

MANUAL DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO
CUARTA EDICIÓN
Y
MONOGRAFÍAS COMPLEMENTARIAS

DESCONTAMINACIÓN Y GESTIÓN DE DESECHOS



Organización
Mundial de la Salud

MANUAL DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO
CUARTA EDICIÓN
Y
MONOGRAFÍAS COMPLEMENTARIAS

DESCONTAMINACIÓN Y GESTIÓN DE DESECHOS

Descontaminación y gestión de desechos [Decontamination and waste management]

(Manual de bioseguridad en el laboratorio, cuarta edición y monografías complementarias / Laboratory biosafety manual, fourth edition and associated monographs)

ISBN 978-92-4-005950-4 (versión electrónica)

ISBN 978-92-4-005951-1 (versión impresa)

© Organización Mundial de la Salud 2023

Algunos derechos reservados. Esta obra está disponible en virtud de la licencia 3.0 OIG Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual de Creative Commons (CC BY-NC-SA 3.0 IGO; <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/igo>).

Con arreglo a las condiciones de la licencia, se permite copiar, redistribuir y adaptar la obra para fines no comerciales, siempre que se cite correctamente, como se indica a continuación. En ningún uso que se haga de esta obra debe darse a entender que la OMS refrenda una organización, productos o servicios específicos. No está permitido utilizar el logotipo de la OMS. En caso de adaptación, debe concederse a la obra resultante la misma licencia o una licencia equivalente de Creative Commons. Si la obra se traduce, debe añadirse la siguiente nota de descarga junto con la forma de cita propuesta: «La presente traducción no es obra de la Organización Mundial de la Salud (OMS). La OMS no se hace responsable del contenido ni de la exactitud de la traducción. La edición original en inglés será el texto auténtico y vinculante».

Toda mediación relativa a las controversias que se deriven con respecto a la licencia se llevará a cabo de conformidad con el Reglamento de Mediación de la Organización Mundial de la Propiedad Intelectual (<https://www.wipo.int/amc/es/mediation/rules>).

Forma de cita propuesta. Descontaminación y gestión de desechos [Decontamination and waste management]. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2022 (Manual de bioseguridad en el laboratorio, cuarta edición y monografías complementarias / Laboratory biosafety manual, fourth edition and associated monographs). Licencia: [CC BY-NC-SA 3.0 IGO](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/igo).

Catalogación (CIP). Puede consultarse en <http://apps.who.int/iris>.

Ventas, derechos y licencias. Para comprar publicaciones de la OMS, véase <http://apps.who.int/bookorders>. Para presentar solicitudes de uso comercial y consultas sobre derechos y licencias, véase <https://www.who.int/es/copyright>.

Materiales de terceros. Si se desea reutilizar material contenido en esta obra que sea propiedad de terceros, por ejemplo cuadros, figuras o imágenes, corresponde al usuario determinar si se necesita autorización para tal reutilización y obtener la autorización del titular del derecho de autor. Recae exclusivamente sobre el usuario el riesgo de que se deriven reclamaciones de la infracción de los derechos de uso de un elemento que sea propiedad de terceros.

Notas de descarga generales. Las denominaciones empleadas en esta publicación y la forma en que aparecen presentados los datos que contiene no implican, por parte de la OMS, juicio alguno sobre la condición jurídica de países, territorios, ciudades o zonas, o de sus autoridades, ni respecto del trazado de sus fronteras o límites. Las líneas discontinuas en los mapas representan de manera aproximada fronteras respecto de las cuales puede que no haya pleno acuerdo.

La mención de determinadas sociedades mercantiles o de nombres comerciales de ciertos productos no implica que la OMS los apruebe o recomiende con preferencia a otros análogos. Salvo error u omisión, las denominaciones de productos patentados llevan letra inicial mayúscula.

La OMS ha adoptado todas las precauciones razonables para verificar la información que figura en la presente publicación, no obstante lo cual, el material publicado se distribuye sin garantía de ningún tipo, ni explícita ni implícita. El lector es responsable de la interpretación y el uso que haga de ese material, y en ningún caso la OMS podrá ser considerada responsable de daño alguno causado por su utilización.

Índice

Nota de agradecimiento	iv
Glosario	vi
Resumen ejecutivo	x
SECCIÓN 1 Introducción	1
SECCIÓN 2 Métodos de descontaminación	3
2.1 Limpieza e higiene de las manos	5
2.2 Desinfección química	6
2.3 Desinfección con gases	15
2.4 Desinfección por calor	16
2.5 Esterilización	21
2.6 Indicadores biológicos y químicos	21
SECCIÓN 3 Gestión y descontaminación de desechos	25
3.1 Consideraciones sobre la gestión de desechos	25
3.2 Descontaminación de desechos líquidos	32
3.3 Descontaminación de desechos sólidos	34
SECCIÓN 4 Métodos de inactivación	37
4.1 Inactivación de muestras	37
Referencias	42
Información complementaria	46

Nota de agradecimiento

Coordinador principal

Dr. Kazunobu Kojima, Organización Mundial de la Salud (Suiza)

Colaboradores científicos

Sr. Allan Bennett (Jefe de Equipo), *Public Health England* (Centro Colaborador de la OMS para la Bioseguridad Aplicada y la Formación) (Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte)

Dr. Alan Beswick, *Health and Safety Laboratory* (Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte)

Sra. Marianne Heisz, *Public Health Agency of Canada* (Centro Colaborador de la OMS para la Bioseguridad y la Bioprotección) (Canadá)

Sr. Peter Hoffman, *Public Health England* (Centro Colaborador de la OMS para la Bioseguridad Aplicada y la Formación) (Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte)

Dra. Stéphane Karlen, Instituto de Virología e Inmunología, Universidad de Berna (Suiza)

Dra. Catherine Makison Booth, *Health and Safety Laboratory* (Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte)

Dr. Paul Meechan, Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (Centro Colaborador de la OMS para la Bioseguridad y la Bioprotección) (Estados Unidos de América)

Sra. Heather Sheeley, *Public Health England* (Centro Colaborador de la OMS para la Bioseguridad Aplicada y la Formación) (Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte)

Dra. Kathrin Summermatter (Subjefa de Equipo), Instituto de Enfermedades Infecciosas, Universidad de Berna (Suiza)

Gestión del proyecto

Sra. Lisa Stevens, Organización Mundial de la Salud (Francia)

Sra. Rica Zinsky, Organización Mundial de la Salud (Suiza)

Revisores

Dr. David Holmes, Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (Centro Colaborador de la OMS para la Bioseguridad y la Bioprotección) (Estados Unidos de América)

Edición técnica

Sra. Fiona Curlet

Apoyo financiero

La elaboración y publicación de este documento han sido posibles gracias al apoyo financiero de *Global Partnership Program, Global Affairs* (Canadá); *Biosecurity Engagement Program*, Departamento de Estado (Estados Unidos de América) y *Defense Threat Reduction Agency*, Departamento de Defensa (Estados Unidos de América).



**Cofinanciado por
la Unión Europea**

Glosario

Agente biológico: Microorganismo, virus, biotoxina, partícula u otro material infeccioso, ya sea de origen natural o modificado genéticamente, que pueda causar infección, alergia, toxicidad o de algún otro modo suponer un peligro para los seres humanos, los animales o las plantas.

Agente de limpieza: Sustancia física o química, o combinación de ellas, que tiene actividad para hacer que algo esté limpio.

Bioprotección: Principios, tecnologías y prácticas que se aplican en la protección, el control y la rendición de cuentas de los materiales biológicos y los equipos, las competencias y los datos relacionados con su manipulación. La bioprotección tiene como objetivo evitar el acceso no autorizado a esos materiales o equipos y su pérdida, robo, uso indebido, desviación o liberación.

Bioseguridad: Principios, tecnologías y prácticas de contención que se aplican para evitar la exposición involuntaria a agentes biológicos o su liberación fortuita.

Cámara de seguridad biológica (CSB): Espacio de trabajo cerrado y ventilado diseñado para proteger al operador, al entorno del laboratorio y a los materiales de trabajo en actividades en las que hay peligro de que se generen aerosoles. La contención se consigue separando esa zona de trabajo del resto del laboratorio o utilizando mecanismos que hagan que el flujo de aire sea controlado y direccional. El aire de salida pasa por un filtro de partículas aéreas de gran eficiencia (HEPA) antes de volver a circular en el laboratorio o en el sistema de calefacción, ventilación y aire acondicionado del edificio. Hay diferentes clases (I, II y III) de CSB que proporcionan diferentes niveles de contención.

Carga: Productos, equipos o materiales que se van a procesar juntos en un ciclo de funcionamiento de, por ejemplo, un autoclave.

Cloro disponible: Medida de la cantidad de cloro disponible en los compuestos de hipoclorito y otros desinfectantes químicos utilizados como fuente de cloro, en comparación con la del cloro gaseoso puro.

Contaminación: Introducción de agentes biológicos no deseados en tejidos y muestras o en superficies.

Contaminación cruzada: Proceso por el cual los agentes biológicos se transfieren involuntariamente de una sustancia u objeto a otro, con un efecto potencialmente dañino.

Descontaminación: Reducción hasta un nivel previamente definido, por medios químicos o físicos, de los agentes biológicos viables u otros materiales peligrosos presentes en superficies u objetos.

Desinfección: Proceso para eliminar agentes biológicos viables de objetos o superficies a fin de que puedan manipularse o usarse de forma segura.

Desinfección por calor: Desinfección conseguida por la acción del calor húmedo o seco.

Desinfectante: Producto capaz de eliminar agentes biológicos viables presentes en superficies o en desechos líquidos. Su eficacia varía en función de las propiedades del producto químico y de su concentración, tiempo de conservación y tiempo de contacto con el agente.

Desnaturalización: Proceso en el que se cambia por medios químicos o físicos la estructura de moléculas complejas, pero se mantiene su composición; suele acompañarse de una pérdida de función y puede ser reversible o irreversible.

Dispositivo (equipo) de contención primaria: Espacio de trabajo confinado destinado a proteger al operador, al entorno del laboratorio y a los materiales de trabajo en actividades en que los aerosoles supongan un peligro. La protección se consigue separando esa zona de trabajo del resto del laboratorio, o mediante mecanismos de flujo de aire controlado y direccional. Entre los dispositivos de contención primaria se encuentran las CSB, las cámaras aislantes, los ventiladores por extracción localizada y los espacios de trabajo ventilados.

Dosimetría: Evaluación de la dosis de radiación ionizante absorbida por un objeto.

Endospora: Célula que forman ciertas bacterias grampositivas en condiciones desfavorables para su crecimiento. Las endosporas son extremadamente resistentes al calor y a otros agentes nocivos.

Espora: Véase endospora.

Estéril: Estado en el que hay una ausencia total de agentes biológicos y esporas viables.

Esterilización: Proceso que mata o elimina todos los agentes biológicos, incluidas las esporas.

Forma vegetativa: Célula de una bacteria (o de un alga unicelular) que crece activamente en lugar de formar esporas.

Fumigación: Uso de un gas o vapor venenoso para eliminar la contaminación de una superficie, un equipo o una zona por un agente biológico.

