

COVID-19
CORONAVIRUS DISEASE 2019



Medidas de Bioseguridad en el manejo de COVID-19 en Biobancos

Ponente: D. Fco. Javier García Palomo
8 de abril de 2020

Asociación Española de BioSeguridad (AEBioS)

AEBioS es una asociación sin ánimo de lucro, fundada en 2011, que pretende reunir en un mismo foro a profesionales de distintos ámbitos para tratar temas de bioseguridad y dar soporte a sus miembros



ACTIVIDADES

- ✓ Apoyo a la investigación con patógenos de alto riesgo
- ✓ Difusión e intercambio de información científica y técnica relacionada con Bioseguridad y Biocontención
- ✓ Formación y la colaboración con otras asociaciones relacionadas.

Objetivos

- Proporcionar orientación a los laboratorios para la manipulación de muestras 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.

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) y otros documentos relacionados.
- 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 puede estar en discordancia con las consideraciones de este documento, siendo la primera la que, en cualquier caso, debería prevalecer.

Medidas básicas de control en laboratorios (todos los niveles)

Controles administrativos y organizativos

Personal familiarizado y del que 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.

La Institución debería contar con un **Asesor en Bioseguridad (ABS)** 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.

Medidas básicas de control en laboratorios

(todos los niveles)

Controles administrativos y organizativos



El **Asesor en Bioseguridad (ABS)**, como pieza clave para todas las actividades relacionadas con la gestión del riesgo biológico, cuenta con **normas UNE e ISO** que complementan y **definen su posición dentro de cualquier organización**

ISO 35001:2019. Biorisk management for laboratories and other related organisations.

UNE:CWA 15793:2013. Gestión del riesgo biológico en el laboratorio

UNE:CWA 16393:2015. Gestión del riesgo biológico en el laboratorio. Guía para la implementación del CWA 15793:2008

UNE:CWA 16335:2015. Competencias del profesional de bioseguridad

UNE 171400:2018. Diseño de instalaciones de nivel 3 de contención biológica (NCB3)

Medidas básicas de control en laboratorios (todos los niveles)

I - 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), en especial en lo referente a **NIVELES de BIOSEGURIDAD** (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 deberán tener en cuenta las **recomendaciones indicadas por la OMS** sobre COVID-19
- Adicionalmente, se necesitarán implementar técnicas, prácticas y equipos de protección individual y colectiva según el tipo de manipulación que se vaya a realizar y la preceptiva evaluación de riesgos específica.

Medidas básicas de control en laboratorios (todos los niveles)

I - Procedimientos y barreras primarias básicas

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, anudada a la espalda y con puños elásticos). Se puede sustituir por mono completo, como mínimo, de tipo 4B.
- **Guantes** de protección certificados frente al riesgo biológico.
- **Mascarilla tipo FFP2** o superior.
- Gafas de protección ocular hermética a salpicaduras o, en su defecto, pantallas faciales protectoras.



Medidas básicas de control en laboratorios

(todos los niveles)

