






PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO Y SEGURIDAD PARA EL USO DE LA SALA P2 CON PRESIÓN NEGATIVA

Índice

1.	OBJETO
2.	ALCANCE
3.	CONSIDERACIONES GENERALES
4.	RESPONSABILIDADES
5.	PROCEDIMIENTO ENTRADA, ESTANCIA Y SALIDA LABORATORIO P2
6.	ORDEN, USO Y MANTENIMIENTO EQUIPOS
7.	ACTUACIÓN EN CASO DE ACCIDENTE
8.	DOCUMENTOS RELACIONADOS
9.	DOCUMENTACIÓN DE REFERENCIA

Código	MI_PR0201
Nº edición	01
Fecha Aprobación	27.01.2020
Borrador <input type="checkbox"/>	Original <input checked="" type="checkbox"/>

Elaborado por:		Revisado por:	Aprobado por:	
Laboratorios Investigación Lucía Patiño Álvarez	Unidad de Genómica Irene Viéitez González	Comisión de Calidad Susana Teijeira Bautista	Directora FBGS Beatriz Gil de Araújo de Simón	Director Científico IIISGS José R. Fernández Lorenzo
				
Fecha: 13.01.2020		Fecha: 23.01.2020	Fecha: 27.01.2020	

Control Modificaciones		
Nº Edición	Fecha Aprobación	Modificación realizada
00	26.12.2019	Original
01	27.01.2020	Se revisa y actualiza el procedimiento y la instrucción técnica.

Cláusula de Confidencialidad

Este documento es propiedad del Instituto de Investigación Sanitaria Galicia Sur. Se deberá utilizar dicho material exclusivamente para el servicio acordado entre los responsables y la Dirección y para lo que requiere necesariamente su empleo. Dicho compromiso incluye la prohibición de la reproducción total o parcial del material mencionado por cualquier medio o método.

1. OBJETO

El objeto de este procedimiento es describir las instrucciones necesarias para garantizar el uso adecuado del Laboratorio P2 con presión negativa, para cultivos celulares o técnicas que requieran mayor seguridad.

Asimismo, su finalidad es diseñar y unificar todos los procedimientos y/o protocolos de trabajo vinculados a la Unidad de Cultivos Celulares del Instituto de Investigación Sanitaria Galicia Sur, adoptando medidas comunes para todos los usuarios designados.

2. ALCANCE

Este procedimiento es de aplicación a todo el personal autorizado para el uso de la Sala P2 de presión negativa.

3. CONSIDERACIONES GENERALES

Las personas que trabajen en un laboratorio P2 con presión negativa están expuestas a un riesgo biológico derivado de los productos y muestras que manipulan. Es posible realizar el trabajo diario en condiciones de alta seguridad adoptando medidas de protección a través de las buenas prácticas y técnicas de laboratorio, que requieren la formación previa del personal y derivan del sentido común y conocimiento; junto con otras medidas adicionales como barreras primarias (equipos de seguridad) y secundarias (diseño del laboratorio e instalaciones).

El elemento más importante para contener los riesgos biológicos es el seguimiento estricto de prácticas y técnicas en cultivos celulares y manipulación de microorganismos. Dentro de los equipos de seguridad (o barreras primarias) se incluyen tanto los dispositivos o aparatos que garantizan la seguridad (como cabinas de seguridad biológica), como las prendas de protección personal (guantes, mascarillas, batas, calzado, etc.). El diseño y construcción de la instalación (o barreras secundarias) dependerá del tipo de agente infeccioso que se manipule en el laboratorio, se incluyen separación de las zonas donde tiene acceso el público, disponibilidad de sistemas de descontaminación, filtrado del aire de salida al exterior, flujo de aire direccional, etc., estos últimos son para nivel de contención mayor que el de la sala P2.