Fumigante: Producto químico utilizado para fumigar; también conocido como desinfectante aéreo.

Humedad relativa: Medida del vapor de agua presente en el aire, expresada en porcentaje del máximo que el aire es capaz de mantener a una determinada temperatura.

Inactivación: Eliminación de la actividad de los agentes biológicos mediante la destrucción o inhibición de su actividad reproductiva o enzimática.

Indicador biológico: Sistema de prueba que contiene agentes biológicos viables que tienen una resistencia especificada a un determinado proceso de esterilización.

Jabón: Compuesto soluble en agua que se utiliza para limpiar la piel y otros materiales, pero no inactiva necesariamente los agentes biológicos.

Limpieza: Reducción de los agentes biológicos viables a niveles seguros.

Limpio: Libre de suciedad apreciable a simple vista y con concentraciones de analitos inferiores a niveles previamente especificados.

Patógeno: Agente biológico que puede ser causa de enfermedad en seres humanos, animales o plantas.

Procedimiento operativo normalizado (PON): Conjunto de instrucciones paso a paso, bien documentadas y validadas, que describen cómo ejecutar las prácticas y los procedimientos de laboratorio de manera segura, oportuna y fiable, de acuerdo con las políticas institucionales, las mejores prácticas y la normativa nacional o internacional aplicable.

Recipiente a presión: Equipo diseñado y construido para contener fluidos bajo presión, como un autoclave o una unidad de preparación de medios de cultivo.

Riesgo: Combinación de la probabilidad de que se produzca un incidente y de la gravedad del daño (consecuencias) ocasionado si se produjera.

Suciedad: Contaminación con material biológico, incluidos los agentes biológicos, de un dispositivo o superficie tras su uso.

Tiempo de reducción decimal, valor D o valor D_{10} : Tiempo necesario para inactivar el 90% de las células presentes en una superficie u objeto o para reducir la población de un agente biológico a una décima parte de su número original en las mismas condiciones, es decir, una reducción de un logaritmo.

Validación: Confirmación sistemática y documentada de que los requisitos especificados son suficientes para garantizar el efecto o el resultado deseado. Por ejemplo, para demostrar que un material está descontaminado, el personal del laboratorio debe validar la eficacia del método de descontaminación midiendo la cantidad de agentes biológicos restantes frente al límite de detección obtenido con indicadores químicos, físicos o biológicos.

Vapor saturado: Vapor de agua en estado de equilibrio entre sus fases líquida y gaseosa, como se utiliza en la esterilización por vapor.

Verificación: Confirmación de que determinado elemento (producto, proceso o sistema) satisface los requisitos especificados. Por ejemplo, periódicamente se verificará que el funcionamiento del autoclave cumple las normas especificadas por el fabricante.

Resumen ejecutivo

La desinfección, la esterilización y la gestión de desechos son fundamentales para manipular agentes biológicos de forma segura, por lo que es importante entender los mecanismos básicos de los diferentes métodos de desinfección, esterilización y gestión de desechos que se pueden utilizar en el laboratorio. Los requisitos específicos de la descontaminación dependen de la naturaleza de los agentes biológicos que se manipulen. En esta monografía se describen los métodos de gestión y eliminación final de los desechos de laboratorio que sean considerados como peligros biológicos. La información que se presenta puede servir para elaborar procedimientos normalizados y más específicos sobre descontaminación y gestión de desechos de un laboratorio en particular. Los destinatarios de esta monografía son el personal encargado de la evaluación del riesgo, como los directores de laboratorio o los oficiales de bioseguridad, el personal y los científicos que descontaminan los objetos del laboratorio y los trabajadores que manipulan los desechos.

La información que contiene esta monografía sobre la descontaminación y la gestión de desechos tiene por objetivo complementar la cuarta edición del *Manual de bioseguridad en el laboratorio* de la OMS (en adelante, el *Manual*) y las demás monografías complementarias. En lugar de un enfoque prescriptivo, en esta cuarta edición del *Manual* y en las monografías complementarias se adopta un enfoque de la bioseguridad basado en los riesgos y en las evidencias que garantice que las instalaciones de los laboratorios, los equipos de seguridad y las prácticas de trabajo sean pertinentes, proporcionales a las necesidades y sostenibles a nivel local. Se hace hincapié en la importancia de una «cultura de la seguridad» que incorpore la evaluación del riesgo, las buenas prácticas y procedimientos microbiológicos (BPPM) y los PON, la adecuada formación introductoria, de actualización y de tutoría del personal, y la notificación rápida de incidentes y accidentes, seguida de su investigación y de las medidas correctivas pertinentes. Con este nuevo enfoque se pretende facilitar tanto un diseño de los laboratorios como formas de funcionamiento que garanticen una mayor sostenibilidad, manteniendo al mismo tiempo un control adecuado de la bioseguridad.

Las demás monografías complementarias proporcionan información detallada que ayuda a poner en práctica sistemas y estrategias sobre los siguientes temas especializados: evaluación del riesgo, diseño y mantenimiento del laboratorio, cámaras de seguridad biológica y otros dispositivos de contención primaria, equipos de protección personal, gestión de programas de bioseguridad, y preparación y capacidad de recuperación ante brotes epidémicos.

En la presente monografía se describen los métodos de descontaminación utilizados en los laboratorios de microbiología, tales como el lavado de las manos y la desinfección con productos químicos, gases o calor; se comentan las diferentes clases de desinfectantes químicos y sus componentes, sus mecanismos de acción y sus ventajas e inconvenientes; se analizan los factores que pueden influir en la eficacia de los desinfectantes; se expone una visión general de los métodos de fumigación, de la inactivación por calor y de cómo se comprueba la eficacia de estos tratamientos mediante indicadores, y se analizan la gestión de desechos y la documentación y el mantenimiento de registros, que son parte integral de ella, la eliminación segura de los productos de desecho sólidos y líquidos, y los métodos de inactivación de muestras.

INTRODUCCIÓN

En esta monografía, que complementa la información sobre descontaminación y gestión de desechos expuesta en la cuarta edición del *Manual (1)*, se aborda la limpieza, la desinfección con productos químicos, gases o calor, la esterilización, los indicadores químicos y biológicos, la gestión de desechos y la inactivación de muestras biológicas.

Las demás monografías complementarias proporcionan información detallada que ayuda a poner en práctica sistemas y estrategias sobre los siguientes temas especializados: evaluación del riesgo (2), diseño y mantenimiento del laboratorio (3), cámaras de seguridad biológica y otros dispositivos de contención primaria (4), equipos de protección personal (5), gestión de programas de bioseguridad (6), y preparación y capacidad de recuperación ante brotes epidémicos (7).

En un laboratorio típico, la gestión de los desechos que puedan contener agentes biológicos debe incluir los medios de descontaminación validados que se hayan determinado en el proceso de evaluación del riesgo. La descontaminación se consigue habitualmente mediante una combinación de desinfectantes químicos y autoclave, complementada en algunos casos con la incineración. Así pues, para la bioseguridad en el laboratorio es fundamental que el personal tenga conocimientos básicos sobre limpieza, desinfección y esterilización. Los principios generales que se exponen más adelante se aplican a todas las clases conocidas de agentes biológicos. Es importante asegurarse de que todos los desinfectantes utilizados —ya sean aplicados a superficies o a líquidos— estén validados como desinfectantes contra los agentes biológicos que se manipulan habitualmente en el laboratorio y que se utilicen a la temperatura y concentración correctas, durante el tiempo de contacto mínimo para el que han sido validados. Además, a la hora de elegir el desinfectante apropiado hay que tener en cuenta que algunos pueden ser inactivados por la materia orgánica; por ejemplo, la presente en reactivos de laboratorio como los suplementos nutritivos de los cultivos líquidos.

También es importante que se tengan en cuenta la separación (por ejemplo, de materiales limpios y contaminados o de materiales contaminados y personal) y la contención (por ejemplo, la introducción segura de los desechos en bolsas y cajas durante su manipulación y traslado de la mesa de laboratorio al autoclave). En el apartado 3.1 de la cuarta edición del *Manual (1)* se describen detalladamente las BPPM.

En los laboratorios con gran actividad es importante que haya una zona destinada a mantener de forma segura durante un breve periodo de tiempo los desechos que contienen agentes biológicos antes de proceder a su rápido procesamiento y eliminación. Lo ideal es que esa zona esté separada de la zona de trabajo/analítica del laboratorio y alejada de las zonas en las que se almacenen o procesen artículos limpios y estériles. Para más información sobre el diseño de los laboratorios véase la monografía *Diseño y mantenimiento del laboratorio* (3).

La información genérica sobre descontaminación y gestión de desechos que se expone en esta monografía puede utilizarse para elaborar procedimientos normalizados o más específicos con los que hacer frente a los agentes biológicos patógenos en el laboratorio. Los requisitos específicos de la descontaminación dependerán del tipo de actividad o procedimiento y de la naturaleza de los agentes biológicos que se manejen. Por lo tanto, los laboratorios deben determinar qué estrategias de gestión de desechos serán no solo apropiadas según los resultados de la evaluación del riesgo, sino también aplicables a las necesidades y condiciones locales.

MÉTODOS DE DESCONTAMINACIÓN

Dependiendo del nivel de descontaminación que haya que alcanzar, se pueden utilizar procesos como la limpieza, la desinfección o la esterilización (figura 2.1). La elección del método de descontaminación, sea químico o físico, dependerá de la aplicación: la descontaminación de desechos, superficies, dispositivos médicos o muestras puede lograrse con procesos como la exposición al vapor o el tratamiento con productos químicos. Para seleccionar el método de descontaminación más adecuado hay que tener en cuenta las ventajas e inconvenientes de cada uno.

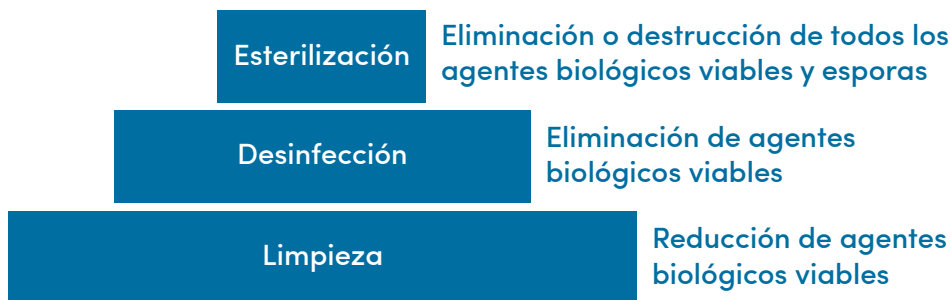


Figura 2.1 Niveles de descontaminación

En la tabla 2.1 se muestran los métodos de descontaminación descritos en esta monografía para controlar la contaminación por agentes biológicos.

En el caso de los métodos químicos, a la hora de seleccionar el desinfectante que se utilizará en el proceso de descontaminación hay que tener en cuenta cuatro factores: eficacia antimicrobiana, seguridad, impacto medioambiental y compatibilidad con los materiales de las superficies o los equipos de laboratorio que se vayan a descontaminar. Todavía no existe, y probablemente nunca exista, un desinfectante ideal, que debería poseer las siguientes características:

- Tener acción rápida y eficiente sobre los agentes biológicos.
- Tener un amplio ámbito de aplicación.
- Ser eficaz a la menor concentración posible.
- Ser activo a cualquier temperatura.