I - Procedimientos y barreras primarias básicas



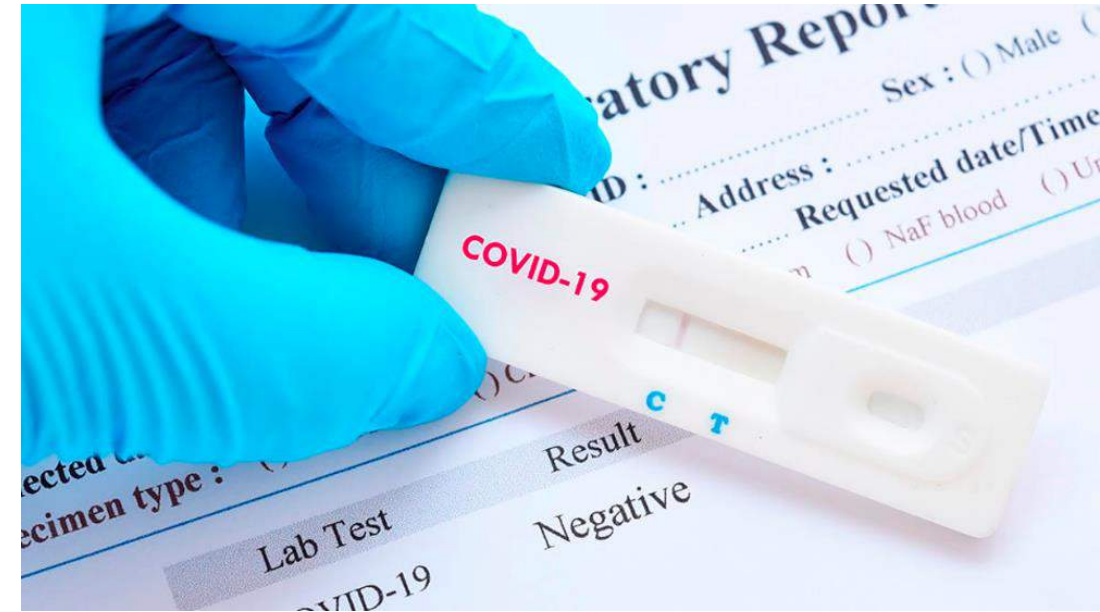
- Cualquier manipulación de material biológico **no inactivado** se deben usar **Cabinas de Seguridad Biológica (CSB)** de clase II certificadas con cualificación vigente.
- Cualquier material deberá ser desinfectado antes de retirarlo de la CSB.
- Micropipetas (o en su defecto sus puntas) con barreras antiaerosoles.
- Se deberán usar contenedores, tubos, etc., con **tapón de rosca** para evitar derrames por apertura accidental.
- Antes y después de los trabajos se deberá desinfectar todas las **superficies** interiores de la cabina.
- Programas de **limpieza y desinfección**, así como de gestión de residuos peligrosos adecuados.

Medidas básicas de control en laboratorios (todos los niveles)

Controles administrativos y organizativos

- 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 iniciales** (PCR), periódicas o siempre que se sospeche de una exposición involuntaria.

- Se recomienda un seguimiento serológico.



Nivel de Contención Biológica 2 (NCB2)

Técnicas de laboratorio que se pueden 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 podrán realizarán **EN CABINA DE BIOSEGURIDAD** con la técnica adecuada:

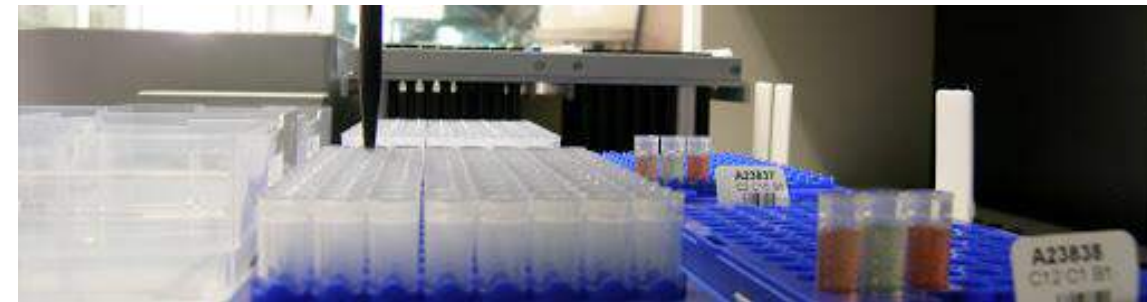
- Preparación de las muestras frescas no inactivadas.
- Disgregación de muestras sólidas o viscosas (p.ej. saliva, swabs, tejidos).
- Adición de tampón de lisis y fijación de muestras.
- Alicuotado de lisados virales.
- Centrifugación de muestras no inactivadas.
- Cell-sorting o Fluorescence-activated cell sorting (FACS) de muestras fijadas.

