
GUÍA DE LA RED NACIONAL DE BIOBANCOS PARA EL MANEJO DE MUESTRAS HUMANAS EN INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA

RECOMENDACIONES ANTE LA PANDEMIA DE COVID-19

Documento elaborado por:

Teresa Escámez Martínez

M^a Antonia Fortuño Cebamanos

Máximo Francisco Fraga Rodríguez

Lluís Gallart Millán

Jacobo Martínez Santamaría

Alberto Rábano Gutiérrez del Arroyo

Montserrat Torà Barnadas

Vanesa Val Varela

Cristina Villena Portella

GUÍA DE LA RED NACIONAL DE BIOBANCOS PARA EL MANEJO DE MUESTRAS HUMANAS EN INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA

RECOMENDACIONES ANTE LA PANDEMIA DE COVID-19

VERSIÓN 01, 12/04/2020

ÍNDICE

OBJETIVOS Y ALCANCE DE ESTA GUÍA	3
RECOGIDA Y ENVÍO DE MUESTRAS CLÍNICAS AL BIOBANCO	4
NIVELES DE CONTENCIÓN BIOLÓGICA: APLICACIÓN AL TRABAJO EN BIOBANCO	8
TIPOS DE MUESTRA Y DE PROCESAMIENTO: CLASIFICACIÓN POR NIVELES DE CONTENCIÓN	12
LIMPIEZA Y MÉTODOS DE DESINFECCIÓN	14
ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS	17
REFERENCIAS	18
ANEXO I: RECOMENDACIONES TÉCNICAS SOBRE LA CALIDAD DE LAS DE MUESTRAS	19
ANEXO II: GESTIÓN DEL RIESGO BIOLÓGICO EN LABORATORIOS QUE MANIPULEN MUESTRAS CON SARS-CoV-2 (COVID-19)	19

OBJETIVOS Y ALCANCE DE ESTA GUÍA

Esta Guía de Recomendaciones se ha elaborado en el contexto de la actual pandemia de COVID-19, declarada por la OMS el 11/03/2020, con más de 1,7 millones de casos notificados en el mundo, algo menos del 10% de ellos en nuestro país. Si bien en España la incidencia de nuevos casos ha comenzado recientemente a descender después de un periodo de estabilización, es previsible que al menos durante los próximos meses nuestros hospitales sigan recibiendo un número importante de casos nuevos de la enfermedad¹.

La enfermedad COVID-19 se debe a un nuevo agente infeccioso del grupo *Coronaviridae*, SARS-CoV-2, y en los casos que requieren hospitalización, da lugar a complicaciones respiratorias y sistémicas que pueden ser graves². En el diagnóstico y seguimiento de los pacientes hospitalizados, se genera un alto número de muestras biológicas, principalmente de origen hemático y respiratorio, que, en condiciones adecuadas de calidad y bioseguridad, pueden ser utilizadas en proyectos de investigación de la enfermedad.

El Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) realizó recientemente (18/03/2020) una convocatoria extraordinaria de financiación de proyectos de investigación en COVID-19 que ha tenido una respuesta inmediata y masiva por parte de la comunidad científica de nuestro país³. Gran parte de estos proyectos requerirán muestras biológicas de origen clínico, pero también podrán necesitar otro tipo de muestras o de procesamientos. Así mismo, nuevas líneas de investigación futuras pueden requerir el uso de muestras biológicas para continuar generando conocimiento sobre este virus.

El virus SARS-CoV-2 es de descripción reciente, y aunque se ha acumulado gran cantidad de información en un tiempo breve referente a las condiciones de bioseguridad que exige su manejo, la literatura científica específica es todavía muy escasa. Es conocida su capacidad letal y su alta transmisibilidad de persona a persona por vía aérea, principalmente a través de gotas respiratorias de más de 5 micras y de fómites contaminados², y todo ello condiciona el nivel de riesgo biológico de los diferentes tipos de muestras biológicas procedentes de pacientes con COVID-19. Por lo demás, la elevada incidencia actual de casos COVID-19 y la prevalencia desconocida de sujetos infectados y asintomáticos en nuestro medio, aconseja, por el momento, aplicar todas las medidas de bioseguridad establecidas para COVID-19 a todas las muestras biológicas procedentes de pacientes en el ámbito nacional.

La Red Nacional de Biobancos (RNBB) es una Plataforma Tecnológica financiada por el ISCIII que agrupa a la mayoría de los biobancos del país⁴. Su misión fundamental es proveer a los investigadores de muestras biológicas y de datos asociados de alta calidad.

El objetivo fundamental de esta Guía es, pues, facilitar y apoyar la investigación con muestras biológicas de pacientes con COVID-19 y, en general, con muestras procedentes de todo tipo de sujetos en el contexto de la pandemia de COVID-19. Para ello, los biobancos, principales gestores de las muestras, deben contar con unas medidas de bioseguridad que integren en cada

momento la experiencia internacional y que puedan ser adaptadas a sus condiciones concretas, en la mayoría de los casos en el ámbito hospitalario.