Tabla 2.1 Métodos físicos y químicos de descontaminación para controlar la contaminación microbiana

CATEGORÍAS DE DECONTAMINACIÓN		
QUÍMICA		FÍSICA
GASES O VAPORES	LÍQUIDOS	CALOR
Formaldehído Peróxido de hidrógeno Dióxido de cloro	Fenoles Peróxidos Hipocloritos Dióxido de cloro Ácido peracético Formaldehído Glutaraldehído Compuestos de amonio cuaternario Alcoholes	Autoclave Incineración Horno de aire caliente Hervor

- Ser poco tóxico.
- No ser inactivado por la materia orgánica.
- Ser compatible con todos los materiales (por ejemplo, no ser corrosivo).
- Ser estable.
- Ser degradable y respetuoso con el medio ambiente.

La secuencia correcta para que la desinfección tenga éxito consiste en: 1) limpiar para eliminar la suciedad y la materia orgánica, 2) aplicar el desinfectante y 3) después de un tiempo de contacto predeterminado, si es necesario, limpiar con agua para eliminar los residuos químicos.

En los apartados siguientes se describe una serie de métodos utilizados habitualmente en el laboratorio para tratar los desechos contaminados (sólidos o líquidos) o eliminar agentes biológicos de las superficies, los equipos y los materiales que se vayan a desechar.

2.1 Limpieza e higiene de las manos

2.1.1 Limpieza

En términos generales, la limpieza consiste en eliminar de un objeto cualquier materia que no forme parte de él. En el contexto de la bioseguridad en el laboratorio, la limpieza tiene dos funciones: 1) eliminar del objeto la suciedad y la materia orgánica que inactivaría los desinfectantes químicos o impediría que entraran en contacto con los agentes biológicos que haya en él, y 2) eliminar gran parte de los agentes biológicos, haciendo más eficaz la reducción de su número a niveles seguros mediante la posterior desinfección química.

No se debe confiar en la limpieza como único proceso de descontaminación. La necesidad de proceder a la limpieza antes de la desinfección química es subjetiva; si un objeto parece físicamente limpio no es necesario limpiarlo. La dificultad surge cuando hay zonas que no pueden verse, como el interior de tubos opacos u ocultos. En estos casos hay que evaluar el riesgo para saber si es necesario limpiar antes de desinfectar.

La limpieza puede efectuarse manualmente fregando, a ser posible con agua caliente, cepillando, aspirando, desempolvando en seco, lavando o pasando un trapo húmedo, preferiblemente con agua tibia. Otro método de limpieza consiste en utilizar un lavavajillas de laboratorio. La adición de agentes de limpieza (tensioactivos que reducen la tensión superficial, detergentes) aumenta la eficacia. Son agentes de limpieza habituales la solución de sosa (3 kg de carbonato de sodio (Na_2CO_3) por 100 l de agua caliente), la solución de jabón (3 kg de jabón por 100 l de agua caliente) y los preparados comerciales. La limpieza debe efectuarse de forma que se garantice la seguridad de quien la realice y se evite la propagación de la enfermedad o la dispersión de la contaminación. Por lo tanto, el personal debe recibir formación y utilizar equipo de protección personal (EPP) y técnicas y cuidados apropiados.

2.1.2 Higiene de las manos

El uso de guantes adecuados proporciona un alto grado de protección, aunque no completa, y hay que lavarse las manos después de quitárselos. Además, los guantes pueden agujerarse y, aunque los agujeros sean demasiado pequeños para que el usuario los note, la contaminación líquida pasará a través de ellos por acción capilar y se extenderá por la piel. Incluso con una técnica excelente de retirada de los guantes, como se describe en la monografía *Equipos de protección personal (5)*, las manos pueden contaminarse al quitárselos. Si no se han usado guantes, es esencial lavarse las manos después del trabajo de laboratorio o de manipular animales. Si las manos se contaminan en el laboratorio con agentes biológicos, la contaminación estará en la superficie de la piel, por lo que es fácil eliminarla lavándoselas o inactivarla con productos antimicrobianos para las manos.

Hay dos tipos de higiene de las manos en el laboratorio: el lavado con agua y jabón y la limpieza con alcohol.

Lavado con agua y jabón

Un lavado de manos breve (unos 20 segundos) pero concienzudo con agua corriente y jabón eliminará eficazmente la contaminación adquirida en el laboratorio. En la figura 2.2 se muestra una técnica para lavarse las manos eficazmente. El uso de jabones antimicrobianos no tiene ninguna ventaja, ya que el propósito del lavado es eliminar los agentes biológicos, y no inactivarlos o destruirlos. Las manos deben lavarse con agua corriente, por lo que debe utilizarse un grifo que mezcle agua caliente y fría a una temperatura agradable. Son preferibles los grifos de manos libres (con interruptor de infrarrojos o accionados con el pie, la rodilla o el codo). Si hay que abrir y cerrar el grifo con la mano se utilizará una toalla de papel limpia para cerrarlo. Las manos se secarán con toallas de papel de un solo uso que se desecharán correctamente en una papelera dispuesta para ello.

Limpieza con alcohol

Los alcoholes (etanol, propanol o isopropanol) en concentraciones del 60% al 95% aplicados a las manos, que se frotarán hasta que se sequen, pueden ser eficaces para eliminar la contaminación microbiana adquirida durante el trabajo de laboratorio (8, 9). Véase la técnica correcta en el sitio web de la OMS (10). Los alcoholes no penetran bien en las proteínas ni en las materias que las contienen, por lo que sólo se utilizarán cuando las manos estén visiblemente limpias. Los alcoholes no tienen actividad contra las esporas y son poco activos contra los virus sin envoltura; si es probable que las manos estén contaminadas con estos agentes biológicos se lavarán en lugar de limpiarlas con alcohol.

2.2 Desinfección química

Los agentes biológicos tienen diferente sensibilidad o resistencia a los productos químicos dependiendo de la presencia o ausencia de pared celular, membranas lipídicas, capas de polisacáridos y peptidoglicano. Por lo general, para inactivar las esporas se necesitan mayores concentraciones de desinfectantes muy activos que para inactivar los virus con envoltura. Normalmente, una solución de hipoclorito de sodio (NaOCl) que contenga 1000 ppm (partes por millón) de cloro disponible será adecuada para la desinfección general de superficies, pero se recomiendan soluciones más potentes (por ejemplo, 5000 ppm o 10 000 ppm) cuando se trate de una fuerte contaminación, de la presencia de materia orgánica o de agentes biológicos resistentes a los desinfectantes.



Figura 2.2 Higiene de las manos - procedimiento recomendado

2.2.1 Tipos de desinfectantes

Existen varias clases de desinfectantes químicos (figura 2.3).

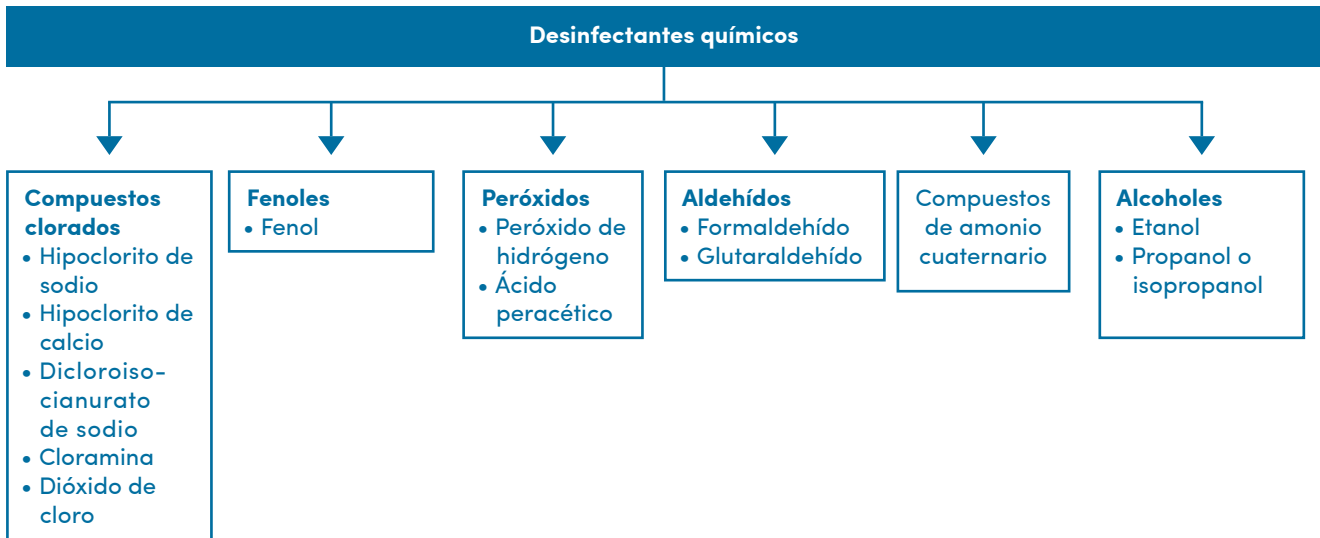


Figura 2.3 Tipos de desinfectantes químicos

Compuestos clorados

Los hipocloritos son desinfectantes a base de cloro, pero el componente activo es el oxígeno unido débilmente al cloro, que se libera con facilidad y queda disponible para oxidar otros compuestos. Estos desinfectantes son soluciones con una variedad de componentes en equilibrio, pero los compuestos más activos suelen ser el hipoclorito de sodio (NaOCl), el ion hipoclorito (ClO⁻) y el ácido hipocloroso (HOCl). La capacidad oxidante de las soluciones de hipoclorito se expresa como porcentaje de cloro disponible, o ppm de cloro disponible, una denominación histórica errónea, pues realmente se refiere al oxígeno unido al cloro.

Los hipocloritos son inactivados por la materia orgánica. Incluso con niveles aparentemente bajos de contaminación («condiciones limpias»), se requieren altas concentraciones, y la concentración necesaria aumenta a medida que aumenta la cantidad de contaminación por materia orgánica («condiciones sucias»); véase la tabla 2.2.

Las soluciones de hipoclorito pueden prepararse a partir de diferentes agentes, como la lejía líquida, que es barata y fácil de conseguir. Sin embargo, puede haber incertidumbre sobre el contenido de cloro disponible en estas soluciones porque los hipocloritos líquidos se descomponen durante su almacenamiento a una velocidad que depende de las condiciones de almacenamiento, principalmente de la temperatura. Las soluciones de hipoclorito diluidas tienen un tiempo de conservación limitado, de aproximadamente un día, dependiendo de la exposición al calor y a la luz solar.

Los gránulos o pastillas de hipoclorito de calcio ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$) suelen contener alrededor de un 70% de cloro disponible. Así, las soluciones de pastillas o gránulos que contienen, por ejemplo, 1,4 g/l de hipoclorito de calcio, contendrán alrededor de 1 g/l (equivalente a 1000 ppm) de cloro disponible.