Nivel de Contención Biológica 2 (NCB2)

Ejemplos de técnicas de laboratorio que se pueden desarrollar **UNA VEZ INACTIVADAS** fuera de este nivel de contención

Aquellas muestras que se hayan fijado o inactivado mediante un proceso validado o con suficiente evidencia científica de efectividad, se podrán procesar fuera de CBS en NCB1/NCB2:

- Extracción de ácidos nucleicos por métodos manuales o automáticos de muestras.
- RT-PCR de muestras de ácidos nucleicos.
- Tinción y análisis microscópico de frotis.
- Tinción y examinación de tejidos fijados.
- Microscopía electrónica de especímenes.
- Cell-sorting o Fluorescence-activated cell sorting (FACS)⁽¹⁾



(1) **Bibliografía:** <https://isac-net.org/news/news.asp?id=497501>

Nivel de Contención Biológica 2 (NCB2)

Barreras primarias y secundarias

- Superficies resistentes a la humedad y a los productos químicos en mesa de trabajo, suelo y paredes.
- Es recomendable que los laboratorios NCB2 dispongan de un sistema de ventilación independiente, sin recirculación de aire y preferiblemente flujo direccional.
- Todas las medidas básicas de control, **especialmente el uso de EPI, incluido doble guante (con certificado RB), gorro y calzas.**
- **Señalización de riesgo biológico.**
- **Acceso restringido: sólo 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**



Nivel de Contención Biológica 2 (NCB2)

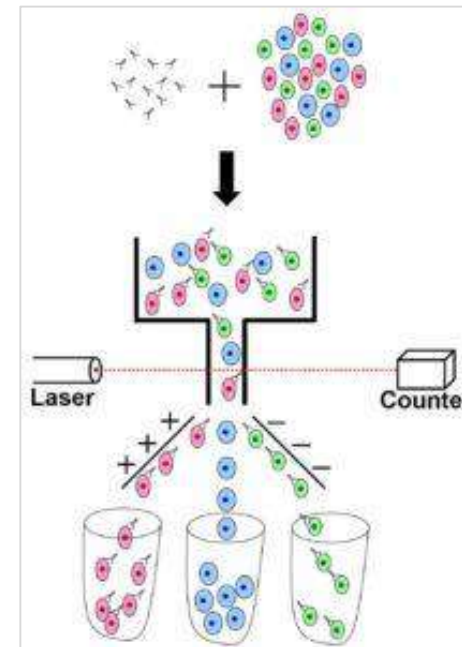
Otras medidas de control

- Descontaminación de espacios y las superficies con procedimientos y productos eficaces y validados contra virus con envuelta, siguiendo las recomendaciones del ABS.
- Autoclave disponible en el edificio.
- Uso de **centrífugas con tapas antiaerosoles**. La carga y descarga de rotores o cestillos se realizarán en CSB.
- **Puertas y ventanas** (si fueran practicables) **deberán permanecer cerradas** en todo momento durante el desarrollo del trabajo.
- Es **obligatoria la comunicación de cualquier incidente o accidente** ocurrido en el laboratorio al ABS y al Servicio de Prevención de Riesgos Laborales (PRL)

Nivel de Contención Biológica 3 (NCB3)

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.
- Alicuotado automático, extracción de AANN, Citometría y FACS de muestras viables en equipos sin sistemas de control de aerosoles



FACS



Aerosol Management System (AMS).

Nivel de Contención Biológica 3 (NCB3)

Instalaciones

- Superficies resistentes a la humedad y a los productos químicos en mesa de trabajo, suelo, **paredes y techos**.
- Control de accesos electrónico, preferentemente biométrico.
- Antesalas en el acceso al área de trabajo.
- **Ventanas no practicables y estancas.**
- Sistema de ventilación sin recirculación e independiente (HVAC)
- **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.

BSL-3 laboratory



Nivel de Contención Biológica 3 (NCB3)

Instalaciones

- **Filtración HEPA H14 en el aire de extracción, recomendable en impulsión (H13)**
- **Sistemas de intercambio de materiales (SAS, airlocks, dunk tanks,..) que aseguren que el proceso de salida de materiales, muestras, equipos,...,se realiza de manera segura tras un proceso de descontaminación adecuado.**
- **Autoclave de doble frontera en la zona de contención.**
- **En caso de no disponer de un sistema de tratamiento de efluentes general o común para toda la instalación, neutralización de los efluentes generados en el laboratorio en pileta u otros sistemas antes de su retirada o vertido al sistema general de desagüe, teniendo en cuenta la normativa.**



Nivel de Contención Biológica 3 (NCB3)

