma regular al finalizar el trabajo con material infeccioso y siempre que se produzcan derrames, salpicaduras u otra contaminación con material infeccioso. También los equipos del laboratorio deben ser descontaminados después de finalizado el trabajo con material infeccioso, en caso de proyecciones y salpicaduras, antes de someterlos a operaciones de mantenimiento o de reparación y antes de sacarlos del laboratorio. Estas operaciones se han de realizar según procedimientos escritos, por personal adecuadamente formado y con los EPI adecuados frente a los agentes infecciosos potencialmente presentes.
- Todo derrame o accidente que tenga como consecuencia la exposición a material infeccioso deberá ser comunicado para su registro, evaluación, control y tratamiento médico, si es necesario.
- Los materiales infecciosos (muestras, cultivos, materiales potencialmente infecciosos o residuos contaminados) no saldrán del laboratorio sin descontaminar. En caso de transporte fuera del laboratorio lo harán en contenedores específicos.
- Todas las técnicas que puedan producir bioaerosoles (por ejemplo, centrifugación, mezclas, apertura de envases de materiales infecciosos a distinta proyección,

sección, inserción de asas de siembra calientes en el cultivo, etc.) se realizarán, siempre que sea posible, en una CSB.

- El personal del laboratorio y de asistencia o soporte ha de recibir formación sobre los posibles riesgos asociados al trabajo en cuestión y las medidas preventivas necesarias para evitar o reducir la exposición. Esta formación se actualizará según las modificaciones en las condiciones de trabajo que se vayan introduciendo.
- Se realizará una vigilancia de la salud del personal del laboratorio, en función de los agentes manipulados o potencialmente presentes y prestando atención a su estado inmunitario.

### *Equipos de seguridad*

- Se dispondrá de CSB de clase I o preferiblemente de clase II u otros sistemas de protección física del personal, que se utilizarán cuando se lleven a cabo técnicas con riesgo por formación de bioaerosoles o cuando se manipulen grandes volúmenes o altas concentraciones de agentes infecciosos.
- Se dispondrá de ropa de trabajo y EPI, como guantes de protección frente a microorganismos, para la manipulación de material potencialmente infeccioso en el interior de las CSB y guantes, gafas y protección respiratoria para trabajos con material infeccioso realizados en la superficie de trabajo y en los que se puedan generar bioaerosoles, salpicaduras o proyecciones.

### *Instalaciones*

- Es aconsejable que el laboratorio donde se manipulen agentes biológicos esté alejado o separado de zonas de paso.
- Los suelos serán impermeables al agua y de fácil limpieza, sin rendijas ni esquinas, impidiendo así la acumulación de suciedad, y resistentes a ácidos, álcalis, disolventes y desinfectantes.
- La ventilación se diseñará de forma que se establezca un flujo de aire direccional desde el exterior del laboratorio (zona menos contaminada) hacia el interior (zona más contaminada), sin recirculación.
- Cada laboratorio dispondrá de lavamanos, duchas de emergencia y lavaojos. Los lavamanos se situarán cerca de la puerta de salida y se pondrán en funcionamiento preferiblemente mediante un pedal o de forma automática. La ubicación de las duchas de emergencia y lavaojos garantizará que sean alcanzadas en menos de 15 segundos desde cualquier puesto de trabajo, en dirección a la salida del laboratorio, y contarán con un accionador o pulsador fácilmente accesible.

- Es aconsejable tener en el mismo laboratorio o en un local anexo un sistema de descontaminación eficaz (autoclave, incinerador, métodos químicos) para el material de desecho o infeccioso.
- No se recomiendan ventanas practicables. No obstante, si lo son, estas deberán llevar protección frente a la entrada de insectos.

### Laboratorio de nivel de bioseguridad 3

Este nivel es el adecuado para trabajar con agentes que pueden causar una enfermedad grave o potencialmente letal por vía inhalatoria, generalmente agentes biológicos del grupo 3, así como con grandes volúmenes o concentraciones de agentes biológicos del grupo 2.

Las principales vías de exposición del personal que trabaja con este tipo de agentes biológicos están relacionadas con la exposición accidental a través de las vías percutánea o mucosa y la inhalación de aerosoles potencialmente infecciosos.