Para ello, la RNBB, con la asesoría técnica de la Asociación Española de Bioseguridad (AEBIOS)⁵, y con la experiencia propia de los biobancos de la Red en el manejo de un amplio rango de muestras y de patologías, ha recogido la evidencia científica procedente de diversas fuentes (Guías, Documentos técnicos, Recomendaciones nacionales e internacionales, y artículos científicos) para su aplicación práctica al trabajo de los biobancos con muestras biológicas de pacientes.

Esta Guía, al igual que gran parte de los documentos en que se basa, está sujeta a cambios derivados de nuevos hallazgos y publicaciones en relación con COVID-19 y su agente causal, así como a la evolución de la pandemia en nuestro país.

RECOGIDA Y ENVÍO DE MUESTRAS CLÍNICAS AL BIOBANCO

Cada biobanco analizará y establecerá los circuitos de recogida y recepción de muestras específicos de su centro, tanto para las muestras asociadas a proyectos concretos como a la recogida de excedentes diagnósticos de muestras COVID, asegurando siempre la trazabilidad de las muestras y la seguridad de las personas que las manipulan. Es altamente recomendable que estos circuitos se integren en los ya existentes en los hospitales para que la actividad clínica asistencial no se vea alterada.

Hay que tener en cuenta que determinados tipos de muestras excedentes de diagnóstico en algunas ocasiones pueden no cumplir con las condiciones mínimas de calidad, debido a que las condiciones prioritarias de procesado corresponden a la práctica asistencial y puede transcurrir un tiempo hasta su almacenamiento final, por lo que se valorará la conveniencia de incluir estas muestras en el biobanco (ver ANEXO I: RECOMENDACIONES TÉCNICAS SOBRE LA CALIDAD DE LAS MUESTRAS).

En este apartado, se exponen recomendaciones generales para establecer estos circuitos conforme a los criterios de bioseguridad que este tipo de muestras implica.

En este sentido, se deberá tener siempre en cuenta, y no minusvalorar, el nivel de riesgo adecuado en todas las manipulaciones de muestras, ya que se trata de un virus con capacidad letal y con un alto índice de transmisibilidad de persona a persona por vía aérea.

POSIBLES CIRCUITOS GENERALES:

En todos los casos propuestos, las muestras se registrarán conforme se detalla en el apartado RECEPCIÓN Y REGISTRO DE MUESTRAS EN EL BIOBANCO, y se procesarán y almacenarán atendiendo a las recomendaciones de bioseguridad descritas en esta Guía.

- Las muestras excedentes de diagnóstico se procesan, alicotan y almacenan en los propios Servicios Clínicos, donde permanecerán hasta su uso en investigación → Registro de las muestras en el Sistema de Gestión del biobanco.
- Las muestras excedentes de diagnóstico se envían procesadas y alicotadas desde los Servicios Clínicos → Registro y almacenamiento de las muestras en el biobanco.

- Las muestras excedentes de diagnóstico se envían al biobanco sin alicuotar pero previamente procesadas para su análisis diagnóstico (por ejemplo el suero) → Registro y almacenamiento de las muestras hasta que sea posible su alicuotado para el almacenamiento definitivo en el biobanco hasta su uso.
- Las muestras excedentes de diagnóstico se reciben en el biobanco sin ningún procesado previo → Registro, procesado según los procedimientos del biobanco y almacenamiento definitivo en el biobanco hasta su uso.
- Las muestras son recogidas para proyectos con diseño específico → Registro, procesado según lo establecido en el proyecto y almacenamiento definitivo en el biobanco hasta su uso.

PAUTAS PARA EL MANEJO DE MUESTRAS

De forma general: el personal que maneje muestras clínicas rutinarias (exudado nasofaríngeo preferiblemente y/o orofaríngeo, lavado broncoalveolar, esputo, aspirado endotraqueal, muestras para hemogramas y pruebas bioquímicas, muestras de orina, serología y otras pruebas diagnósticas en suero, sangre y orina) de pacientes ingresados con diagnóstico o sospecha de infección por SARS-CoV-2, o cualquier otro patógeno, deberá seguir las pautas estándar y recomendaciones generales de bioseguridad establecidas para los laboratorios de nivel de Bioseguridad 2 (NCB-2)

Se recomienda que el tiempo transcurrido entre la extracción sanguínea y la congelación a -80°C sea definido en base al tipo de estudios para los que la muestra vaya a estar destinada; así, en función de ensayos previos, se ha determinado (recomendable refrigeradas a 4°C):

- a) Tiempo óptimo para estudios celulares: máximo 1,5 horas tras la extracción.
- b) Tiempo óptimo para estudios virológicos: máximo 24 horas tras la extracción.