Instalaciones y EPI

- Vestuario para el **cambio completo de ropa** y colocación y **retirada segura** de ropa de protección o EPI sobre ropa de trabajo. Adicionalmente, puede disponer de **duchas de descontaminación** para el personal a la salida de la zona biocontenida.
- Protección corporal y respiratoria completa:
 - Mono completo y calzas tipo 4B o superior.
 - Mascarilla FFP3 y/o en su caso capuz ventilado.
 - Uso de **doble guante con certificación “virus”**.
- Lavado de manos, limpieza de mucosa nasal, expectoración y cepillado de uñas antes de abandonar la zona biocontenida.
- En caso de disponer de duchas de biodescontaminación personal es necesario el **tratamiento de los efluentes** generados mediante métodos validados.



Nivel de Contención Biológica 3 (NCB3)

Otras medidas de control.

- Formación y entrenamiento en condiciones NCB3 diseñado, informado y **autorizado por el ABS**.
- Procedimientos validados de descontaminación de superficies y espacios.
- Notificación de “primer uso” de “COVID-19” a la autoridad pertinente en cada comunidad



Biocustodia (*Biosecurity*)

Serán de aplicación las siguientes medidas

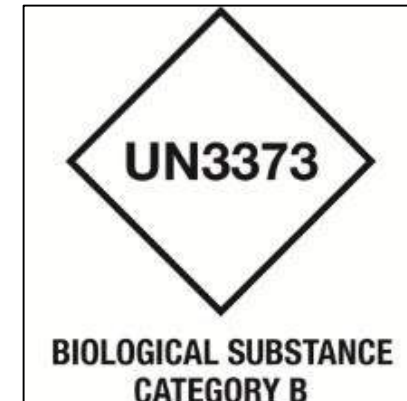


- Señalización del área de biocustodia.
- **Registro** de la recepción, entradas y salidas de muestras (fecha, hora y origen), el destino y los movimientos y usos incluso dentro del mismo edificio.
- Registro de la localización de las muestras biológicas y su almacenamiento en cuartos de conservación (cámaras de 4°C), frigoríficos, ultracongeladores,...
- **Registro de personal implicado en la biocustodia.**
- Control de accesos a cuartos de almacenamiento.
- **Inventario físico y verificación periódica**
- En caso de apreciarse anomalías contables, informar de manera inmediata.
- **Control y registro de la destrucción** de muestras biológica.
- Conservar en lugar y medio seguro de la documentación y registros físicos e informáticos generados durante al menos cinco años.

Transporte de muestras

Envío de muestras al exterior (transporte externo)

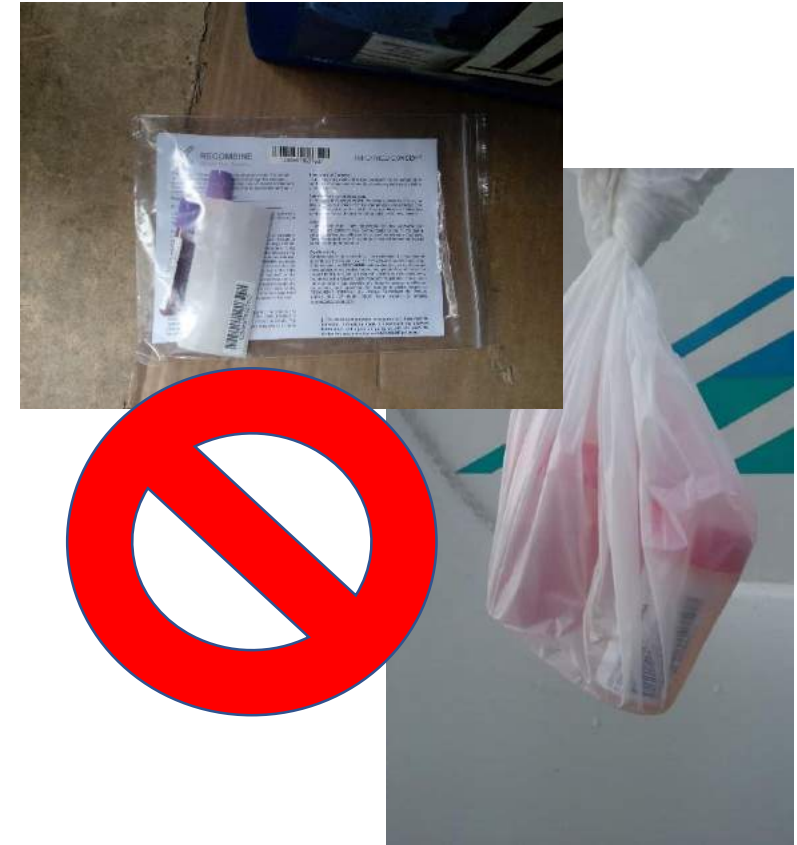
- **Muestras de diagnóstico** potencialmente infectadas con SARS-CoV-2 se realizará conforme a las normas para sustancias infecciosas de categoría B (**instrucción de embalaje P650 y UN3373**), con embalajes certificados.
- **Cultivos o concentrado virales de SARS-CoV-2** se realizarán conforme a las normas para sustancias infecciosas de categoría A (**instrucción de embalaje P620 y UN2814**), solo con embalajes homologados.
- Está **prohibido el transporte en vehículos privados**.