El dicloroisocianurato de sodio (NaDCC) es un sólido muy estable, incluso a altas temperaturas, cuando está almacenado en seco. Contiene un 60% de cloro disponible y forma un equilibrio que contiene las especies químicas activas de los hipocloritos. El NaDCC está disponible en diversas formas de pastillas que dan una concentración específica de cloro disponible cuando se disuelven en los volúmenes de agua especificados.

Se pueden hacer cálculos similares con la cloramina, que contiene aproximadamente un 25% de cloro disponible. Se cree que las cloraminas son más resistentes a la inactivación por la materia orgánica que otras fuentes de hipoclorito (11).

Los hipocloritos pueden provocar gran corrosión de los metales e irritación de la piel y las mucosas expuestas. Su evitará su uso en metales, a menos que los fabricantes declaren que los metales empleados en sus dispositivos son compatibles con la concentración de hipoclorito utilizada o que la corrosión no sea un problema, por ejemplo, cuando se va a desechar el objeto desinfectado.

Tabla 2.2 Diluciones recomendadas de compuestos que liberan cloro

FUENTE DE HIPOCLORITO (PORCENTAJE DE CLORO DISPONIBLE)	EN CONDICIONES LIMPIAS ^a CLORO DISPONIBLE NECESARIO PARA LA DESINFECCIÓN: 1 g/l – 0,1% (1000 ppm)	EN CONDICIONES SUCIAS ^b CLORO DISPONIBLE NECESARIO PARA LA DESINFECCIÓN: 5 g/l – 0,5% (5000 ppm)
Solución de hipoclorito de sodio (5% de cloro disponible)	20 ml	100 ml
Hipoclorito de calcio (70% de cloro disponible)	1.4 g/l	7.0 g/l
Polvo de dicloroisocianurato	1,7 g/l	8.5 g/l
Polvo de cloramina (25% de cloro disponible)	4 g/l	20 g/l

ppm = partes por millón.

^a Bajos niveles de contaminación.

^b Altos niveles de contaminación.

La frecuencia con que deben cambiarse las soluciones de trabajo de hipoclorito depende de su potencia inicial, de la frecuencia y naturaleza de su uso (cantidad de materia orgánica presente) y de la temperatura ambiente. Como regla general, las soluciones que se utilizan varias veces al día para descontaminar materiales con gran cantidad de materia orgánica deben cambiarse al menos diariamente, mientras que las de uso menos frecuente pueden durar hasta una semana. La idoneidad de las soluciones de hipoclorito puede comprobarse con papel de almidón-yodo para demostrar que no se han inactivado. El papel de almidón-yodo identifica el estado y la potencia relativa del agente oxidante presente en las soluciones.

El hipoclorito es relativamente barato y activo contra la mayoría de las especies, incluidas las esporas y los priones (12, 13). La concentración eficaz y el tiempo de contacto dependen del agente biológico que se vaya a descontaminar; las esporas y los priones necesitan mayores concentraciones. Las soluciones de hipoclorito de sodio suelen estabilizarse en una solución alcalina para prolongar su tiempo de conservación, y ajustarse a un pH de 7 cuando se van a utilizar (14) contra especies resistentes, como las esporas de *Bacillus anthracis* (15).

Otros factores, como la dureza del agua diluyente, la materia inorgánica (por ejemplo, sales) o la presencia de algunos detergentes, también pueden comprometer la eficacia de algunos desinfectantes, como los compuestos de amonio cuaternario.

Dados estos factores, a veces poco controlables, la garantía de la calidad de la desinfección química no suele ser alta, y sólo debe utilizarse cuando no puedan aplicarse mejores medios de descontaminación, como el autoclave.

Muchos desinfectantes químicos pueden ser perjudiciales para las personas o el medio ambiente, y se deben seleccionar, almacenar, manipular, utilizar y eliminar con cuidado, siguiendo las instrucciones de los fabricantes y los requisitos legales y reglamentarios locales.

Al considerar el uso de un desinfectante, las características de sus principios activos predecirán su probable actividad. Si el desinfectante se vende como producto de marca, el usuario debe averiguar cuáles son sus componentes activos, pero a veces esto puede resultar difícil, ya que un mismo nombre de marca puede aplicarse a diferentes productos, cada uno con diferentes componentes o diferentes cantidades de esos componentes. El usuario debe saber exactamente qué está utilizando y asegurarse de que será eficaz para los fines que se hayan determinado en la evaluación del riesgo.

Como se indica en el apartado 2.2.2 «FACTORES QUE AFECTAN A LA EFICACIA DE LOS DESINFECTANTES», las soluciones diluidas de hipoclorito tienen un tiempo de conservación de aproximadamente un día, dependiendo de la exposición al calor y a la luz solar. El hipoclorito es un oxidante inespecífico, y si hay gran cantidad de compuestos orgánicos en la solución que se vaya a desinfectar serán necesarias mayores cantidades de hipoclorito.

El dióxido de cloro (ClO_2) tiene un mecanismo microbicida similar al del hipoclorito, pero es más eficaz, por lo que se puede utilizar a concentraciones más bajas, y

menos corrosivas. Sin embargo, al utilizarse a concentraciones más bajas tiende a ser inactivado por la materia orgánica más fácilmente que las soluciones de hipoclorito.

Las soluciones de dióxido de cloro se hacen mezclando dos componentes inmediatamente antes de su uso. Una vez que los componentes se hayan mezclado en el laboratorio, la solución tiene un tiempo de uso limitado, especificado por el fabricante.

Fenoles

Los fenoles, también llamados compuestos fenólicos, son una clase de compuestos químicos consistentes en un grupo hidroxilo (-OH) unido directamente a un grupo hidrocarburo aromático. El más simple es el fenol (C_6H_5OH), que actúa específicamente sobre la membrana celular, desnatura las proteínas e inactiva las enzimas intracitoplasmáticas mediante la formación de complejos inestables. Estas interacciones producen el escape de elementos bacterianos o la lisis de la membrana celular. Los compuestos fenólicos son más estables que el hipoclorito de sodio, se ven menos afectados por la presencia de grandes concentraciones de materia orgánica en la solución y son eficaces contra las bacterias en su forma vegetativa, en particular las Gram-positivas, y los virus con envoltura. En cambio, no son eficaces contra las esporas ni los virus sin envoltura. Pese a estas ventajas, pueden ser tóxicos, son corrosivos para la piel e irritantes para las vías respiratorias. Debido a estas importantes limitaciones, su uso ha disminuido en los últimos años, aunque todavía pueden encontrarse en algunos productos de limpieza y desinfección domésticos, a menudo combinados con amonios cuaternarios y alcoholes.

Los desinfectantes a base de fenol se siguen utilizando como tuberculicidas para destruir las micobacterias, pues son moléculas lipófilas que son atrapadas eficientemente por los numerosos fosfolípidos presentes en la membrana celular de las micobacterias, que de este modo son eliminadas.

Peróxidos

Los peróxidos son microbicidas muy utilizados por su fuerte actividad oxidante debida a la presencia de radicales hidroxilo muy reactivos. Desnaturalizan las proteínas y los lípidos de los agentes biológicos, provocando la desorganización de la membrana. La célula del agente biológico puede hincharse cuando se satura con iones de hidrógeno, que atraen el agua.

El **peróxido de hidrógeno (H_2O_2)** actúa como oxidante mediante la producción de radicales hidroxilo libres que atacan componentes celulares esenciales, como los lípidos, las proteínas y el ADN. Tiene una amplia actividad bactericida, viricida y fungicida, aunque su actividad es variable contra las esporas bacterianas y las micobacterias. La producción de catalasa por las bacterias puede aumentar la tolerancia al peróxido de hidrógeno si se utilizan concentraciones bajas (16). El peróxido de hidrógeno se considera respetuoso con el medio ambiente porque se degrada rápidamente en productos inocuos (agua y oxígeno), pero es muy irritante para la piel, los ojos y el aparato respiratorio.

El **ácido peracético** ($C_2H_4O_3$) se obtiene mezclando ácido acético con peróxido de hidrógeno y un catalizador ácido fuerte. Es un desinfectante más potente que el peróxido de hidrógeno. Desnaturaliza las proteínas, altera la permeabilidad de la pared celular y oxida los enlaces sulfhidrilo y sulfuro de las proteínas, las enzimas y otros metabolitos.

El resultado es una gran actividad esporicida, bactericida, viricida y fungicida a bajas concentraciones (< 0,3%). El ácido peracético también se descompone en subproductos seguros (ácido acético y oxígeno) y tiene la ventaja añadida de no ser descompuesto por las peroxidasas, a diferencia del peróxido de hidrógeno, y de permanecer activo en presencia de carga orgánica (17). Está disponible en los principales proveedores de productos químicos, por lo que es relativamente barato, y puede diluirse en el lugar donde se vaya a utilizar, pero, al igual que el peróxido de hidrógeno, es muy irritante para la piel, los ojos y el aparato respiratorio.

Aldehídos

El **formaldehído** (CH_2O) está disponible como formalina, una solución estabilizada con alrededor de un 37% de formaldehído, o paraformaldehído, polímero sólido que cuando se calienta reacciona con el aire para formar formaldehído gaseoso. El formaldehído irrita la piel, los ojos, la nariz y la garganta. Cuando la exposición es elevada puede causar algunos tipos de cáncer (18, 19), por lo que algunos países están pensando en restringir su uso. Cuando se emplea en el laboratorio, el personal no debe exponerse al formaldehído ni a sus vapores. Sólo debe utilizarse en procesos específicos que lo requieran, como la fijación de tejidos, pero no en la desinfección en general. No debe utilizarse para limpiar superficies ni equipos, sino sólo para fumigar (véase el apartado 2.3 «DESINFECCIÓN CON GASES»), siempre que el vapor pueda contenerse completamente, inactivarse adecuadamente y eliminarse de forma segura después de la fumigación. Debe utilizarse en condiciones controladas, como salas o armarios sellables, que limiten la exposición de las personas de acuerdo con los requisitos nacionales de seguridad y medio ambiente.

El **glutaraldehído** ($C_5H_8O_2$) se utiliza normalmente en soluciones que se tamponan (activan) hasta alcanzar un pH alcalino justo antes de su uso. Las soluciones son estables antes de la activación, pero después de ella tienen un tiempo de conservación limitado. Las ventajas son su amplio espectro microbicida y su baja corrosividad. El inconveniente es que es tóxico y actúa como sensibilizador químico (la exposición puede provocar reacciones alérgicas). Su uso requiere EPP adecuado para limitar la posible exposición a las formas líquida y gaseosa.

Compuestos de amonio cuaternario

Los compuestos de amonio cuaternario y otros similares, como las triaminas, son una familia variada de moléculas que actúan gracias a que son tensioactivas y alteran la estructura de los agentes biológicos; algunas de ellas pueden utilizarse como desinfectantes. Los compuestos de amonio cuaternario son más estables que los hipocloritos, menos irritantes para las vías respiratorias y menos tóxicos que los compuestos fenólicos, pero se ven afectados por altos niveles de materia orgánica y todo lo que tenga una gran superficie que pueda captar el desinfectante, como las telas.