De forma particular: al igual que con cualquier muestra clínica, se seguirán las siguientes instrucciones:

- a) El uso de la bata de laboratorio es obligatorio y exclusivo para el área de laboratorio. Por tanto, no se debe vestir esa bata, ni guantes de látex en la cafetería, dependencias de administración, almacén, áreas de descanso, vestíbulos, o exterior del edificio.
- b) Es también obligatorio el uso de gafas de seguridad y guantes, cambiarlos con frecuencia.
- c) El personal debe lavarse las manos después de las manipulaciones y antes de abandonar el laboratorio.
- d) Los procedimientos que puedan generar aerosoles de partículas finas (p. ej., agitación en vórtex o sonicación de muestras en tubo abierto) deberán realizarse en una campana de seguridad biológica (BSC) de clase II y deberán usarse dispositivos de contención física adecuados (rotores de centrifuga adecuados, cubetas con tapas de seguridad para la centrifuga, rotores sellados) ante la eventualidad de una rotura de los tubos que contienen las muestras durante el proceso de centrifugación.

- e) Los rotores tienen que ser cargados y descargados dentro de la cabina de bioseguridad. Deberá reducirse, en la medida de lo posible, todo procedimiento fuera de la cabina de bioseguridad.
- f) Es fundamental mantener las debidas condiciones de orden y limpieza en la zona de trabajo, utilizando en todo momento el material imprescindible, evitando las acumulaciones innecesarias de material durante y después de la manipulación.
- g) Las superficies de trabajo han de ser descontaminadas tras cada manipulación e inmediatamente después de un vertido accidental. Para ello se utilizarán soluciones desinfectantes de amplio espectro (ver apartado LIMPIEZA Y MÉTODOS DE DESINFECCIÓN de esta guía).
- h) Cualquier material que deba ser descontaminado fuera del laboratorio se acondicionará en contenedores resistentes y herméticos para su transporte.

ENVÍO DE MUESTRAS AL BIOBANCO

Categorización de la muestra

Las muestras biológicas procedentes de pacientes infectados o con sospecha de infección por el SARS-CoV-2 con fines de investigación biomédica, sean o no excedentes de diagnóstico, son clasificadas como sustancias infecciosas de categoría B, debiendo ser tratadas como otras muestras biológicas de este tipo.

Los excedentes de cualquier otro tipo de muestras clínicas con fines de investigación biomédica deben ser tratados también como potencialmente infecciosas y se consideran de categoría B, debiendo ser tratadas como otras muestras biológicas de este tipo.

Transportes externos

Todas las muestras consideradas de categoría B, si requieren envíos entre distintos centros, serán transportadas en triple embalaje por los procedimientos habituales.

Los expedidores habrán de asegurarse de que los embalajes/envases se preparan de modo tal que lleguen a su destino en buen estado y no presentan peligro alguno para las personas o los animales durante su transporte.

Está prohibido el transporte de estas muestras en vehículos privados.

Transportes intrahospitalarios

El transporte interno de muestras desde los Servicios Clínicos y/o desde los Servicios de Análisis Clínicos hacia el biobanco deberá realizarse en contenedores homologados para esta finalidad, evitando el uso de contenedores plásticos diseñados para otros usos (tales como fiambreras, aunque dispongan de goma para cierre estanco).

Estos contenedores deberán ser resistentes a los golpes y con cierre hermético con el objetivo de evitar contaminaciones por caída accidental de los mismos, y siempre que sea posible las muestras se transportarán envueltas en material absorbente para prevenir posibles fugas de material.

Los contenedores deberán permanecer siempre cerrados en su transporte desde el punto de origen a su recepción en el biobanco. El responsable de su transporte deberá mantener el contenedor bajo su supervisión directa durante todo el trayecto y evitará dilaciones innecesarias.

El transporte de documentación y de muestras biológicas deberá realizarse en contenedores separados para evitar contaminaciones.

Se recomienda la descontaminación tanto externa como interna de los contenedores después de cada uso utilizando algunos de los productos indicados en el apartado correspondiente de esta guía. Si para la descontaminación se utilizan productos que se dispensan por spray o pulverización, éstos se aplicarán sobre un papel o gasa adecuados y no directamente sobre el contenedor para evitar la generación de aerosoles.

RECEPCIÓN Y REGISTRO DE MUESTRAS EN EL BIOBANCO

Los biobancos deben de disponer de un área de recepción de muestras. En caso de no disponer de ella habrán de habilitar una lo más cercana posible a la puerta de acceso a sus instalaciones.

Se recomienda marcar una línea en el suelo y adaptar un mostrador o una mesa específica para dejar muestras, y así impedir que las personas que traigan muestras se acerquen a la persona que las recibe.

Las personas encargadas del transporte de las muestras deben dejarlas en el mostrador o mesa para muestras e irse inmediatamente. Después la persona de recepción se levantará a recogerlo.

El personal encargado de recibir las muestras deberá llevar una mascarilla de protección (de tipo quirúrgico), así como guantes.

Todas las muestras y los documentos "físicos" asociados (informes, hojas de petición...) deberán manipularse con guantes.

La apertura de los contenedores utilizados en los traslados intrahospitalarios y de los embalajes/envases llegados desde otros centros se realizará siempre en el interior de una cabina de bioseguridad del NCB donde hayan de ser procesadas o almacenadas.