**Se aplicarán todas las medidas descritas para los laboratorios de nivel de bioseguridad 1 y 2 más las que a continuación se expresan.**

#### Prácticas especiales

- Acceso estrictamente controlado mediante sistema de control de acceso (tarjeta personal, sistema biométrico...). Solo entrará al laboratorio personal autorizado.
- Todas las actividades con manipulación de material infeccioso se realizarán en una CSB o mediante el empleo de equipos que ofrezcan una protección similar.
- El personal deberá ducharse antes de abandonar la zona de contención, principalmente cuando se trabaja con agentes que se transmiten por vía aérea o por contacto.
- Todos los filtros HEPA serán probados y certificados (test de integridad una vez al año y cada vez que el filtro sea sustituido). Se instalarán de forma que permitan su descontaminación *in situ* antes de retirarlos.
- Se elaborará un plan de contingencia para hacer frente a los accidentes que tengan lugar en el laboratorio en el que se deberá contar con las autoridades locales o nacionales (véase el artículo 6.1.h) del Real Decreto 664/1997, de 12 de mayo).

#### Equipos de seguridad

- Se dispondrá de CSB, preferiblemente de clase II o III. Cuando no se pueda realizar un procedimiento dentro de una cabina, se utilizarán las combinacio-

nes adecuadas de equipos de protección individual (véase el apéndice 3) y otros dispositivos de contención física.

- Deberá llevarse ropa de protección frente a agentes biológicos para el cuerpo completo (batas sin abertura delantera o trajes de dos piezas o tipo mono, gorros, etc.) y calzado de trabajo, de uso exclusivo en el laboratorio.

#### Instalaciones

- Es aconsejable que el laboratorio se encuentre separado de otras actividades que se desarrollen en el mismo edificio mediante una sala con dos puertas dispuestas en serie, cierre automático y un mecanismo de interbloqueo, que impida la apertura de ambas puertas a la vez. En esta antesala se incluirá, si fuera necesario, el espacio destinado al suministro de EPI, cambio de ropa o ducha.
- El laboratorio estará diseñado de manera que su limpieza resulte cómoda y accesible, con mesas, techos, paredes y suelos fáciles de limpiar, impermeables, evitándose las rendijas y esquinas y resistentes a la acción de ácidos, álcalis, disolventes y desinfectantes.
- La sala del laboratorio será hermética, con sellado de juntas externas (marco y puertas, entrada de tuberías, etc.) para garantizar una adecuada estanqueidad a la hora de su descontaminación.
- Las ventanas llevarán cristales resistentes a la rotura y permanecerán siempre cerradas y selladas.
- El lugar de trabajo debe mantenerse en presión negativa, de manera que el aire circule desde los pasillos o zonas menos contaminadas hacia el interior del laboratorio, de donde saldrá previamente filtrado al exterior sin recircularse. Se debe disponer de un sistema de verificación de estas presiones y alarmas, que notifiquen fallos en el funcionamiento.
- El aire de salida del laboratorio pasará a través de filtro HEPA antes de llegar al exterior. La instalación debe permitir la descontaminación con gases y la realización de las pruebas de verificación del filtro.
- Las líneas de vacío se protegerán con trampas de desinfectante y con filtros HEPA o equivalente.
- En el mismo laboratorio, preferiblemente, o en un local anexo deberá colocarse un sistema de descontaminación aprobado para el material infeccioso (autoclave, métodos químicos, incinerador).
- Es aconsejable que el diseño, los parámetros operativos y las prácticas de mantenimiento de las instalaciones estén documentados. Antes de empezar a

trabajar se recomienda hacer una prueba para verificar que se ha cumplido con el diseño y con los parámetros operativos del establecimiento. Además, periódicamente, al menos una vez al año, se deberá hacer una verificación de la instalación, sobre la base de estos procedimientos, según hayan sido modificados o no por la experiencia operativa.

- Las características de la instalación, las variables operacionales y los manuales de uso y mantenimiento deben estar documentados y mantenerse actualizados. Antes de la puesta en marcha del laboratorio, se recomienda verificar el cumplimiento de todos los requisitos. Además, deberán actualizarse periódicamente (al menos una vez al año) o cuando se produzca una modificación de la instalación o los procedimientos.
- La conexión de agua destinada al laboratorio será independiente de la del agua de bebida. El abastecimiento de agua potable estará protegido contra el reflujos.