Son activos contra las bacterias en formas no esporuladas y los virus con envoltura (por su componente lipídico). Son eficaces contra una gama más reducida de agentes biológicos que los hipocloritos o los compuestos fenólicos, y tienen una eficacia limitada contra los virus sin envoltura, la mayoría de las especies de micobacterias y las esporas. En cambio, pueden ser el mejor desinfectante para soluciones que contengan principalmente virus con envoltura.

No son corrosivos, pero son más caros que el hipoclorito de sodio. Si se considera la posibilidad de utilizarlos en el laboratorio, al evaluar los riesgos hay que tener en cuenta tanto la potencial inactivación como la gama de agentes biológicos contra los que es de esperar que actúen.

Alcoholes

Los alcoholes utilizados para la desinfección en el laboratorio son el etanol (normalmente desnaturalizado por la adición de alcohol metílico, que lo hace no apto para el consumo), el propanol (propan-1-ol) y el isopropanol (propan-2-ol). Suelen utilizarse a una concentración del 70%, aunque, dependiendo del alcohol empleado, pueden ser eficaces a concentraciones del 60% al 90% (20). La actividad de los tres alcoholes es muy similar. Son eficaces contra una amplia gama de bacterias no esporuladas y virus con envoltura, pero tienen una actividad variable contra los virus sin envoltura y nula contra las esporas bacterianas. Aunque no son inactivados por la materia orgánica, su actividad es poco fiable en presencia de proteínas, a las que pueden coagular, formando así una barrera que impide su posterior penetración en las capas interiores. Los alcoholes se evaporan rápidamente, por lo que son prácticos para desinfectar superficies, pero esa rápida evaporación también reduce el tiempo de exposición y, por tanto, la eficacia.

2.2.2 Factores que afectan a la eficacia de los desinfectantes

Hay muchos factores que pueden afectar a la eficacia de la desinfección química y deben ser tenidos en cuenta en la evaluación del riesgo para seleccionar el mejor proceso de descontaminación. Los más importantes se muestran en la tabla 2.3.

Otros factores, como la dureza del agua diluyente, la materia inorgánica (por ejemplo, sales) o la presencia de algunos detergentes, también pueden comprometer la eficacia de algunos desinfectantes, como los compuestos de amonio cuaternario.

Dados estos factores, a veces poco controlables, la garantía de la calidad de la desinfección química no suele ser alta, y sólo debe utilizarse cuando no puedan aplicarse mejores medios de descontaminación, como el autoclave.

Muchos desinfectantes químicos pueden ser perjudiciales para las personas o el medio ambiente, y se deben seleccionar, almacenar, manipular, utilizar y eliminar con cuidado, siguiendo las instrucciones de los fabricantes y los requisitos legales y reglamentarios locales.

Al considerar el uso de un desinfectante, las características de sus principios activos predecirán su probable actividad. Si el desinfectante se vende como producto de marca, el usuario debe averiguar cuáles son sus componentes activos, pero a veces esto puede resultar difícil, ya que un mismo nombre de marca puede aplicarse a diferentes productos, cada uno con diferentes componentes o diferentes cantidades de esos componentes. El usuario debe saber exactamente qué está utilizando y asegurarse de que será eficaz para los fines que se hayan determinado en la evaluación del riesgo.

Tabla 2.3 Factores que pueden afectar a la eficacia de la desinfección química

FACTOR	MOTIVO
Concentración	Como ilustra el caso del hipoclorito de sodio, la cantidad de compuesto activo disponible en un desinfectante es fundamental: si hay demasiado poco no se consigue la descontaminación.
Materia orgánica	Los desinfectantes reaccionan con la materia orgánica tanto viva como no viva. La materia orgánica presente puede inactivar el desinfectante antes de que se hayan eliminado todos los agentes biológicos viables. La materia orgánica sólida también puede inhibir la penetración del desinfectante, de modo que no alcance su diana. A menudo se definen materiales orgánicos específicos en los métodos estándar para indicar situaciones «limpias» (bajo nivel de contaminación) y «sucias» (alto nivel de contaminación).
pH	Muchos agentes químicos utilizados en la descontaminación sólo son activos dentro de un determinado intervalo de pH, y hay que tener en cuenta la información del fabricante para mantener el desinfectante dentro de ese intervalo.
Tiempo de contacto	La desinfección química no es inmediata. Por lo general, cuanto más tiempo esté el desinfectante en contacto con los agentes biológicos contaminantes, mayor será la descontaminación microbiana. Una vez que el desinfectante se seca, sus moléculas ya no pueden migrar hacia sus dianas. La evaporación rápida de un desinfectante aplicado a una superficie puede comprometer la eficacia de la desinfección. Los tiempos de contacto utilizados en condiciones de prueba deben reflejar los utilizados en la práctica.
Contacto	El desinfectante no puede ser totalmente eficaz si los objetos que se pretenda desinfectar flotan en su superficie, si hay burbujas de aire (por ejemplo, en tubos huecos) que impiden el contacto del desinfectante con su diana o si la aplicación del desinfectante a una superficie no la cubre completamente.
Gama de actividad microbicida	No todos los desinfectantes descontaminan todos los agentes biológicos. Las bacterias en fase vegetativa, los hongos y sus esporas, los virus con envoltura y los protozoos no enquistados tienden a ser sensibles a una amplia gama de desinfectantes. Las micobacterias, los virus no envueltos y los protozoos enquistados son menos sensibles. Las esporas bacterianas son resistentes a algunos desinfectantes y tienen una sensibilidad variable a otros.
Temperatura	En general, a mayor temperatura, mayor eficacia de los desinfectantes, y a menor temperatura, menor eficacia. Esto puede ser importante en el laboratorio cuando hay que desinfectar frigoríficos o cámaras frigoríficas, o cuando también se utiliza un tratamiento térmico, como en las lavadoras desinfectantes empleadas en algunos laboratorios.
Tiempo de conservación y estabilidad	Los compuestos químicos pueden degradarse con el tiempo, lo que reduce la eficacia del producto descontaminante. La degradación suele acelerarse cuando el producto se expone al aire o se diluye. Normalmente, las soluciones de hipoclorito de sodio diluidas se vuelven rápidamente ineficaces y se debe trabajar con diluciones recién preparadas para conseguir el efecto deseado.

2.3 Desinfección con gases

En situaciones poco frecuentes —sobre todo en laboratorios con medidas de máxima contención— la evaluación del riesgo determina que para descontaminar el espacio, el mobiliario o los equipos del laboratorio son necesarios desinfectantes gaseosos, también llamados fumigantes (figura 2.4).

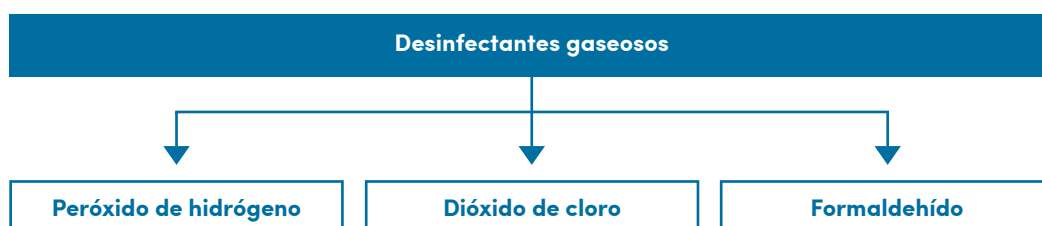


Figura 2.4 Tipos de desinfectantes gaseosos

Los desinfectantes gaseosos pueden ser necesarios en situaciones en las que haya una contaminación generalizada en zonas de difícil acceso del laboratorio o en las que sea necesario sacar los equipos de una zona contaminada o desinfectarlos antes de proceder a su mantenimiento. Las salas y equipos pueden descontaminarse mediante fumigación con formaldehído gaseoso generado calentado paraformaldehído o hirviendo soluciones de formalina.

La fumigación es un proceso peligroso que requiere personal especialmente capacitado y debe ser el último recurso cuando tras la evaluación del riesgo se concluya que la desinfección de superficies es poco práctica o ineficiente. Lo ideal es que se puedan sellar las salas que vayan a ser fumigadas, pero, como mínimo, antes de que se genere el formaldehído gaseoso hay que sellar con cinta impermeable a gases todas sus aberturas (ventanas y puertas). La fumigación debe realizarse con una temperatura ambiente de al menos 20 °C y una humedad relativa superior al 70%.

Cualquiera que sea el método de fumigación, hay que ventilar adecuadamente la zona fumigada antes de que se permita la entrada del personal. En la mayoría de los casos, los límites aceptados/medidos de exposición a los desinfectantes gaseosos en el lugar de trabajo son bajos. Por consiguiente, en situaciones de emergencia, cualquier persona que entre en una sala fumigada antes de que se haya ventilado debe llevar un equipo de protección respiratoria adecuado, probado y con el filtro ajustado correctamente. Para más información sobre los equipos de protección respiratoria, véase la monografía *Equipos de protección personal (5)*.

Siempre que sea posible, después de un período de aireación de la sala se utilizará un monitor manual o fijo calibrado para comprobar los niveles del fumigante antes de volver a entrar en la sala. Antes de ventilar, las fumigaciones con formaldehído pueden neutralizarse con amoníaco, generalmente procedente de la sublimación de bicarbonato de amonio, aunque esto no garantiza la eliminación completa del fumigante ni anula la necesidad de usar equipo de protección respiratoria cuando se vuelva a entrar en una sala que no esté totalmente aireada; todavía puede haber en el

aire sustancias químicas tóxicas residuales. Después de la fumigación con formaldehído puede ser necesario limpiar con amoníaco las paredes y el techo de la sala para neutralizar cualquier resto de paraformaldehído.

También existen sistemas comerciales de fumigación que utilizan peróxido de hidrógeno o dióxido de cloro y tienen varias ventajas sobre el formaldehído en términos de seguridad, protección del medio ambiente, posibilidad de controlar el proceso de fumigación y rapidez, aunque son más caros. Hay extensa información sobre el uso y la eficacia de esos sistemas en la literatura científica.

2.3.1 Descontaminación de CSB con gases

La descontaminación de las CSB con gases puede ser necesaria en ocasiones, como cuando hay que proceder a su mantenimiento (21). Esas ocasiones se especificarán en las evaluaciones del riesgo, y no se procederá a la descontaminación con gases de forma regular. Para descontaminar las CSB existen equipos que generan y hacen circular de forma independiente formaldehído gaseoso o vapores de peróxido de hidrógeno. Estos procedimientos sólo deben ser llevados a cabo por personal debidamente capacitado. No se utilizará la descontaminación con gases en CSB cuyo aire vuelva a circular en el laboratorio. La descontaminación más habitual de las CSB se hará limpiando las superficies con desinfectantes de superficie validados.