Se asegurará la descontaminación exterior de contenedores primarios y secundarios con biocidas de probada eficacia. Los estudios disponibles avalan el uso de etanol al 70% o superior como biocida efectivo mediante pulverización indirecta (utilizar un papel o similar desechable) y un tiempo de contacto de mínimo 1 minuto⁶.

Una vez recibidas las muestras en el biobanco se registrarán en el sistema de gestión de cada biobanco y se actuará según el procedimiento habitual, estableciendo los registros necesarios que permitan la trazabilidad de las muestras desde su entrada en el biobanco 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, movimiento-s, 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 el proceso.

Se recomienda que todas las muestras sean codificadas según criterios SPREC para su adecuada caracterización en lo referido a condiciones pre-analíticas de tipo de muestra, recogida, procesado y almacenamiento (STANDARD PREANALYTICAL CODE (SPREC) V2.0)⁷.

En el caso de los excedentes de diagnóstico de las muestras COVID, se registrarán como mínimo el número de historia clínica y la fecha de extracción, quedando los datos referidos al tipo de muestra, procesado y conservación reflejados en el código SPREC.

NIVELES DE CONTENCIÓN BIOLÓGICA: APLICACIÓN AL TRABAJO EN BIOBANCO

El conocimiento de las características de los diferentes niveles de contención biológica nos permitirá definir qué procedimientos podemos llevar en nuestros laboratorios en condiciones de seguridad.

A continuación, se describen brevemente los niveles de contención biológica que se pueden encontrar en los biobancos españoles, o a los que pueden tener acceso. Para ampliar la información se recomienda la consulta del ANEXO II: GESTIÓN DEL RIESGO BIOLÓGICO EN LABORATORIOS QUE MANIPULEN MUESTRAS CON SARS-CoV-2 (COVID-19), u otra documentación específica.

NIVEL DE CONTENCIÓN BIOLÓGICA 1 (NCB1)

Es el nivel básico de prevención, y el que menos protección ofrece; por ello será en el que menos tipos de procesamientos se podrán realizar.

Los equipos de seguridad de los NCB1 son:

- No requiere de equipos de contención, como cabinas de seguridad biológica.
- Sistemas mecánicos de pipeteo.
- Uso de bata u otra ropa de trabajo que cubra la ropa de calle y prevenga de su contaminación.
- Los equipos de protección individual (EPI) se limitarán a guantes impermeables y sistemas de protección ocular o facial cuando se puedan producir salpicaduras.
- Las instalaciones no requieren de características especiales más allá de las habituales en los laboratorios.

NIVEL DE CONTENCIÓN BIOLÓGICA 2 (NCB2)

IMPORTANTE: No se debe confundir ni equiparar en ningún caso un laboratorio NCB2 con disponer de una cabina de seguridad biológica de clase II.

El NCB2 engloba un diseño particular de las instalaciones, los equipos y unos protocolos de trabajo en estas instalaciones destinados a contener y minimizar la exposición a aerosoles.

Los equipos de seguridad de los NCB2 son:

- Dispondrá de cabinas de seguridad biológica de clase II preferentemente.
- Sistemas mecánicos de pipeteo o utilización de puntas con filtro.
- Se dispondrá de ropa de trabajo y EPIs.
- El personal debe ser formado en los protocolos de actuación en este tipo de instalaciones.
- Se recomienda uso de centrifugas con rotores o cestillas con contención de aerosoles.

Las instalaciones deben cumplir las siguientes características:

- Es aconsejable que el laboratorio esté alejado o separado de zonas públicas de paso.
- Se aconseja que el sistema de ventilación sea independiente, sin recirculación.
- Cada laboratorio dispondrá de lavamanos, duchas de emergencia y lavaojos, que se pondrán en funcionamiento preferiblemente mediante un pedal, el codo o de forma automática, situados cerca de la puerta de salida del laboratorio.
- Es aconsejable tener en el mismo laboratorio o en un local anexo un método de descontaminación eficaz (autoclave, incinerador, métodos químicos) para la descontaminación del material de desecho o infeccioso.
- Superficies resistentes a la humedad y productos químicos en superficies de trabajo, suelo, y paredes.
- Acceso restringido y controlado a personal formado.
- Puertas y ventanas cerradas en todo momento.



Figura 1. Ejemplo de personal equipado para trabajo en nivel de contención 2. Imágenes cedidas por personal técnico del Instituto de Investigación Sanitaria Galicia Sur.

