

DOCUMENTO GENERAL

Requisitos para un laboratorio para diagnóstico de influenza aviar mediante ELISA y RT-PCR en tiempo real.

RECOMENDACIONES GENERALES

Estos requisitos aplican a laboratorios autorizados por el SAG para la manipulación de muestras y la realización del ensayo RT-PCR en tiempo real para la detección del virus Influenza Aviar. Estos laboratorios requieren de un diseño especial, necesario para un laboratorio funcional y adecuado. Son necesarios gabinetes de bioseguridad, ya que el método diagnóstico a realizar es muy sensible a contaminaciones. Siempre se deben llevar a cabo Buenas Prácticas de Laboratorio. Se debe poner énfasis en evitar la diseminación viral fuera del laboratorio.

A. REQUERIMIENTOS FÍSICOS:

Se requiere un recinto separado de áreas públicas. No debe ubicarse cerca de otras oficinas ni de corredores o sitios con alto flujo de personas. Las puertas deben permanecer cerradas. No deben existir ventanas que se puedan abrir. Las paredes, cielos, muebles y pisos deben ser lavables y resistentes a los productos químicos y desinfectantes normalmente utilizados en el laboratorio. Las esquinas idealmente deben ser redondeadas. Se requiere contar con al menos un Gabinete de Bioseguridad Clase II (certificado anualmente). Se requiere como infraestructura mínima: una sala separada para la extracción de ARN viral, una sala de RT-PCR con los equipos de PCR Real Time y una estación de trabajo para el Mix PCR. El laboratorio debe contar con un Autoclave. Debe haber un lavamanos cerca de la salida. Se debe mantener la ropa de calle, los delantales y zapatos de trabajo, en áreas separadas. El acceso al laboratorio será restringido, especialmente cuando se esté realizando algún trabajo. El laboratorio debe disponer de espacio suficiente para realizar el trabajo en condiciones de seguridad y para la limpieza y el mantenimiento. Debe existir espacio suficiente para guardar los artículos de uso inmediato, evitando así su acumulación desordenada sobre las mesas de trabajo y en los pasillos. La iluminación debe ser adecuada para todas las actividades. Los casilleros para guardar la ropa de calle y los objetos personales se deben encontrar fuera de las zonas de trabajo del laboratorio. Se debe disponer de un suministro de electricidad seguro y de suficiente capacidad. Es deseable que el laboratorio cuente con presión de aire negativa dentro del laboratorio y sistema de ventilación controlada.

B. PRECAUCIONES DE TRABAJO:

ACCESO

1. Las puertas del laboratorio deberán estar cerradas y el acceso al mismo deberá estar restringido. La puerta deberá portar emblemas que digan: "Prohibido pasar – Peligro biológico".
2. Sólo podrá entrar en las zonas de trabajo del laboratorio el personal autorizado.
3. Las puertas del laboratorio se mantendrán cerradas.
4. No se autorizará ni permitirá la entrada de niños en las zonas de trabajo del laboratorio.

REQUERIMIENTOS

1. El laboratorio deberá mantenerse limpio, ordenado y libre de materiales extraños.
2. No se permitirá comer, beber, fumar y/o almacenar comidas, así como el uso de cualquier otro ítem personal (ej. cosméticos, cigarrillos) dentro del área de trabajo.
3. Usar delantal o uniforme dentro del laboratorio, el cual se debe cambiar y lavar con agua y detergente o desechar en el caso de utilizar ropa desechable, periódicamente. Además, se deberá usar calzado de trabajo exclusivo para estar dentro del laboratorio, los zapatos de calle se deben dejar fuera del laboratorio. Al egresar del laboratorio se

DOCUMENTO GENERAL

Requisitos para un laboratorio para diagnóstico de influenza aviar mediante ELISA y RT-PCR en tiempo real.

debe dejar el delantal y el calzado de trabajo en la zona sucia (dentro del laboratorio) y se deberá quitar justo antes de abandonar el área de trabajo. Cada área de trabajo debe contar con cambio de delantal y calzado.

4. Al estar trabajando con las muestras, utilizar mascarillas. En caso que el laboratorio no exija una ducha del personal al salir del laboratorio, se deberá utilizar gorros para cubrir el cabello. Puede utilizarse equipo adicional para protección de ojos cuando sea necesario.

5. Se deben utilizar guantes desechables de látex en todo momento, especialmente para manipular material o muestras. Cambiar los guantes de látex toda vez que hayan sido contaminados, lavarse las manos y ponerse guantes limpios. No tocar los ojos, nariz o piel con las manos enguantadas.

6. Antes de iniciar la tarea diaria asegúrese que la piel de sus manos no presente cortes ni otras lesiones, en caso que así sea, cubrir la herida de manera conveniente antes de colocarse los guantes.

7. No abandonar el laboratorio con los guantes, el gorro, el delantal ni los zapatos de trabajo puestos.

8. Se deberán tomar precauciones extremas con instrumentos cortopunzantes contaminados: uso de contenedor de elementos cortopunzantes, desinfección y eliminación adecuada.