2.4 Desinfección por calor

El calor es el método físico más utilizado en la descontaminación de agentes biológicos. Se puede utilizar calor seco o húmedo (figura 2.5). El contacto de los agentes biológicos con el agua es esencial para la esterilización por vapor; es decir, el vapor debe llegar a todas las superficies o materiales que haya que esterilizar o desinfectar. La mayor eficacia del calor húmedo se consigue con el autoclave, aunque para artículos y cargas pequeñas también se pueden utilizar ollas de presión. El tratamiento de objetos ya limpios en un autoclave bien mantenido, con un ciclo programable validado y puertas interconectadas es el método de referencia para desinfectar desechos sólidos. El hervor no elimina necesariamente todos los agentes biológicos, pero puede utilizarse como proceso mínimo de desinfección

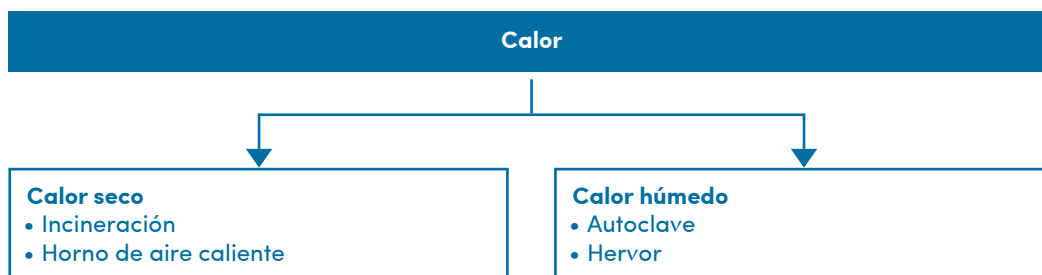


Figura 2.5 Métodos de desinfección por calor

cuando no sean aplicables o no estén disponibles otros métodos (desinfección o descontaminación química y autoclave).

La esterilización también se puede lograr con calor seco, pero se necesitan temperaturas mucho más altas y períodos más largos. Por ejemplo, el calor seco en un horno de aire caliente no produce ninguna corrosión y puede utilizarse para procesar muchos objetos que resistan temperaturas de 160 °C o más durante 2-4 horas. La quema o incineración (véase el apartado 2.4.2 «INCINERACIÓN») es otra forma de calor seco.

2.4.1 Autoclave

El vapor saturado a presión (autoclave) es el medio más eficaz y fiable para descontaminar o esterilizar materiales y desechos de laboratorio porque, una vez colocados en el autoclave, los objetos tratados no se pueden retirar hasta que el sistema haya completado el ciclo y la presión y la temperatura dentro de la cámara hayan vuelto a niveles seguros.

Los autoclaves tienen que ser capaces de procesar una amplia gama de materiales y diferentes tipos de cargas (por ejemplo, cargas porosas, líquidos, materiales envueltos) que generalmente requieren diferentes ciclos de funcionamiento. Hay ciclos diferentes para materiales sólidos y líquidos. En el proceso de evaluación del riesgo, el autoclave se seleccionará en función de criterios definidos por el usuario, tales como el uso previsto y el tipo y la cantidad de desechos.

Para que la descontaminación por vapor sea eficaz es imprescindible que se elimine todo el aire atrapado en el interior del material que se vaya a tratar y que se proporcionen el tiempo suficiente para la descontaminación y los medios adecuados para la penetración del vapor. Si se cumplen estas condiciones, el autoclave es un medio de descontaminación muy fiable. El aire se puede eliminar de forma pasiva o activa.

Pasiva: El vapor se produce en el interior del autoclave, en el fondo de la cámara, o entra por la parte superior de esta, forzando la salida del aire. Este método es el más sencillo y barato, pero sólo es adecuado para cargas en las que la eliminación del aire no se vea impedida por telas u objetos de vidrio.

Activa: La cámara es sometida a sucesivos cambios de presión para extraer el aire que contiene. Este método es necesario con cargas como telas, objetos de vidrio y otros equipos en los que el aire atrapado no pueda eliminarse de forma fiable con métodos pasivos. Cuanto más difícil sea eliminar el aire, más pulsos serán necesarios. Este método es el preferido para descontaminar desechos de laboratorio.

En la tabla 2.4 se describen los distintos tipos de autoclave.

Ciclos de autoclave

Para descontaminar agentes biológicos, el autoclave depende de dos factores (tiempo y temperatura/presión) que pueden ser manipulados en diferentes ciclos para esterilizar diferentes tipos de carga, como bolsas, jaulas y camas de animales, y otros materiales. Los requisitos del ciclo pueden variar sustancialmente dependiendo del tipo de carga.

Como principio general, los materiales deben estar sueltos en la cámara para facilitar la penetración del vapor y la eliminación del aire. Las bolsas o envases deben estar suficientemente abiertos para que el vapor llegue a su contenido. Para validar el proceso de autoclave y garantizar la descontaminación efectiva de los agentes biológicos se utilizan indicadores biológicos o químicos (véase el apartado 2.6 «INDICADORES BIOLÓGICOS Y QUÍMICOS»).

Tabla 2.4 Tipos de autoclave

TIPO DE AUTOCLAVE	CARACTERÍSTICAS
De desplazamiento por gravedad	Tienen en el fondo de la cámara un elemento calefactor que está total o parcialmente sumergido en agua. A medida que se calienta, el agua se va evaporando y el vapor comprime el aire de la cámara. Como el vapor es más ligero que el aire, a medida que la cámara se llena de vapor la mayor parte del aire es empujada hacia el fondo y se escapa a través de un orificio conectado a un diafragma termosensible que se cierra una vez que se ha calentado lo suficiente. Cerrado el diafragma, aumenta la presión dentro de la cámara.
De desplazamiento por presión positiva	El vapor se crea en una unidad interna separada, llamada generador de vapor. Una vez que se produce la cantidad de vapor necesaria para desplazar el aire de la cámara se abre una válvula y entra en la cámara una ráfaga de vapor a presión. Con este sistema se consigue eliminar un mayor porcentaje de aire de la cámara que con los autoclaves de desplazamiento por gravedad, por lo que se acorta el ciclo.
De olla a presión calentados por combustible De desplazamiento ascendente (olla a presión)	Sólo deben utilizarse si no se dispone de un autoclave de desplazamiento por gravedad o asistido por vacío. Se cargan por la parte superior y se calientan con electricidad, gas u otro tipo de energía. El vapor se genera calentando agua en la base del recipiente y el aire se desplaza hacia arriba a través de un respiradero. Cuando se ha eliminado todo el aire, se cierra la válvula del respiradero y se reduce el calor. La presión y la temperatura aumentan hasta que la válvula de seguridad se activa a un nivel preestablecido, y ahí comienza el tiempo de espera. Al final del ciclo se apaga la fuente de calor y se deja que la temperatura descienda a 80 °C o menos antes de abrir la tapa.
De prevacío De desplazamiento por presión negativa o por vacío	Tienen un generador interno de vapor independiente y una bomba de vacío. Después de cerrar la cámara, la bomba de vacío elimina todo el aire que había dentro y se inyecta vapor. Estos autoclaves proporcionan uno de los mayores niveles de esterilización siempre que se elimine el aire y que el vapor entre en todas las partes de la carga, incluidos los objetos huecos y metidos en bolsas. Las bolsas deben tener en un extremo una abertura que no esté bien atada para permitir la eliminación del aire y la entrada del vapor. El aire se elimina a través de una válvula que, dependiendo de la evaluación del riesgo, puede estar equipada con un filtro HEPA.

HEPA = filtro de partículas aéreas de gran eficiencia

Después de una evaluación exhaustiva del riesgo y de la validación, los siguientes ciclos suelen lograr la esterilización en autoclaves cargados correctamente:

- 3 minutos a 134 °C.
- 10 minutos a 126 °C.
- 15 min a 121 °C.
- 25 min a 115 °C.

Precauciones de seguridad

Cuando se utilizan autoclaves de vapor hay que tomar las siguientes precauciones generales de seguridad:

- Que su funcionamiento y mantenimiento esté a cargo de personal capacitado y competente.
- Que haya instrucciones de funcionamiento del autoclave y estén definidos los programas de esterilización por área de aplicación (por ejemplo, sólidos o líquidos) y las condiciones de los parámetros que deben mantenerse (temperatura, presión, tiempo).
- Que haya un plan de carga con información sobre el contenido, número, volumen y masa de los objetos o materiales que se vayan a esterilizar.
- Que haya un programa de mantenimiento con inspecciones visuales periódicas de la cámara, las juntas de las puertas, los indicadores y los controles, realizadas por personal cualificado.
- Que haya un proceso de verificación regular que garantice que el autoclave funciona tal como fue diseñado, lo que incluye el uso regular de indicadores biológicos y, para autoclaves de prevacío, pruebas de Bowie-Dick y fuga de vacío que confirmen la correcta eliminación del aire (véase el apartado 2.6.2 «INDICADORES QUÍMICOS»).
- Que se utilice una fuente de vapor fiable que proporcione un vapor limpio y suficientemente saturado para que los materiales queden esterilizados, y libre de productos químicos que puedan alterar el funcionamiento del autoclave o dañar las tuberías o la cámara.
- Que los materiales introducidos en el autoclave estén en envases que permitan que el aire se elimine fácilmente y el vapor penetre bien.
- Que la carga de la cámara esté suelta para que el vapor pueda penetrar uniformemente.

- Que nunca se traten en el autoclave productos químicos peligrosos (por ejemplo, lejía, mercurio o material radiactivo).
- Que los operadores usen EPP apropiado, en particular guantes que proporcionen protección térmica, ropa protectora y protección ocular y facial cuando abran la puerta del autoclave, incluso cuando la temperatura haya bajado a niveles que se consideren seguros para abrirla.
- Que se compruebe que las válvulas de los respiraderos y los drenajes no se obstruyan con papeles, plásticos u otros materiales presentes en los desechos o materiales que se quieran descontaminar.

2.4.2 Incineración

La incineración es útil para eliminar cadáveres de animales, desechos anatómicos y otros desechos de laboratorio, con o sin descontaminación previa. La incineración de materiales infecciosos sólo es una alternativa al autoclave si el transporte de los desechos a la incineradora se realiza de manera controlada por personal capacitado en envases adecuados y si se dispone de un PON sobre cómo cargar los envases. Hay incineradoras portátiles para emergencias e instalaciones temporales. Se respetará toda la legislación nacional y medioambiental sobre incineración.

Una incineración eficaz requiere un medio eficiente de control de la temperatura y una forma de garantizar la total combustión de todos los materiales inflamables. Muchas incineradoras y otros métodos para quemar desechos, especialmente los que sólo tienen una cámara de combustión, pueden no ser adecuadas para tratar materiales infecciosos, cadáveres de animales y plásticos. Es posible que estos materiales no se destruyan por completo y las emisiones de la chimenea contaminen la atmósfera con agentes biológicos, productos químicos tóxicos y humos (22). En el caso de las incineradoras con cámaras secundarias, la temperatura debe ser, como mínimo, de 800 °C en la cámara primaria y 1000 °C en la secundaria.

Aunque ya hayan sido descontaminados, los materiales destinados a la incineración se transportarán a la incineradora en envases a prueba de fugas. El personal de la incineradora debe recibir instrucciones adecuadas sobre la carga, la manipulación de los materiales y el control de la temperatura. También hay que tener en cuenta que el funcionamiento eficiente de las incineradoras depende en gran medida del tipo de materiales (por ejemplo, materia orgánica, plástico y papel o cartón) de los desechos incinerados. Si los desechos se transportan en envases reutilizables, también hay que tener en cuenta la descontaminación de estos.