#### Laboratorio de nivel de bioseguridad 4

Este nivel es adecuado para la manipulación de agentes biológicos que presentan un alto riesgo individual de infecciones transmitidas por vía aérea y enfermedades que con frecuencia son letales, para las que no existen vacunas ni tratamientos; y agentes relacionados con riesgo de transmisión desconocido.

Las principales vías de exposición del personal que trabaja con este tipo de agentes biológicos están relacionadas con la exposición accidental a través de las vías percutánea o mucosa y la inhalación de bioaerosoles potencialmente infecciosos.

**Se aplicarán todas las medidas descritas en los laboratorios de nivel de bioseguridad 1, 2 y 3 más las que a continuación se expresan.**

##### *Prácticas especiales*

- Se ha de trabajar como mínimo en parejas; ninguna persona debe quedarse sola en el laboratorio.
- El personal debe estar capacitado y entrenado para la evacuación en caso de que un miembro del personal sufra lesiones o enferme. Se dispondrá de protocolos prácticos y efectivos para situaciones de emergencia.
- La entrada y salida de materiales, muestras y equipos se realizará a través del sistema de caja de paso por autoclave, esclusa o cámara de fumigación de doble puerta, que será adecuadamente descontaminada entre un uso y otro.
- Los materiales biológicos que tengan que salir en estado viable del laboratorio o de las cabinas de

clase III lo harán en un contenedor primario sellado e irrompible, el cual irá en un segundo contenedor también sellado, irrompible y de fácil descontaminación en superficie, que pasará antes de salir del laboratorio por un tanque de inmersión en líquido desinfectante.

- Todos los efluentes líquidos procedentes del lado sucio o de la zona contaminada (zona de trabajo que requiera trajes especiales, la cámara y ducha de descontaminación o la CSB de clase III y el vestuario interior) serán descontaminados por calor o por otro método probado antes de descargarse a la red sanitaria general del edificio.
- Las personas autorizadas deben estar informadas de los posibles riesgos y de las medidas de seguridad adecuadas que han de adoptar para su seguridad y la de los demás; por lo que deben cumplir con las instrucciones y los procedimientos aplicables a la entrada y a la salida del laboratorio.
- El personal que trabaja con organismos en este nivel de bioseguridad estará capacitado en las prácticas y técnicas microbiológicas estándar y en las prácticas y operaciones especiales específicas del laboratorio.
- Al entrar al laboratorio el personal se desnudará completamente y, a continuación, se pondrá la ropa exclusiva del laboratorio, incluyendo la ropa interior. Del mismo modo, al salir, el personal se duchará y a continuación se pondrá la ropa de calle. La ropa sucia o contaminada se introducirá en una caja para su descontaminación antes de salir para ser lavada. El vestuario para ponerse y quitarse la ropa de calle (vestuario exterior) debe ser distinto del de ponerse y quitarse la ropa de laboratorio (vestuario interior), y ambos estarán separados por una ducha.
- Antes de comenzar el trabajo se realizará una inspección diaria de todos los parámetros de contención (por ejemplo, flujo de aire unidireccional, duchas químicas) y sistemas de soporte vital para asegurarse de que el laboratorio está operando de acuerdo con sus parámetros operativos.
- Habrá un libro de registro firmado por todo el personal, que recogerá la fecha y hora de cada entrada y salida.

##### *Equipos de seguridad*

- Todas las manipulaciones que se lleven a cabo en el laboratorio se efectuarán dentro de una CSB de clase III o en una CSB de clase II en combinación con traje especial de una sola pieza, dotado de presión positiva y con suministro de aire filtrado por filtro HEPA, también dispondrá de una fuente de aire independiente, para utilizarla en caso de emergencia (véase el apéndice 3).