NIVEL DE CONTENCIÓN BIOLÓGICA 3 (NCB3)

El NCB3 debe cumplir todos los requisitos del NCB2 y además cumplir los siguientes requisitos:

Los equipos de seguridad son:

- Se dispondrá de Cabinas de Seguridad Biológica, preferiblemente de clase II o III. Cuando no se pueda realizar un procedimiento dentro de una cabina, se utilizarán las combinaciones adecuadas de equipos de protección y otros dispositivos de contención física.
- Deberá llevarse ropa de uso exclusivo en el laboratorio, batas sin abertura delantera o trajes de dos piezas tipo pijamas, monos, gorros y protección para el calzado o calzado especial.
- Uso de centrifugas con rotores o cestillas con contención de aerosoles.
- Las principales características a cumplir en las instalaciones son:
 - Control de acceso electrónico.
 - Presión negativa en gradiente diferencial unidireccional de flujo continuo.
 - Antesalas en el acceso al área de trabajo.
 - Sala para el cambio completo de ropa y colocación y retirada de los EPIs.
 - Sistemas de intercambio para la entrada de muestras y materiales a la zona de contención.
 - Autoclave de doble puerta disponible en la barrera de la zona de contención

A. Medidas de contención	B. Niveles de contención	
	2	3
1. El lugar de trabajo se encontrará separado de toda actividad que se desarrolle en el mismo edificio.	No.	Aconsejable.
2. El aire introducido y extraído del lugar de trabajo se filtrará mediante la utilización de filtros de alta eficacia para partículas en el aire (HEPA) o de forma similar.	No.	Sí, para la salida de aire.
3. Solamente se permitirá el acceso al personal designado.	Aconsejable.	Sí.
4. El lugar de trabajo deberá poder precintarse para permitir su desinfección.	No.	Aconsejable.
5. Procedimientos de desinfección especificados.	Sí.	Sí.

6. El lugar de trabajo se mantendrá con una presión negativa respecto a la presión atmosférica.	No.	Aconsejable.
7. Control eficiente de vectores, por ejemplo, de roedores e insectos.	Aconsejable.	Sí.
8. Superficies impermeables al agua y de fácil limpieza.	Sí, para el banco de pruebas o mesa de trabajo.	Sí, para el banco de pruebas o mesa de trabajo y el suelo.
9. Superficies resistentes a ácidos, álcalis, disolventes y desinfectantes.	Aconsejable.	Sí.
10. Almacenamiento de seguridad para agentes biológicos.	Sí.	Sí.
11. Se instalará una ventanilla de observación o un dispositivo alternativo en las zonas de manera que se pueda ver a sus ocupantes.	Aconsejable.	Aconsejable.
12. Laboratorio con equipo propio.	No.	Aconsejable.
13. El material infectado, animales incluidos, deberá manejarse en una cabina de seguridad biológica o en un aislador u otra contención apropiada.	Cuando proceda.	Sí, cuando la infección se propague por el aire.
14. Incinerador para destrucción de animales muertos.	Aconsejable.	Sí (disponible)

Tabla 1. Tabla comparativa de los niveles de contención extraída del RD 664/1997, de 12 de mayo, sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo.

TIPOS DE MUESTRA Y DE PROCESAMIENTO: CLASIFICACIÓN POR NIVELES DE CONTENCIÓN

A continuación se incluyen los diferentes tipos de muestra y de procesamiento considerados (entre paréntesis), y el nivel de bioseguridad / contención biológica asignado a cada uno de ellos (*).

Para ver las condiciones que tienen que cumplir las instalaciones de los distintos niveles de Bioseguridad consultar el apartado anterior y el Anexo II.

(* **Nota:** Las recomendaciones de manipulación de muestras de este documento se han ajustado a los conocimientos actuales. A medida que se disponga de más información se irá actualizando esta Guía.

Nivel de bioseguridad / contención biológica 1 (NCB1)

- Sangre seca (tarjeta FTA) (almacenamiento a temperatura ambiente en bolsas selladas y armario ignífugo)
- Sangre total (congelación directa sin procesamiento)
- Espudo (congelación directa sin procesamiento)
- Exudado nasofaríngeo (congelación directa del hisopo sin procesamiento)
- Heces (congelación directa sin procesamiento)
- Orina (congelación directa sin procesamiento)
- Tejido con evidencia actual de infectividad (fijado en formol e incluido en parafina)
Nota: de acuerdo con la evidencia actual: tractos respiratorio y digestivo, incluyendo tracto aerodigestivo superior⁸ (se actualizará el listado de acuerdo con la literatura).
- Tejido de infectividad desconocida (fijado en formol e incluido en parafina)
Nota: tejidos no incluidos en la lista anterior (se actualizará el listado de acuerdo con la literatura).
- Ácidos nucleicos (sin procesamiento, congelación directa)
- RNA (virus) (sin procesamiento, congelación directa)
- cDNA (sin procesamiento, congelación directa)
- Líquido cefalorraquídeo (sin procesamiento, congelación directa)

Nivel de bioseguridad / contención biológica 2

Todos los procedimientos deben llevarse a cabo en cabinas de bioseguridad y mediante centrífugas con contención de aerosoles como tapas de bioseguridad y *buckets* con cierres herméticos. Descargar el rotor y los *buckets* dentro de la cabina de bioseguridad.

Extremar las precauciones en la manipulación mediante todos los EPIs aconsejados.

Se desaconsejan los procesos automatizados o robotizados de alicuotado o de extracción de ac. nucleicos a no ser que los equipos dispongan de un sistema integrado de contención de aerosoles.