Transporte de muestras

Envío de muestras al exterior (transporte externo)

- Sólo se usarán contenedores primarios que aseguren un cierre estanco.
- El recipiente primario se desinfectará externamente antes de retirarlo de la cabina.
- En el propio laboratorio NCB2 se preparará el contenedor secundario. El contenedor secundario se desinfectará superficialmente antes de la CSB.
- En NCB3, todo el proceso se prepara en CSB y se descontamina antes de salir de la zona biocontenida
- La descontaminación exterior de contenedores primarios y secundarios sólo se realizará con desinfectantes de probada eficacia.



Transporte de muestras

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.
- Hasta el momento, no se han descrito medidas adicionales para almacenes de biobancos.



Desinfectantes

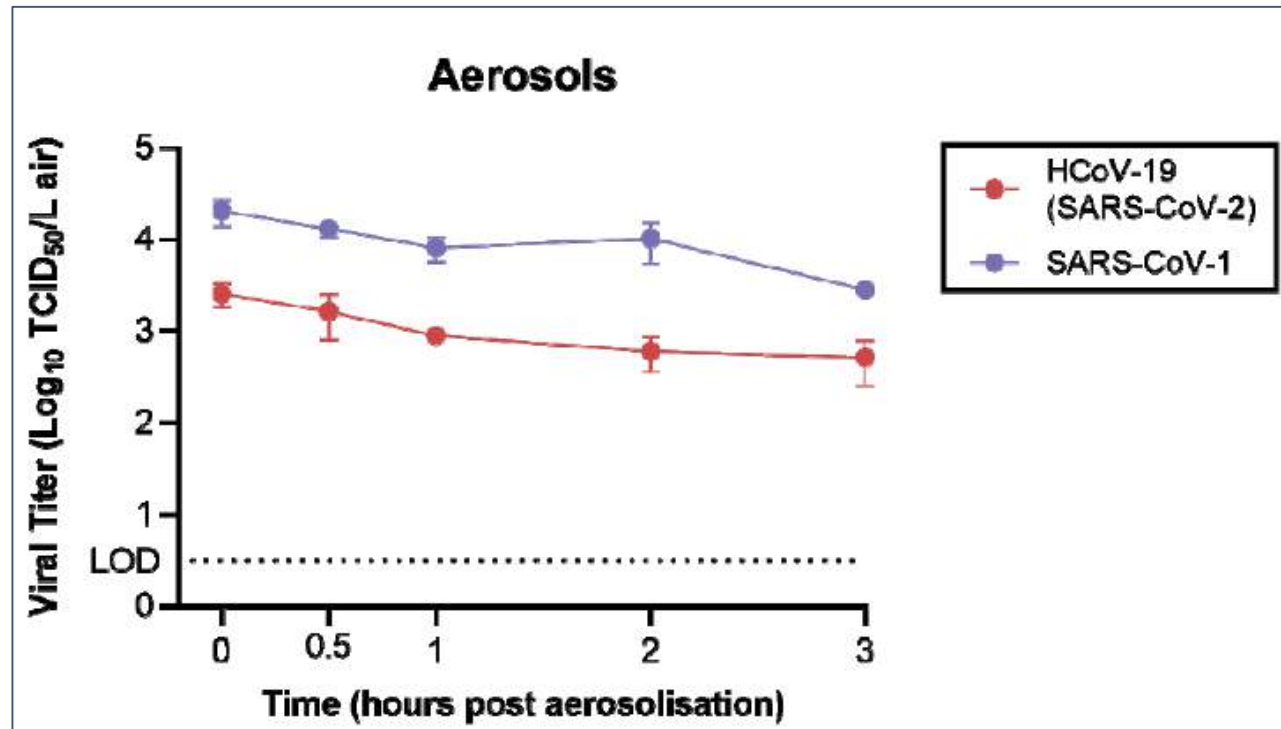
De acuerdo con las recomendaciones de la OMS y otros estudios, los siguientes desinfectantes se consideran eficaces para virus con envuelta:

Desinfectante	Concentración	Tiempo de contacto	Utilización
Etanol	80%	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
Peróxido de hidrógeno-ácido peracético	Conforme a instrucciones del fabricante	Conforme a instrucciones del fabricante	Desinfección general de superficies
Virkon™	1% (10gr/l)	10 min	Desinfección general de superficies y vertidos o líquidos con carga orgánica ⁽¹⁾
Perasafe™	1.62% (16,2 gr/l))	10 min	Desinfección general de superficies y vertidos o líquidos con carga orgánica ⁽¹⁾

(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**, ...

Información adicional

Persistencia de SARS-CoV-2 en suspensión



TCID₅₀/L air: Endpoint dilution assay quantifies the amount of virus required to produce a cytopathic effect in 50% of inoculated tissue culture cells

LOD: Límite de detección de la técnica

Información adicional

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

Información adicional

Stability of SARS-CoV-2 in different surfaces

B) Surface*

Virus titre (Log TCID₅₀/mL)

Time	Printing paper		Tissue paper		Cloth		Stainless steel		Surgical mask (Outer layer)	
	Mean	±SD	Mean	±SD	Mean	±SD	Mean	±SD	Mean	±SD
0 min	4.76	0.10	5.48	0.10	4.84	0.17	5.80	0.02	5.78	0.10
30 mins	2.18	0.05	2.19	0.17	2.84	0.24	5.23	0.05	5.75	0.08
3 hrs	U	-	U	-	2.21 [#]	-	5.09	0.04	5.11	0.29
6 hrs	U	-	U	-	2.25	0.08	5.24	0.08	4.97	0.51
1 day	U	-	U	-	2.07 [#]	-	4.85	0.20	4.73	0.05
2 days	U	-	U	-	U	-	4.44	0.20	4.20	0.07
4 days	U	-	U	-	U	-	3.26	0.10	3.71	0.50
7 days	U	-	U	-	U	-	-	-	2.79	0.46

RONDA DE PREGUNTAS



Coordinador

D. Fco. Javier García Palomo

Técnico de la sala de Nivel 3 de Contención Biológica (NCB3) de los servicios Nucleus, Universidad de Salamanca
Biological Safety Officer (IFBA Certified)

Especialistas en Bioseguridad

Dr. Fernando Usera Mena

Responsable del Servicio de Bioseguridad del Centro Nacional de Biotecnología (Madrid, CSIC)
Biological Safety Officer (IFBA Certified)

Dr. Gonzalo Pascual Álvarez

Jefe del Servicio de Seguridad Biológica del Centro de Investigación en Sanidad Animal, INIA. (Madrid, CISA-INIA)
Biological Safety Officer (IFBA Certified)

D. Jorge Pérez Bruzón.

Socio-Consultor (*Partner-Consultant*) de Lab Safety Consulting, SLU
Biological Safety Officer (IFBA Certified)

Dr. Sebastià Calero Gárnica

Asesor de Bioseguridad en Universitat Autònoma de Barcelona (UAB)
Biological Safety Officer (UNE16335)

Dr. Patricia Obregón Calderón

Dr. Biología Molecular y Bioquímica
Biosafety adviser at Hospital CD Gómez Ulla
Biological Safety Officer (UNE16335)