Los efectos negativos que las incineradoras puedan tener sobre el medio ambiente son motivo de preocupación constante, y se siguen realizando esfuerzos para que sean más respetuosas con el medio ambiente y más eficientes energéticamente.

Fosas de combustión y hornos

Las fosas de combustión son una forma tradicional de quemar a cielo abierto en una depresión poco profunda sellada con arcilla, cemento u hormigón; los artículos incinerados se queman completamente hasta convertirlos en cenizas. Los hornos funcionan de forma similar y pueden ser un medio eficaz para quemar diversos tipos de desechos. Estos métodos pueden exponer a los operarios de las fosas a productos de combustión nocivos y a temperaturas extremadamente altas.

Eliminación de los productos de la incineración (cenizas)

En el proceso de incineración se pueden concentrar sustancias químicas potencialmente peligrosas (por ejemplo, metales tóxicos y fosfatos de los cadáveres), y las cenizas de la incineración deben eliminarse de acuerdo con la normativa nacional o local. Los desechos pasados por autoclave pueden eliminarse en vertederos autorizados o incinerándolos fuera de las instalaciones.

2.5 Esterilización

La esterilización se utiliza cuando es necesario eliminar completamente cualquier agente biológico, incluidas las esporas y los priones; por ejemplo, en el caso de los artículos y desechos médicos, si la evaluación del riesgo indica que son necesarios procedimientos de descontaminación muy estrictos.

La esterilización puede lograrse con varios métodos de descontaminación, como el autoclave, ciertos desinfectantes químicos y gaseosos acompañados de un PON estricto, o la irradiación. Para garantizar la descontaminación más eficaz, tan importante es el método seleccionado como la validación y el cumplimiento del PON. Para comprobar la eficacia del proceso de esterilización se utilizan indicadores biológicos (tabla 2.5).

2.6 Indicadores biológicos y químicos

Los indicadores se utilizan de forma habitual para comprobar o controlar la eficacia de los procesos de descontaminación (limpieza, desinfección o esterilización), y pueden ser químicos o biológicos, y a veces mecánicos/físicos.

2.6.1 Indicadores biológicos

Los indicadores biológicos consisten en una población estandarizada de microorganismos que tienen una resistencia definida a un determinado proceso de esterilización (tabla 2.5). Como organismos de prueba se utilizan frecuentemente endosporas bacterianas no patógenas, ya que son muy resistentes a los procesos de esterilización y fáciles de detectar cuando se cultivan. Si no son descontaminadas por el proceso de esterilización, las esporas germinarán, crecerán y acabarán liberando

ácido dipicolínico, detectable por un colorante indicador de pH presente en el medio de cultivo. Con períodos de incubación más largos, la turbidez del medio también indicará el crecimiento bacteriano. Distintas especies formadoras de endosporas presentarán diferentes patrones de resistencia a los procesos habituales de esterilización. *Geobacillus stearothermophilus* se utiliza para comprobar la eficacia de la fumigación o el autoclave, mientras que para verificar la eficacia del calor seco o la irradiación se prefieren *B. subtilis*, *B. atrophaeus* y *B. pumilus* (tabla 2.5).

Tabla 2.5 Procesos de esterilización e indicadores biológicos adecuados

PROCESO DE ESTERILIZACIÓN	INDICADOR BIOLÓGICO
Formaldehído	<i>Geobacillus stearothermophilus</i>
Peróxido de hidrógeno	<i>G. stearothermophilus</i>
Calor húmedo	<i>G. stearothermophilus</i>
Calor seco	<i>Bacillus atrophaeus</i> , <i>B. subtilis</i>
Radiación ionizante	<i>B. pumilus</i>

2.6.2 Indicadores químicos

Los indicadores químicos son muy utilizados porque dan resultados instantáneos. Comprueban parámetros directos específicos que son esenciales para la desinfección o esterilización, tales como la verificación de que se ha utilizado la concentración mínima del desinfectante o se han alcanzado determinadas condiciones en el autoclave. Los indicadores químicos también comprueban variables indirectas que son importantes para la eficacia del proceso; por ejemplo, la prueba de Bowie–Dick confirma la correcta eliminación del aire en autoclaves de prevacío.

Hay seis clases de indicadores químicos (tabla 2.6). Dependiendo de los parámetros que haya que comprobar (por ejemplo, la exposición, la eficacia del autoclave, los envases o el ciclo), pueden seleccionarse uno o varios indicadores para obtener información sobre el proceso de descontaminación.

Tabla 2.6 Las seis clases de indicadores químicos para los procesos de descontaminación

	TIPO 1	TIPO 2	TIPO 3	TIPO 4	TIPO 5	TIPO 6
Tipo de indicador	De proceso	«Especiales», para uso en pruebas específicas	De una variable	De múltiples variables	Integradores	Emuladores
Qué indica	Exposición del objeto que se vaya a esterilizar a las condiciones mínimas del proceso: diferencian los objetos expuestos de los no expuestos	Ejecución de un proceso específico vinculado al proceso de esterilización, como la eliminación del aire de un esterilizador de vapor de prevacío	Cambios en la exposición a un parámetro, como la temperatura, el tiempo o la concentración de un biocida	Cambios en la exposición a un mínimo de dos parámetros, como el tiempo y la temperatura en la esterilización por vapor o el tiempo y la concentración en la esterilización por óxido de etileno	Cambios en la exposición a todos los parámetros críticos de un determinado proceso	Específicos para ciclos de esterilización concretos La respuesta de estos indicadores de tipo seis no se correlaciona necesariamente con indicadores biológicos
Uso	Control de la exposición	Eficacia del esterilizador	Control de los envases Control de la exposición	Control de los envases	Control de los envases Supervisión del ciclo	Control de los envases
Ejemplo	Cinta de autoclave	Prueba de Bowie-Dick, por ejemplo, prueba Dart® diaria de extracción de aire	Tubo con <i>pellet</i> químico que se funde a una determinada temperatura	Tiras de papel con un indicador químico		

Existen indicadores específicos para controlar las variaciones de presión y la exposición a desinfectantes químicos (formaldehído, peróxido de hidrógeno y dióxido de cloro) o al calor (vapor y calor seco).

GESTIÓN Y DESCONTAMINACIÓN DE DESECHOS

3.1 Consideraciones sobre la gestión de desechos

Durante las actividades de laboratorio se generan diferentes materiales y líquidos contaminados (tabla 3.1). Algunos de esos materiales, como objetos de vidrio, equipos, dispositivos o ropa de laboratorio, pueden reutilizarse o reciclarse, pero gran parte de ellos se eliminarán como desechos. El principio fundamental es que todos los materiales o líquidos contaminados que salgan del laboratorio deben ser tratados *in situ* para permitir su posterior manipulación sin riesgos, o ser embalados y transportados de forma segura a otro lugar de tratamiento. La descontaminación puede hacerse con medios químicos, autoclave o incineración, pero tanto el método como el protocolo deben basarse en una evaluación del riesgo y estar debidamente validados.

La descontaminación y la eliminación final están estrechamente relacionadas. Los procedimientos de descontaminación y la gestión de los desechos forman parte de la evaluación del riesgo. En la monografía *Evaluación del riesgo* (2) se proporciona información más detallada y las plantillas pertinentes.

Tabla 3.1 Ejemplos de desechos generados en los laboratorios

OBJETOS PUNZOCORTANTES	DESECHOS CONTAMINADOS	DESECHOS QUÍMICOS	DESECHOS NO PELIGROSOS O GENERALES
Agujas, vidrios rotos, placas de Petri, portaobjetos y cubreobjetos, pipetas rotas, jeringas, bisturíes	Sangre y líquidos corporales, cultivos, tejidos, cadáveres de animales infectados, tubos y envases contaminados con sangre o líquidos corporales, efluentes	Fijadores; formaldehído, xileno, tolueno, metanol, cloruro de metileno y otros disolventes; termómetros de laboratorio rotos	Embalajes, papeles y envases de plástico no contaminados

Al realizar una evaluación del riesgo en relación con la gestión de desechos es necesario tener en cuenta los siguientes aspectos:

- Instalaciones y métodos de descontaminación disponibles.
- Tipo y volumen de los desechos (objetos, materiales, líquidos).
- Método de descontaminación.
- Categorías de separación (no contaminados, contaminados, objetos punzocortantes, vidrio).
- Embalaje, etiquetado y transporte.
- Presencia de material radiactivo.
- Presencia de productos químicos.
- Requisitos de reciclaje y reutilización.

Todo el personal que manipule materiales contaminados debe recibir una formación especial y utilizar EPP adecuado.

3.1.1 Desechos contaminados tratados *in situ*: separación y almacenamiento

Los materiales contaminados y descontaminados, incluidos los desechos, deben distinguirse claramente, etiquetarse con sistemas de codificación por colores o con el símbolo de peligro biológico, y almacenarse o eliminarse por separado unos de otros.

Para la separación y almacenamiento hay que tener en cuenta los siguientes aspectos:

- Naturaleza de los desechos, por ejemplo, líquidos, sólidos, desechos generales, infecciosos o químicos, objetos punzocortantes (contaminados o no) y perecederos.
- Volumen de los desechos que se vayan a procesar.
- Lugar donde se realiza la descontaminación de los desechos (por ejemplo, en el propio laboratorio, en el mismo centro o fuera de él).
- Necesidad de almacenar los desechos antes del proceso de descontaminación.
- Clase y tipo de embalaje para almacenar los desechos (por ejemplo, bolsas, cajas, latas, cubos; a prueba de líquidos, a prueba de pinchazos, resistentes al calor, resistentes a los productos químicos, herméticos).

- Uso de un sistema de identificación coherente:
 - Códigos de colores para las distintas categorías de desechos.
 - Etiquetas informativas inequívocas.
 - Símbolos de peligro adecuados (por ejemplo, peligro biológico, radiactivo, inflamable).
- Restricciones para el traslado del material dentro del centro y para su transporte fuera del mismo.
- Acceso a una zona restringida de almacenamiento antes del transporte fuera del centro.
- Duración y condiciones de almacenamiento (por ejemplo, a corto o largo plazo, control de la temperatura y requisitos de ventilación).
- Posibilidades de limpieza y desinfección regular de la zona de almacenamiento.

Las bolsas de basuras biopeligrosas que salgan del laboratorio deben transportarse y almacenarse de forma segura, utilizando un envase secundario, un carro o cualquier otro medio que evite la contaminación del suelo y las paredes del lugar de almacenamiento. Los métodos de embalaje adecuados garantizan la seguridad de todo el personal, desde el personal del laboratorio hasta el del lugar de descontaminación, aunque se produzcan daños durante el transporte. Por ejemplo, los objetos punzocortantes deben recogerse en envases impermeables, a prueba de pinchazos y que sean difíciles de abrir una vez cerrados. Es esencial disponer de un botiquín de primeros auxilios al que se pueda acceder fácilmente. Dependiendo de la temperatura y del tiempo de almacenamiento de los desechos, puede ser necesario enfriarlos antes de tratarlos o eliminarlos.