Procesamiento de las siguientes muestras no fijadas ni inactivadas

- Sangre total congelada (extracción de ADN)
- Sangre seca en tarjeta (dejar secar en cabina de Bioseguridad))
- Capa blanca (*buffy coat*) (extracción manual de ácidos nucleicos)
- Suero (separación y alicuotado manual)
- Plasma (separación y alicuotado manual)
- Células linfomononucleares – PBMC (separación y criopreservación)
- Orina (aliquotado)
- Heces (aliquotado)
- Tejido con evidencia actual de infectividad (congelado e incluido en OCT)

Nota: de acuerdo con la evidencia actual, tractos respiratorio y digestivo, incluyendo tracto aerodigestivo superior⁸ (se actualizará el listado de acuerdo con la literatura).

- Tejido con evidencia actual de infectividad (congelado inmediatamente, *flash frozen*)
- Tejido con evidencia actual de infectividad (conservado en RNAlater)
- Tejido sin evidencia actual de infectividad (congelado e incluido en OCT)

Nota: tejidos no incluidos en la lista anterior⁸ (se actualizará el listado de acuerdo con la literatura).

- Tejido sin evidencia actual de infectividad (congelado inmediatamente, *flash frozen*)
- Tejido sin evidencia actual de infectividad (conservado en RNAlater)

Nivel de bioseguridad / contención biológica 3

- Exudado nasofaríngeo (extracción de ARN)
- Cultivos virales o de células linfomononucleares de pacientes
- Heces (procesamiento)
- Pieza quirúrgica (obtención de muestras)

Nota: En el circuito diagnóstico de Anatomía Patológica, se recomienda el envío de las piezas quirúrgicas y muestras de biopsia en formol, y el tejido se considera no infeccioso después de un período de fijación de al menos 24 horas. Se desaconseja la obtención de muestras de tejido en fresco para investigación, tanto de tejidos con infectividad conocida como desconocida, a partir de circuitos de tejido fresco de Anatomía Patológica (p. ej., material de biopsia intraoperatoria o de biopsia por aguja gruesa obtenida post mortem)^{9, 10}.

- Autopsia clínica completa o parcial, no neuropatológica (realización y obtención de muestras)

Nota: De acuerdo con las recomendaciones nacionales e internacionales vigentes, se desaconseja la realización de una autopsia clínica en un paciente fallecido por COVID 19 o en un paciente sin evidencia concluyente de negatividad para COVID 19 (test de PCR). En el caso excepcional de que fuera necesario realizar una autopsia clínica con fines diagnósticos, se recomienda que sea limitada o parcial, y que se realice solo si se pueden garantizar unas condiciones de bioseguridad equivalentes al nivel 3 de bioseguridad / contención biológica¹⁰⁻¹². Si en estas condiciones se toman muestras de tejido para investigación, su manejo deberá seguir las recomendaciones recogidas en la presente Guía, tanto para tejidos de infectividad conocida como desconocida.

- Autopsia neuropatológica (realización y obtención de muestras)

Nota: Se ha diferenciado aquí la autopsia neuropatológica de otras autopsias parciales por su interés específico para los bancos de tejidos neurológicos. De acuerdo con la evidencia actual, todas las recomendaciones aplicables a la autopsia clínica son igualmente aplicables a la autopsia neuropatológica. En consecuencia, en el momento actual se desaconseja la realización de extracciones de tejido cerebral y médula espinal en pacientes positivos para COVID 19 o sin evidencia concluyente de negatividad (test de PCR).

Otras muestras:

Para valorar el nivel de contención de otros tipos de muestras o fluidos biológicos se deberá tener en cuenta el origen de la muestra (tracto respiratorio o gastrointestinal u otros), la carga viral, el tipo de manipulación, etc.

LIMPIEZA Y MÉTODOS DE DESINFECCIÓN

En todo procesamiento de muestras potencialmente contaminadas por el virus SARS-COV-2 deben observarse unas normas generales de protección de sentido común, para evitar la contaminación del operador mediante la utilización de EPIs y barreras de contención primaria y secundaria.

Pero tan importante es que el operador adopte unas medidas para no contaminarse durante el procesamiento, como también proteger a los demás usuarios y entorno, adoptando unas prácticas y medidas de contención, como son la limpieza y desinfección, antes y después de finalizar el trabajo. La observación de estas medidas deberá tener en cuenta los agentes o desinfectantes con capacidad de inactivar el virus según sea el más adecuado para el material a desinfectar, o así como la capacidad de pervivencia del virus en el medio ambiente y en las superficies para intentar eliminarlos antes de abandonar el espacio de trabajo.

Si bien se sabe poco sobre este nuevo virus, según sus características genéticas similares a MERS-CoV la OMS sugiere que SARS-COV-2 puede ser susceptible a desinfectantes con efectividad

comprobada para virus envueltos, incluido el hipoclorito de sodio (lejía; por ejemplo, 1000 partes por millón [ppm] (0.1%) para desinfección general de la superficie y 10 000 ppm (1%) para desinfección de derrames de sangre); 62-71% de etanol; 0,5% de peróxido de hidrógeno; compuestos de amonio cuaternario; y compuestos fenólicos, si se usan de acuerdo con las recomendaciones del fabricante¹³.

