

**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:

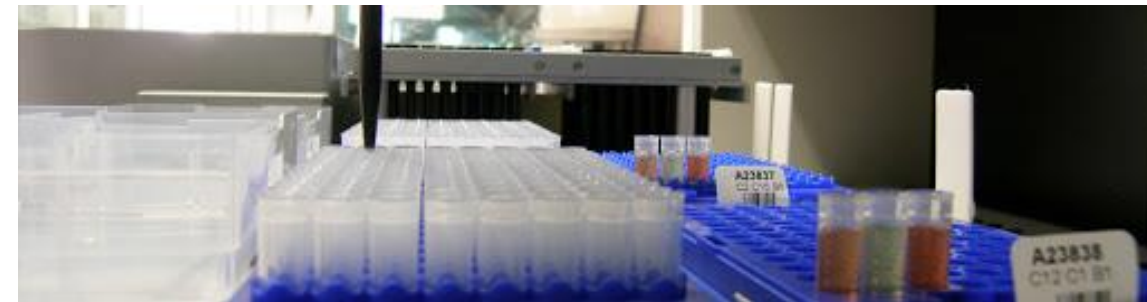
- Preparación de las muestras frescas no inactivadas.
- Disgregación de muestras sólidas o viscosas (p.ej. saliva, swabs, tejidos).
- Adición de tampón de lisis y fijación de muestras.
- Alicuotado de lisados virales.
- Centrifugación de muestras no inactivadas.
- Cell-sorting o Fluorescence-activated 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)<sup>(1)</sup>



(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)

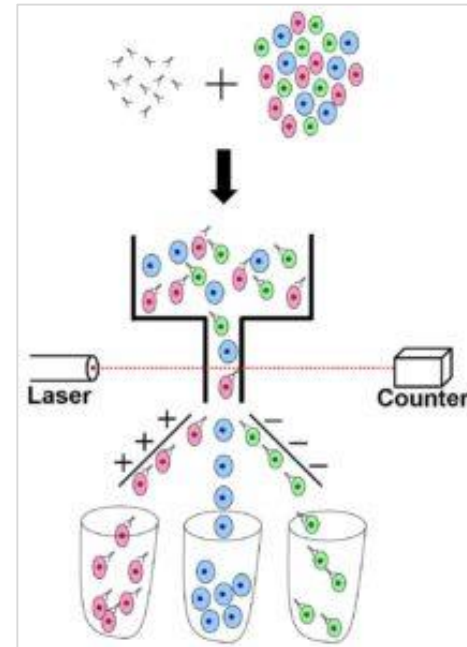
### Otras medidas de control

- 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

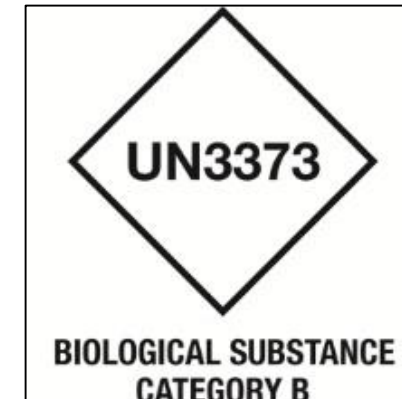


- Señalización del área de biocustodia.
- **Registro** de la recepción, entradas y salidas de muestras (fecha, hora y origen), el destino y los movimientos y usos incluso dentro del mismo edificio.
- Registro de la localización de las muestras biológicas y su almacenamiento en cuartos de conservación (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)

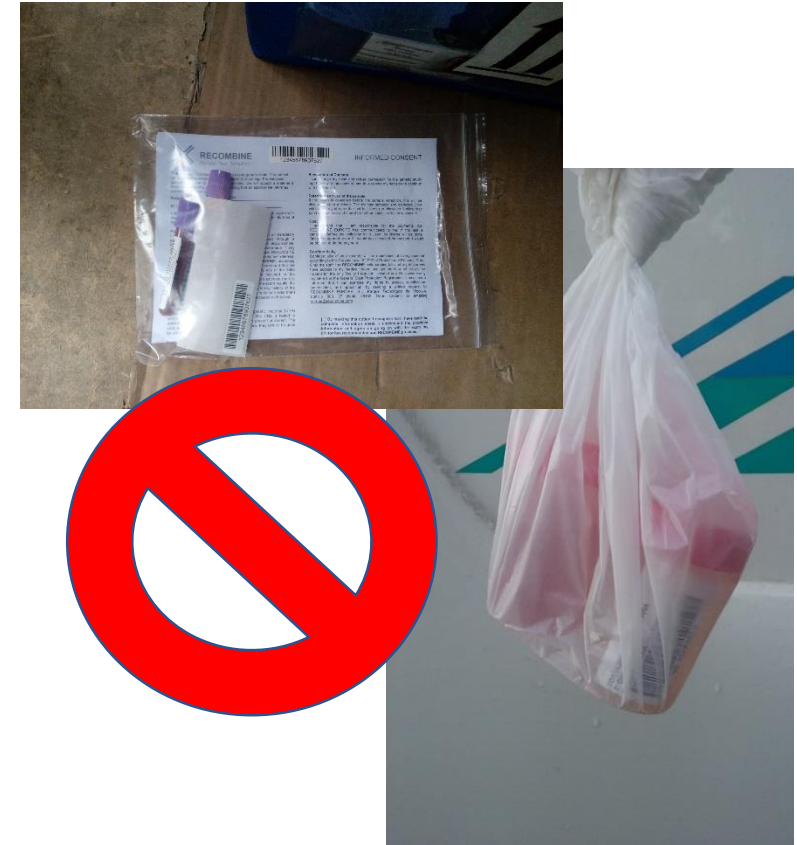
- Muestras de diagnóstico potencialmente infectadas con SARS-CoV-2 se realizará conforme a las normas para sustancias infecciosas de categoría B (instrucción de embalaje P650 y UN3373), con embalajes certificados.
- Cultivos o concentrado virales de SARS-CoV-2 se realizarán conforme a las normas para 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