Un nivel de contención 2 es el obligado para agentes del grupo 2 que, incluso perteneciendo a la propia flora habitual del hombre, son capaces de originar patología infecciosa humana de gravedad moderada o limitada. Deben ser manipulados por personal especializado (técnicos de laboratorio o especialistas). Las medidas de contención y aspectos a tener en cuenta para un nivel 2 son:

- Un nivel de contención se puede reducir en aquellas operaciones en las que las autoridades sanitarias o la práctica habitual así lo estipulen. Un ejemplo de esto serían las técnicas serológicas o moleculares de los virus VIH, VHB y VHC, siempre que se adopten las precauciones universales para trabajo con patógenos de transmisión parenteral (guantes, manipulación correcta de objetos punzantes o cortantes, etc.). A diferencia de si se trabaja con cultivos de VIH para lo cual se debería aplicar el nivel de contención mayor.
- Se adoptará dicho nivel al manipular materiales con respecto a los cuales exista incertidumbre acerca de la presencia de agentes biológicos que puedan causar

enfermedad en el hombre, pero que no tengan como objetivo trabajar con ellos como tales, cultivándolos o concentrándolos.

- Excepto en casos excepcionales (por ejemplo: sospecha de fiebres hemorrágicas), el procesamiento inicial de las muestras clínicas y las pruebas serológicas pueden realizarse de forma segura en un nivel 2.
- Trabajos que impliquen manipulación de agentes biológicos de los grupos 2 ó 3 con fines de investigación, desarrollo, enseñanza o diagnóstico deberán establecer medidas de contención que se aplicarán según la naturaleza de las actividades, la evaluación del riesgo para los trabajadores y las características del agente biológico del que se trate.

4. RESPONSABILIDADES

USUARIOS

- ✓ Cumplir las normas establecidas en este procedimiento, en la instrucción técnica vinculada y en Plan de Contingencia y Recomendaciones de Seguridad.
- ✓ Únicamente trabajará en la sala de presión negativa el personal que tenga experiencia y conocimientos relativos a las tareas a realizar en su interior, y, en caso contrario, se encargarán los/las responsables de área o unidad.

RESPONSABLES DE ÁREA

- ✓ Mantenimiento y funcionalidad del Laboratorio P2 de presión negativa.
- ✓ Organización de turnos en el caso del uso de la sala por otros usuarios.

MANTENIMIENTO

- ✓ Mantenimiento de la sala según instrucciones de los equipos e instalaciones.
- ✓ Participación en caso de que surjan problemas que requieran la intervención del servicio técnico, el suministro de productos (p.ej. balas CO₂) o el traslado de equipos.

5. PROCEDIMIENTO ENTRADA, ESTANCIA Y SALIDA DEL LABORATORIO P2

En la “Instrucción técnica uso Sala P2” (MI_PR0201_IT1) se describen de forma detallada todas las actividades a realizar y demás aspectos a tener en cuenta durante la entrada, estancia y salida de la sala P2 con presión negativa del personal autorizado. Esta información estará visible en el interior de la esclusa para facilitar su cumplimiento.

Por otra parte, se detallan a continuación otros aspectos a tener en cuenta:

OBSERVACIONES DE INTERÉS

- ✓ El laboratorio está diseñado para tener una presión negativa de entre 10 y 40 Pa en la zona de trabajo, que se controla desde el *display* de la esclusa.
- ✓ Participación en caso de que surjan problemas que requieran la intervención del servicio técnico, el suministro de productos (p.ej. balas CO₂) o el traslado de equipos.
- ✓ Las puertas poseen un sistema *interlock* de bloqueo de apertura para mantener la presión negativa lo más constante posible en el interior de la sala. Salvo casos excepcionales, estará siempre conectado, por lo que no se podrá abrir una puerta mientras no se cierre la otra correctamente. En el *display* de la esclusa figurará conectado cuando el *interlock* se ilumine verde (bloqueo de puertas) y desconectado cuando sea rojo.
- ✓ En el momento de la entrada a la sala será necesario comprobar que todo funciona correctamente y que la presión negativa está en funcionamiento. Existe un sistema de aire acondicionado en el interior, que se puede modificar en el *display* correspondiente y permite mantener la sala a la temperatura adecuada.