Otros agentes biocidas como el cloruro de benzalconio al 0.05–0.2% o el digluconato de clorhexidina al 0.02% pueden ser menos efectivos. Se debe prestar especial atención no solo a la selección del desinfectante sino también al tiempo de contacto (por ejemplo, 10 minutos), la dilución (es decir, la concentración del ingrediente activo) y la fecha de caducidad después de que se prepara la solución de trabajo. Se sabe que los coronavirus humanos en general persisten en superficies inanimadas como metal, vidrio o plástico hasta 9 días.

Desinfectantes para la descontaminación de superficies:

- Desinfectante más habitual para las superficies de la cabina de bioseguridad: Etanol al 70% durante 1 minuto.
- Desinfectante habitual para otro tipo de superficies: hipoclorito sódico (lejía) al 0,1% durante al menos 10 minutos.
- En el caso de vertidos: hipoclorito sódico al 1% durante al menos 10 minutos. En el caso de elevada carga orgánica (sangre, tejido, etc.) se debe utilizar previamente un tensioactivo que elimine la carga orgánica durante unos minutos, y a continuación añadir el hipoclorito sódico al 1%.
- Peróxido de hidrógeno es el más universal y el que incluye un espectro más amplio.

Información más detallada se encuentra en el ANEXO II: GESTIÓN DEL RIESGO BIOLÓGICO EN LABORATORIOS QUE MANIPULEN MUESTRAS CON SARS-COV-2 (COVID-19).

Estabilidad del SARS-CoV-2 en diferentes condiciones ambientales

Según evidencia hasta la fecha, en la tabla resumen de Chin et al. 2020¹⁴, el virus se inactiva a temperaturas de 70°C a tiempos muy cortos o a 56°C durante 30 minutos (ver Tabla a continuación).

En cambio, a temperaturas de 4°C e inferiores el virus se mantiene viable sin apenas desactivación a tiempos muy largos, o quizás indefinidos en muestras criopreservadas.

Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions

Time	Virus titre (Log TCID ₅₀ /mL)									
	4°C		Room Temp (22°C)		37°C		56°C		70°C	
	Mean	±SD	Mean	±SD	Mean	±SD	Mean	±SD	Mean	±SD
1 min	N.D	N.D	6.51	0.27	N.D	N.D	6.65	0.10	5.34	0.17
5 mins	N.D	N.D	6.70	0.15	N.D	N.D	4.62	0.44	U	-
10 mins	N.D	N.D	6.63	0.07	N.D	N.D	3.84	0.32	U	-
30 mins	6.51	0.27	6.52	0.28	6.57	0.17	U	-	U	-
1 hr	6.57	0.32	6.33	0.21	6.76	0.05	U	-	U	-
3 hrs	6.66	0.16	6.68	0.46	6.36	0.19	U	-	U	-
6 hrs	6.67	0.04	6.54	0.32	5.99	0.26	U	-	U	-
12 hrs	6.58	0.21	6.23	0.05	5.28	0.23	U	-	U	-
1 day	6.72	0.13	6.26	0.05	3.23	0.05	U	-	U	-
2 days	6.42	0.37	5.83	0.28	U	-	U	-	U	-
4 days	6.32	0.27	4.99	0.18	U	-	U	-	U	-
7 days	6.65	0.05	3.48	0.24	U	-	U	-	U	-
14 days	6.04	0.18	U	-	U	-	U	-	U	-

A 5µl droplet of virus culture (7.8 Log unit of TCID₅₀/mL) was pipetted on a small surface at RT and the inoculated objects were retrieved at various time points

Chin et al., 2020. "Aerosol and surface stability of HCoV-19 (SARS-CoV-2) compared to SARS-CoV-1".

Normas generales de higiene para manipular las muestras

Antes de trabajar en la cabina de bioseguridad y al finalizar el trabajo desinfectar siempre la superficie con alcohol al 70%. Al final del trabajo y como precaución adicional puede ponerse en marcha la luz UV de la cabina como mínimo 30 minutos antes y después del trabajo. La irradiación con luz ultravioleta es útil y debe hacerse con la cabina libre de objetos y contenedores, pues los UV descontaminan sólo las superficies.

Los residuos, siempre que sea posible, se esterilizarán antes de ser eliminados en los contenedores homologados. En caso de no esterilizarlos, deberán depositarse en una bolsa cerrada dentro de un contenedor tipo III y sellarlo para evitar la dispersión de aerosoles al ambiente. La eliminación final de estos contenedores la deberá llevar a cabo un gestor de residuos autorizado.

También deberá desinfectarse el equipamiento i/o accesorios utilizados: rotor, cestillos, gradillas, etc. sumergiéndolas siempre que sea posible en los desinfectantes apropiados.

Proceso de desinfección en la recepción y envío de muestras

Todo el proceso de abrir los embalajes debe realizarse dentro de la cabina de bioseguridad. Antes de abrir cualquier embalaje, debe desinfectarse previamente y también desinfectar los tubos por su parte externa con toallitas o papel impregnados con desinfectante (p.ej. alcohol 70% o hipoclorito sódico diluido al 1%).