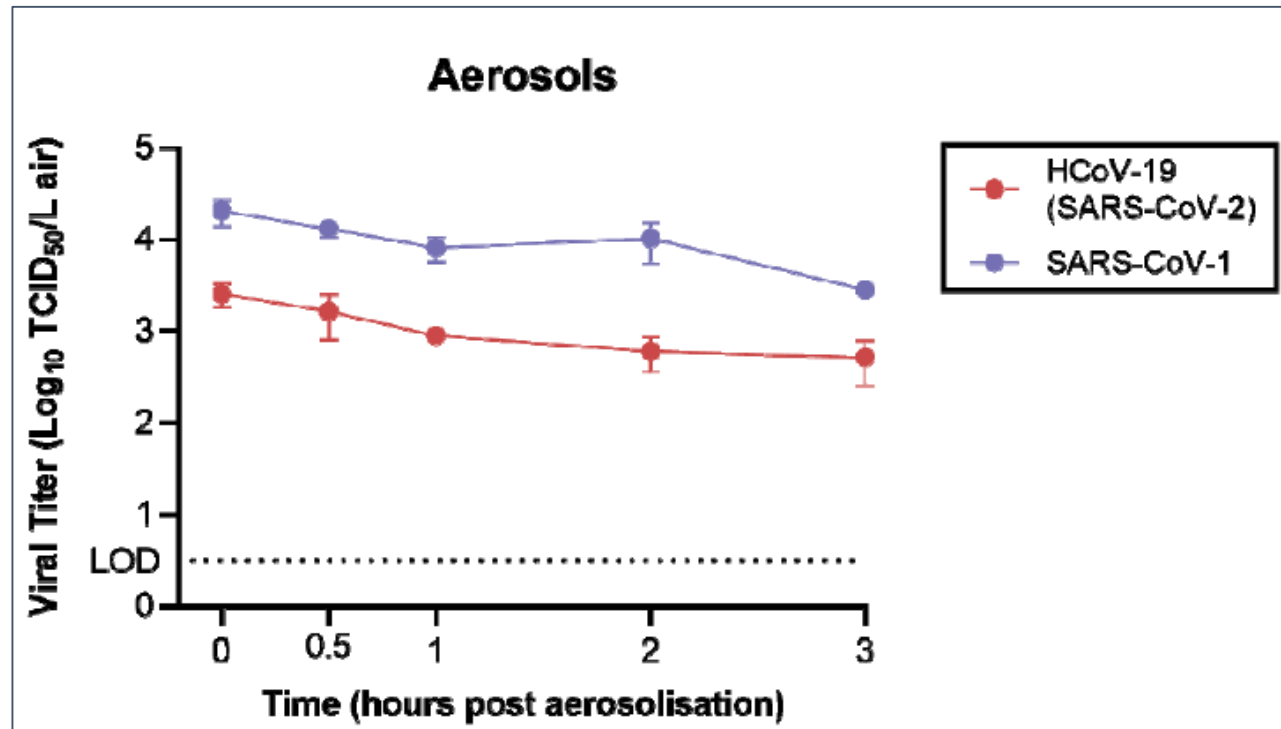
De acuerdo con las recomendaciones de la OMS y otros estudios, los siguientes desinfectantes se consideran eficaces para virus con envuelta:

| 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 <sup>(1)</sup>                       |
| 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 <sup>(1)</sup> |
| Perasafe™                              | 1.62% (16,2 gr/l))                      | 10 min                                  | Desinfección general de superficies y vertidos o líquidos con carga orgánica <sup>(1)</sup> |

(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



**TCID<sub>50</sub>/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 <sub>50</sub> /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 TCID<sub>50</sub>/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 TCID<sub>50</sub>/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 <sup>#</sup> | -    | 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 <sup>#</sup> | -    | 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)