### Instalaciones

Hay dos modelos de laboratorios de nivel de bioseguridad 4 en función de cómo se establece el sistema de contención primaria:

- **Laboratorio en el que toda manipulación del agente se realiza dentro de una CSB de clase III.** El laboratorio consiste en una sala aislada dentro del edificio en cuyo interior se encuentra una CSB de clase III. La entrada a dicha sala está diseñada para garantizar el paso a través de un vestíbulo, esclusa, *air lock* o sala con dos puertas dispuestas en serie, de cierre automático y estanco hacia el interior, dotadas de un mecanismo que impida la apertura de ambas al mismo tiempo. Para entrar en la sala con la CSB de clase III será necesaria una ducha, por lo que se dispondrá de un vestuario interior (ropa de trabajo) y otro exterior (ropa de calle) para el cambio de ropa, separados por duchas higiénicas a disposición del personal que entra y sale de la sala con la CSB de clase III.
- **Laboratorio en el que se requiere el uso de trajes de protección especiales de una sola pieza, con respiración asistida y con presión positiva en el interior en relación con el ambiente exterior.** Consiste en una sala aislada dentro del edificio diseñada de forma que el personal, al salir de la sala donde se manipula el material infeccioso, pase a través de una zona de descontaminación y vestuario, en donde se someterá a una ducha de descontaminación química de la superficie del traje, y a continuación pasará a un vestuario interior (ropa de trabajo) separado por una ducha higiénica del vestuario exterior (ropa de calle).

La entrada en la zona del laboratorio destinada al trabajo con trajes especiales se realizará por una sala o esclusa con dos puertas de cierre automático, estanco y con dispositivo antibloqueo que impida la abertura de ambas puertas a la vez.

Estos laboratorios dispondrán de un sistema apropiado de alarma que el personal podrá utilizar en caso de fallo del sistema mecánico o de aire.

Los laboratorios de este nivel de bioseguridad pueden estar basados en uno de estos modelos o en la combinación de ambos en el mismo establecimiento. Si se utiliza una combinación, cada tipo debe cumplir todos los requerimientos necesarios.

- El laboratorio de nivel 4 estará situado en un edificio independiente o en una zona claramente delimitada en el interior de un edificio.

- Se dispondrá de cámaras de cierre hermético o sistemas de caja de paso (autoclave, *air lock*, tanque de inmersión) o cámara de fumigación con doble puerta (una puerta hacia la sala con la CSB de clase III o hacia la sala para trabajar con trajes especiales y otra puerta hacia el exterior de estas salas). Las puertas de estas cámaras estarán diseñadas de forma que la puerta exterior no pueda abrirse a menos que el autoclave haya completado un ciclo de esterilización o que la cámara de fumigación haya sido descontaminada.
- La sala con la CSB de clase III o la sala para el trabajo con trajes especiales y el vestuario interior serán estancos, permitiendo su precintado para la fumigación. Todas las superficies internas de estos locales, así como las penetraciones a los mismos (tuberías) estarán selladas. Las superficies internas de estos locales (mesa, suelo, paredes y techos) serán lisas, impermeables, fáciles de limpiar, evitándose las rendijas y esquinas, y resistentes a la acción de ácidos, álcalis, disolventes y desinfectantes.
- Las puertas de acceso serán de cierre automático y con posibilidad de ser cerradas con llave.
- Cualquier ventana que exista llevará cristal irrompible y estará sellada.
- La entrada y salida de aire será a través de filtro HEPA (es aconsejable que la salida de aire sea previo paso por dos filtros HEPA). Debe mantenerse la presión negativa dentro de las instalaciones. El sentido del flujo de aire debe ir de la zona menos contaminada a la más contaminada, existiendo una alarma que indique una dirección de flujo incorrecta. El aire del laboratorio de nivel de bioseguridad 4 no se recirculará a otras zonas.
- Si existe un sistema centralizado de vacío, debe serlo a través de filtros HEPA; otros servicios que se suministran al laboratorio, tanto de líquidos como de gases, estarán protegidos por un dispositivo que evite el reflujo.
- Las líneas de suministro eléctrico serán exclusivas del laboratorio; también habrá equipos de iluminación de emergencia.
- Se instalarán sumideros de contención.
- Existirán sistemas de comunicación entre el laboratorio y el exterior (micrófonos, teléfonos).
- Se recomienda implementar un sistema de grabación visual que registre toda actividad del personal que trabaja en el laboratorio.