6. ORDEN, USO Y MANTENIMIENTO DE EQUIPOS

Para trabajar dentro del laboratorio P2 con presión negativa es necesario el cumplimiento de normas básicas relativas a la utilización, limpieza, desinfección y mantenimiento de los aparatos en las condiciones adecuadas.

Disponemos de un “Registro de uso de la Sala P2” (MI_PR0201_FT1), cuya cumplimentación es obligatoria, que contiene la siguiente información: nombre y apellidos, grupo de investigación, fecha, hora entrada y hora salida.

Todos los manuales de uso y funcionamiento de los equipos de la sala están a disposición de sus usuarios/as en un mueble del laboratorio etiquetado con “Manuales”, pero en caso de duda contactar con el/la responsable de área a través del teléfono móvil (Lucía Patiño - 515466).

ORDEN, USO Y MANTENIMIENTO EQUIPOS	
Armarios, nevera y congelador	- Mantener orden y limpieza para facilitar el trabajo a las personas que utilicen la sala
Incubador conectado a CO ₂	<ul style="list-style-type: none"> - Se ha de tener especial cuidado con su funcionamiento. Es el Servicio de Mantenimiento del hospital quien se encarga de su revisión - Se usa para el crecimiento y mantenimiento de microorganismos, por ello es importante su limpieza y desinfección de forma periódica para reducir riesgos derivados de contaminación accidental y/o cruzada - Es necesario esterilizar baldas y recipientes de agua por calor seco, mediante el programa establecido al introducir la tarjeta SteriCard de Memmert (ver manual incubador) - Hay que rociar el interior con un producto para la prevención de Mycoplasma y desinfectar con etanol al 70% - Todo ello sin ningún cultivo o material biológico en el interior

ORDEN, USO Y MANTENIMIENTO EQUIPOS	
Baño termostático	<ul style="list-style-type: none"> - Hay que vaciarlo periódicamente y renovar con agua destilada, con la adición del producto adecuado para prevención de Mycoplasma. - Se recomienda su limpieza y desinfección periódica para reducir los riesgos de contaminación, debido a su uso de acondicionamiento de medios y/o reactivos para el cultivo celular
Centrífugas	<ul style="list-style-type: none"> - Los mayores riesgos derivan de la contaminación por los aerosoles generados durante la centrifugación de materiales biológicos y en caso de accidente hay que actuar según lo indicado en el apartado 7. - Se ha de proceder a su limpieza con lejía diluida y etanol al 70% de forma periódica, tanto su interior como los adaptadores y el rotor
Cabinas de Seguridad Biológica (CSB)	<ul style="list-style-type: none"> - Son cámaras de circulación forzada por flujo laminar vertical, que proporcionan protección, limitando el riesgo del personal de laboratorio expuesto a agentes infecciosos. A pesar de ello, es necesario cumplir otras medidas de protección individual (batas de manga larga ajustadas, guantes, etc.) - Para su correcto mantenimiento hay que tener en cuenta las instrucciones del fabricante y se realizará su verificación anual por una empresa certificada. - Uso: <ul style="list-style-type: none"> • Diariamente, antes de trabajar en ella, se encenderá la luz UV (alrededor de 30 minutos), cuando no haya nadie en el interior de la sala • Posteriormente, hay que esperar al menos 10 minutos con el flujo encendido para que se estabilice • Antes y después de trabajar en la cabina, es necesario limpiar la superficie metálica con etanol al 70% y, en caso necesario, lejía diluida al 10% y a continuación etanol • Es importante mantener un orden y una limpieza estrictos al trabajar en la CSB, introduciendo únicamente el material necesario y de uso inmediato. Dicho material ha de estar lo más libre posible de partículas, rociándolo antes con etanol al 70%. No se puede introducir material que desprenda partículas o fibras • Los materiales desechables generados se eliminarán sobre recipientes con lejía o al contenedor de infecciosos, que una vez lleno se dejará en el pasillo general para que sea recogido por la empresa encargada de su tratamiento. • Periódicamente se rociará la superficie y paredes de la cabina con el producto de prevención de Mycoplasma, siguiendo las instrucciones del fabricante
Microscopio invertido	<ul style="list-style-type: none"> - Tras su uso dejar puesto el objetivo de menor aumento, la luz apagada y cubierto