Para el envío de muestras se procederá de la misma forma. Se desinfectarán los tubos por la parte externa y también cada uno de los embalajes externos antes de cerrar el paquete.

ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Al igual que en pasos previos del manejo de muestras potencialmente contaminadas con SARS-CoV-2, a la hora de mantener precauciones durante el almacenamiento, habrá que tener en cuenta si dichas muestras conservan potencial infectivo o no (virus inactivado o no).

Por ejemplo, en caso de almacenarse bloques de parafina correspondientes a muestras tisulares o citológicas, no se necesita ninguna precaución especial, ya que el virus se encuentra inactivado tras el procesamiento realizado a la muestra (nivel de contención biológica 1).

Sin embargo, hay también una diferencia fundamental con respecto a pasos anteriores, y es que no se va a realizar manipulación directa de las muestras. Debemos recordar que todas las muestras no destinadas a manipulación directa o cultivo del virus se pueden manejar en un nivel de contención biológica 2. Si se siguen las indicaciones previas de esta guía en relación a los contenedores empleados, el riesgo de aerosoles o vertidos accidentales es mínimo. Por este motivo, las condiciones son menos exigentes que en algunas situaciones descritas anteriormente.

Para consultar una casuística detallada de diferentes tipos de tejidos susceptibles de almacenamiento y las condiciones de manejo remitimos al apartado "Tipos de muestra y de procesamiento: clasificación por niveles de contención".

Con respecto al almacenamiento de muestras congeladas, se deben considerar las siguientes recomendaciones:

Características de los congeladores.

Los congeladores empleados deben contar con cerradura con llave y exhibir el correspondiente etiquetado de riesgo biológico. Deben además estar en una sala con acceso restringido y registro de actividad.

Separación de otras muestras no COVID-19.

Para evitar posibles contaminaciones entre muestras COVID-19 y no COVID-19, se deben almacenar con separación física. Para esto es suficiente con que las muestras de COVID-19 se encuentren, dentro del congelador, en bolsas o contenedores estancos.

No es estrictamente necesario dedicar en exclusiva un congelador, o una balda del mismo, a muestras de COVID-19, aunque sí sería una buena práctica, ya que facilitaría tanto la recuperación de las muestras cuando se necesitasen como la comprobación de las existencias disponibles.

En caso de utilizar tanques de nitrógeno líquido para conservar las muestras congeladas, lo más recomendable es usar un rack específico para las muestras de COVID-19, ya que aquí existen problemas para utilizar contenedores secundarios.

REFERENCIAS

1. Situación de COVID-19 en España. Ministerio de Sanidad, Ministerio de Ciencia e Innovación: <https://covid19.isciii.es/>
2. Información científica-técnica. Enfermedad por coronavirus, COVID-19. Ministerio de Sanidad. Actualización; 4 de abril 2020.
3. <https://www.isciii.es/QueHacemos/Financiacion/Paginas/SolicitudExpresionesInteresCovid19.aspx>
4. Red Nacional de Biobancos: <https://redbiobancos.es/>
5. Asociación Española de Bioseguridad: <https://aebios.org/>
6. Kampf G, Todt D, Pfaender S, Steinmann E. Persistence of Coronaviruses on Inanimate Surfaces and Their Inactivation With Biocidal Agents. J Hosp Infect, 104 (3), 246-251.
7. STANDARD PREANALYTICAL CODE (SPREC) V2.0 <https://www.isber.org/page/SPREC>
8. Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, Wu G, Tan W. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. JAMA, 2020 Mar 11[Online ahead of print]
9. Medidas de seguridad durante la epidemia por COVID 19 en un servicio de Patología. Sociedad Española de Anatomía Patológica - International Academy of Pathology - Sociedad Española de Citología.
10. Documento técnico. Procedimiento para el manejo de cadáveres de casos de COVID-19. Versión del 26 de marzo de 2020. Ministerio de Sanidad, Sociedad Española de Anatomía Patológica. Versión original del 26 de marzo de 2020, y actualizaciones del 5, 13, 20, 26 y 30 de marzo, y de 10 de abril.
11. CDC Guidelines. Collection and Submission of Postmortem Specimens from Deceased Persons with Known or Suspected COVID-19, March 2020 (Interim Guidance). This document is an update to interim guidance as of March 25, 2020. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/guidance-postmortem-specimens.html>
12. WHO. Infection Prevention and Control for the safe management of a dead body in the context of COVID-19. Interim guidance 24 March 2020
13. WHO. Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease 2019 (COVID-19). Interim guidance 12, February 2020.
14. 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://doi.org/10.1016/S2666-5247\(20\)30003-3](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(20)30003-3).

ANEXO I: RECOMENDACIONES TÉCNICAS SOBRE LA CALIDAD DE LAS MUESTRAS.

ANEXO II: GESTIÓN DEL RIESGO BIOLÓGICO EN LABORATORIOS QUE MANIPULEN MUESTRAS CON SARS-CoV-2 (COVID-19)