9. Todos los procedimientos deberán ser realizados de manera tal que se minimice la generación de aerosoles, gotas, salpicaduras, etc.

10. Bajo ninguna circunstancia se pipeteará sustancia alguna con la boca.

11. Todos los materiales usados en el laboratorio deberán ser adecuadamente descontaminados. Todos los desechos deben descontaminarse antes de la eliminación con un método aprobado, como por ejemplo autoclavado, cloro, etc. Se debe segregar el material de basura de acuerdo al peligro y debe haber material apropiado para recolectar el material contaminado. El material contaminado una vez desinfectado se deberá incinerar, ya sea con incinerador propio y/o ser retirado por una empresa calificada para esto, guardando los comprobantes en cada caso.

12. Las superficies de trabajo deben ser descontaminadas al finalizar las jornadas o después de cualquier uso con material viable, para tal efecto una solución de alcohol al 70%.

13. Lavar las manos con jabón líquido y agua inmediatamente después que el trabajo haya sido terminado. El lavado de manos es obligatorio para toda persona que abandone el laboratorio. Secar las manos con toalla de papel.

14. Se debe informar inmediatamente al superior de cualquier accidente ocasionado con elementos del laboratorio.

16. Llevar programa de control de roedores e insectos, cuando sea necesario.

DOCUMENTO GENERAL

Requisitos para un laboratorio para diagnóstico de influenza aviar mediante ELISA y RT-PCR en tiempo real.

C. REQUERIMIENTOS OPERACIONALES:

El supervisor es responsable de establecer los procedimientos de medidas de seguridad y asegurarse de que cada trabajador tenga la capacitación adecuada.

El personal de laboratorio necesita entrenamiento específico para seguir los protocolos descritos.

Se debe llevar el control diario de temperaturas de todos los equipos con temperatura controlada.

Uso de aparatos y otros elementos:

Congeladores y refrigeradores: Cada vez que se deba guardar o retirar material, el operador deberá tener puestos los guantes. Todo el material almacenado deberá estar rotulado y cerrado adecuadamente.

Centrífuga

- No detenerla manualmente.
- No destaparla antes de que cese de girar.
- Emplear tubos con tapa (tapa rosca o de goma).

Luego de transcurridos 10 min. de la detención, se procederá a abrirla (esto es muy importante, si se quiebra un tubo y se abre de inmediato la centrífuga, hay peligro de diseminar aerosoles). Al terminar el trabajo limpiar con solución descontaminante por dentro y por fuera del aparato.

Autoclave

Se debe realizar su mantención anual. Se exigirá este certificado de mantención.

Este aparato sólo puede ser manejado por una persona capacitada debidamente, que haya obtenido una licencia para operar autoclaves. Se exigirá este certificado de capacitación.

Manejo y eliminación del material contaminado y desechos:

1. Todo el material usado (por ej. puntas de micropipetas, tubos, guantes, etc.) deberá ser ubicado en un recipiente resistente a punciones o cortaduras. El recipiente debe contener líquido descontaminante y deberá estar ubicado en el mismo lugar de trabajo. El material contaminado deberá permanecer en el recipiente con material desinfectante por al menos media hora, para luego ser autoclavado.

2. Para la eliminación de todo material contaminado, el método de elección es el autoclavado y la posterior incineración. Todo laboratorio autorizado deberá contar con un autoclave dentro del laboratorio. Se deberá autoclavar todo el material contaminado. Posteriormente se debe proceder a incinerar el material que fue autoclavado. De no contar con incinerador, se deberá llamar a una empresa especializada dedicada a la incineración de material biológico contaminado, conservando siempre los comprobantes de retiro de residuos. Se deben guardar y mantener ordenados todos los registros de autoclavado e incineración, los cuales serán requeridos por personal del SAG en las supervisiones.

DOCUMENTO GENERAL

Requisitos para un laboratorio para diagnóstico de influenza aviar mediante ELISA y RT-PCR en tiempo real.

D. EN CASO DE ACCIDENTES:

Derrames: Cuando se produzca derrame de material infectado o potencialmente infectado, el operador (siempre usando guantes) deberá cubrir el fluido derramado con papel absorbente y verter alrededor y sobre él solución descontaminante, dejando actuar por lo menos 20 minutos. Posteriormente con un nuevo papel absorbente, seco y limpio, levantar el material y arrojarlo al recipiente de desechos contaminados para su posterior eliminación de acuerdo al punto anterior que describe el manejo del material contaminado. La superficie afectada deberá ser enjuagada nuevamente con solución descontaminante. Los guantes serán descartados después del procedimiento.

Basado en:

- 1- Organización Mundial de la Salud. *Manual de Bioseguridad en el Laboratorio*. 3ª edición. Ginebra, 2005.
- 2- Jonathan Y. Richmond, Ph.D. Director, Office of Health and Safety Centers for Disease Control and Prevention Atlanta, GA 30333. Adaptado de la 3ª edición de *Bioseguridad en Laboratorios Microbiológicos y Biomédicos (Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories [1])* del Centro de Control y Prevención de Enfermedades/ Institutos Nacionales de Salud (CDC/NIH)