7. ACTUACIÓN EN CASO DE ACCIDENTE

Si a pesar de todas las precauciones y del uso de equipos de protección individual (guantes, bata, etc.), se produce un accidente, se tendrá en cuenta lo establecido en el Plan de Contingencia y Recomendaciones de Seguridad y, a continuación, se establecen directrices generales, que pueden ser complementadas con instrucciones específicas, a tener en cuenta en caso de inoculación, ingesta, derrames y salpicaduras:

DIRECTRICES GENERALES

- ✓ En caso de **accidente** de cualquier tipo, existe un teléfono móvil, dentro de un mueble del laboratorio etiquetado con “Manuales”, para llamar sin salir del interior, el número de dicho teléfono es **515469**. Sería preciso dar aviso al **responsable de área (Lucía Patiño)**, llamando al **515466**, para que siga las medidas de protección adecuadas.
- ✓ En caso de **derrame en zona de trabajo**, lavar con abundante agua y detergente acuoso, y a continuación desinfectar con lejía, ésta no debe usarse en superficies metálicas como en la CSB o incubadores, salvo si está diluida al 10% y se limpia seguidamente con etanol al 70% (si es necesario se limpia la cabina por debajo levantando las baldas de la superficie). En las demás superficies, dejar actuar la lejía unos minutos y posteriormente limpiar con etanol al 70%.
- ✓ En caso de **salpicaduras** de productos químicos o biológicos y/o contacto con el personal lavar con abundante agua y dar aviso. En caso necesario existe un lavaojos en el fregadero.
- ✓ En caso de **formación de aerosoles**, al haber presión negativa se ha de dar aviso de que no entre nadie más hasta la limpieza de la zona, y dar un margen de 30 minutos a que la presión negativa anule el peligro del aerosol o salpicadura.
- ✓ En caso de **derrame o salpicaduras en la centrífuga**, tomar las precauciones y protecciones individuales necesarias según el peligro, y desinfectar con lejía y etanol al 70% por dentro y por fuera de la misma. Tener precaución con la retirada de los tubos rotos o muestras del interior, y en su caso manipular dentro de la CSB.
- ✓ En caso de ser precisa una **evacuación** rápida del laboratorio, en función de la gravedad de la emergencia y la capacidad para contenerla, existe un pulsador tipo “seta” que permite anular el bloqueo de la puerta del laboratorio y esclusa para salir al exterior. Del mismo modo también hay una “seta” en el pasillo exterior para la entrada a la esclusa.
- ✓ Existe un sistema contra incendios en caso de que se genere un pequeño **fuego**.

8. DOCUMENTOS RELACIONADOS

Documentos relacionados al Procedimiento	
Código	Nombre Documento
MI_PR0201_FT1	Registro uso Sala P2
MI_PR0201_IT1	Instrucción técnica uso Sala P2

9. DOCUMENTACIÓN DE REFERENCIA

- Manuales usuario equipos del interior de la sala
- Gestión lab. Cultivos celulares. Sistema de Gestión de Calidad del CITIUS. Centro de Investigación, Tecnología e Innovación Universidad de Sevilla
- https://www.seimc.org/contenidos/gruposdeestudio/gegmic/dcientificos/documentos/gegmic_d yc1_2009.pdf
- Manual de bioseguridad en el laboratorio. 3ª edición. Organización Mundial de la Salud. Ginebra. 2005.
- Manual de normas y procedimientos de bioseguridad comité de vigilancia epidemiológica (cove) división de talento humano salud ocupacional. 2003
- Normativa aplicable a residuos sanitarios, Decreto 38/2015, de 26 de febrero, de residuos sanitarios de Galicia
- Normativa para la manipulación de material biológico en el instituto de parasitología y biomedicina “López Neyra”. CSIC
- NTP 233: Cabinas de seguridad biológicas. INSHT
- NTP 376: Exposición a agentes biológicos: seguridad y buenas prácticas de laboratorio. INSHT