Tras el proceso de descontaminación, debe quedar claramente visible para todo el personal que manipule los desechos que los objetos (por ejemplo, cubos, bolsas, envases) descontaminados ya no representan un riesgo de infección. Por ejemplo, el símbolo de peligro biológico debe estar tachado, eliminado u oculto (las bolsas que hayan pasado por el autoclave pueden introducirse en una segunda bolsa no transparente). Los desechos descontaminados suelen considerarse desechos municipales y se transportan y eliminan como tales, pero los objetos punzocortantes y otros desechos especiales (químicos, radiactivos) deben eliminarse como tales en los correspondientes envases.

3.1.2 Manipulación y transporte de desechos contaminados tratados fuera del centro

Muchos laboratorios no pueden descontaminar los desechos infecciosos que producen, por lo que estos deben ser recogidos y transportados a instalaciones externas para su tratamiento y eliminación final. El tratamiento externo también

puede ser necesario cuando se acumulan cantidades inusuales de desechos contaminados (por ejemplo, después de una avería técnica importante de los sistemas de descontaminación *in situ* o de un brote de enfermedad) o cuando se descubre una fuente inesperada de contaminación y es necesario descontaminar el material antes de su eliminación final.

Lo ideal es que los desechos se embalen en envases certificados por las Naciones Unidas y sean transportados por un contratista autorizado. Como parte del proceso de evaluación del riesgo, se comprobará que el contratista cumple la normativa y las directrices vigentes. Quienes transporten desechos contaminados deben disponer de la siguiente información:

- Clases y tipos de desechos.
- Productor de los desechos (por ejemplo, la institución o laboratorio).
- Fecha de recogida.
- Destino.
- Nombre y permiso del conductor.
- Número de envases y volumen estimado.
- Recibo de carga emitido por una persona autorizada en la zona de recogida.

Cuando vayan a descontaminarse fuera del centro, los desechos deben envasarse, etiquetarse y transportarse de acuerdo con la normativa nacional e internacional. Véanse en el apartado 3.1.4 «CONSIDERACIONES LEGISLATIVAS, REGLAMENTARIAS Y NORMATIVAS» orientaciones adicionales sobre las regulaciones aplicables. Los envases que contengan desechos sólidos deben resistir caídas de una altura mínima de un metro sin romperse. Lo ideal es que los líquidos se guarden en envases pequeños (de hasta 10 l) porque así se reduce el volumen esparcido en caso de fuga, y porque los envases pequeños son mucho más fáciles de manejar. Deben utilizarse envases secundarios de retención de líquidos (bandejas, tanques o bidones grandes). El vehículo debe estar equipado para transportar los desechos en envases cerrados o cubiertos que estén bien sujetos. Los conductores serán instruidos sobre el procedimiento a seguir en caso de accidente o incidente durante el transporte en la vía pública. En el vehículo debe haber un kit para derrames que contenga materiales absorbentes, un desinfectante eficaz, guantes reutilizables de gran resistencia, mascarilla, delantal, gafas y envases de eliminación de desechos a prueba de fugas.

3.1.3 Documentación para la gestión de desechos

Para garantizar un buen control de la gestión de los desechos es importante llevar un registro claro de los desechos almacenados, sus métodos de tratamiento y las fechas de eliminación. Debe reunirse la siguiente documentación:

- Lista del personal autorizado a manipular los desechos y registros de su formación.
- PON sobre la manipulación de los desechos (incluidos el transporte interno, el almacenamiento a corto plazo y la descontaminación).
- Registros de validación de la descontaminación.
- Registros de transporte externo y eliminación final.
- Base de datos (en papel o electrónica) de las hojas de datos de seguridad de los materiales pertinentes.
- Planes de contingencia, en particular sobre los procedimientos de emergencia para gestionar derrames.

En caso de emergencia hay que disponer de la siguiente información:

- ¿QUÉ se elimina (por ejemplo, puntas de pipetas, frascos, productos químicos, animales)?
- ¿QUÉ necesidades especiales hay que tener en cuenta?
- ¿DÓNDE y CÓMO se almacenan los distintos desechos (por ejemplo, a temperatura ambiente)?
- ¿QUIÉN elimina los desechos y quién forma al personal?
- ¿CUÁNDO se imparte la formación (por ejemplo, con qué frecuencia: continua, a petición propia)?
- ¿Quién es el responsable en caso de emergencia?

En la descontaminación de los desechos fuera del centro se utilizan los mismos métodos químicos y físicos descritos en el apartado anterior. El rigor de las condiciones debe basarse en la evaluación del riesgo, pero el objetivo final es la descontaminación, no estrictamente la esterilización. Se utilizan métodos diferentes para desechos líquidos y sólidos (véanse los apartados 3.2 «DESCONTAMINACIÓN DE DESECHOS LÍQUIDOS» y 3.3 «DESCONTAMINACIÓN DE DESECHOS SÓLIDOS»).

3.1.4 Consideraciones legislativas, reglamentarias y normativas

La descontaminación de los desechos biológicos peligrosos que contienen agentes biológicos patógenos generados dentro de un laboratorio puede hacerse en el mismo laboratorio (por ejemplo, tratamiento de cultivos bacterianos con lejía o autoclave), en un área de descontaminación designada para ello fuera del laboratorio (por ejemplo, que las instalaciones del centro dispongan de una zona de autoclave centralizada) o fuera del centro mediante un servicio de gestión o eliminación de desechos biológicos peligrosos (por ejemplo, incineración o esterilización por vapor)

prestado por terceros. Es responsabilidad de la persona o del laboratorio que produce los desechos asegurarse de que se descontaminan de forma segura y eficaz antes de que sean liberados o retirados del laboratorio, o de que se transportan de forma segura para su descontaminación fuera del centro.

Los desechos biológicos peligrosos y la sangre y los líquidos corporales humanos ya no se consideran biológicamente peligrosos una vez que se han descontaminado eficazmente. Sin embargo, pueden seguir considerándose peligrosos si contienen otros peligros que no sean los agentes biológicos, como productos químicos, objetos punzocortantes o material radiactivo. Hay normas internacionales (por ejemplo, la norma ISO 23907-1 sobre protección contra lesiones causadas por objetos punzocortantes) que se aplican a los desechos punzocortantes y que deben reflejarse en el programa de gestión de desechos (por ejemplo, los procedimientos de separación de los distintos materiales). Además, aunque los desechos anatómicos humanos que se han descontaminado eficazmente ya no constituyen un peligro biológico, las normas y prácticas socioculturales, religiosas y estéticas suelen influir en la regulación de su eliminación.

Las autoridades y organizaciones internacionales, nacionales, provinciales o municipales pueden especificar otras consideraciones o requisitos sobre la gestión y el tratamiento de los desechos que hay que consultar al establecer y aplicar un programa de gestión de desechos (23, 24). Las leyes, reglamentos, políticas y directrices que rigen la descontaminación y eliminación de desechos en una determinada jurisdicción pueden reflejar diferencias regionales y variaciones en la capacidad y las condiciones socioeconómicas locales. También puede haber directrices y manuales, códigos de conducta profesional y asesoramiento compartido entre personal experimentado a través de organizaciones o instituciones profesionales que complementen los requisitos obligatorios.

Las características de un programa de gestión de desechos basado en los requisitos nacionales e internacionales pueden incluir:

- La definición de desecho biológico peligroso.
- Las categorías o tipos de desechos.
- Las obligaciones legales de quienes producen desechos biológicos peligrosos con respecto a su manipulación y eliminación seguras.
- Los requisitos de registro y notificación.
- La necesidad de autorización (por ejemplo, permisos o licencias) para los sistemas de tratamiento y manipulación de desechos.

Consideraciones internacionales

La segunda edición de la publicación de la OMS *Safe management of wastes from health-care activities: a practical guide* (25) contiene recomendaciones sobre la manipulación de desechos peligrosos que pueden ser tenidas en cuenta en los programas de gestión de desechos.

También existen normas internacionales para determinados métodos de descontaminación de desechos. Por ejemplo, aunque no existen normas microbianas para las emisiones de las chimeneas (gases de combustión) de las incineradoras, estas deben cumplir los requisitos internacionales relativos al medio ambiente, como los del Convenio de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes (26). Hay estrictas normas internacionales, y a veces nacionales, sobre la eficiencia de los procesos de destrucción y eliminación y las concentraciones de sustancias que pueden liberarse a la atmósfera, y debe demostrarse que las incineradoras utilizadas para desechos peligrosos las cumplen. Si se utilizan servicios de gestión o eliminación de desechos biológicos peligrosos prestados por terceros, el laboratorio que genera los desechos y contrata su eliminación puede pedirles que demuestren que sus procesos cumplen las regulaciones internacionales.

Consideraciones nacionales

Además de los requisitos internacionales, los programas de gestión de desechos han tener en cuenta las leyes, reglamentos, políticas y directrices locales aplicables. En algunos países las jurisdicciones locales tienen requisitos específicos para el almacenamiento de desechos peligrosos con el fin de evitar que la comunidad esté expuesta a ellos. Por ejemplo, para evitar el acceso de carroñeros y plagas, las autoridades locales pueden exigir que los envases de desechos biológicos peligrosos se almacenen en lugar seguro hasta que se transporten para su eliminación fuera del centro.

Las reglamentaciones sobre desechos biológicos peligrosos pueden variar mucho de una región a otra. Así, en algunos países puede que no esté permitida la entrada de desechos biológicos peligrosos en el sistema general de eliminación de desechos, ni siquiera cuando hayan sido descontaminados de forma exhaustiva y eficaz (por ejemplo, mediante desinfección o autoclave). En estos casos es posible que los desechos tengan que someterse a un proceso de descontaminación que trate los peligros restantes que puedan contener, como productos químicos, material radiactivo, objetos punzocortantes o desechos anatómicos.

También es importante que se respeten las directrices locales, que reflejan diferencias regionales y variaciones en la capacidad y las condiciones socioeconómicas locales. Por ejemplo, es importante que los programas de gestión de desechos tengan en cuenta si el clima local justifica procedimientos adicionales para almacenar desechos (por ejemplo, almacenarlos en un lugar fresco o en una plataforma elevada si hay riesgo de inundación, o descontaminarlos a medida que se vayan produciendo para evitar tener que almacenarlos).

Transporte de desechos

Cuando los desechos se descontaminen fuera del centro que los haya generado, se envasarán, etiquetarán y transportarán de acuerdo con la normativa nacional e internacional. Tanto si se transportan dentro de la región como si se exportan para ser descontaminados o eliminados en otro país, el transporte de desechos biológicos peligrosos se rige por normas nacionales e internacionales que suelen basarse en las *Recomendaciones relativas al transporte de mercancías peligrosas. Reglamentación modelo* de las Naciones Unidas (27).

Cuando no existan reglamentaciones nacionales, las autoridades municipales a cargo pueden remitirse a las recomendaciones de las Naciones Unidas. El transporte de desechos biológicos peligrosos por vía aérea debe cumplir las *Instrucciones técnicas para el transporte sin riesgos de mercancías peligrosas por vía aérea* de la Organización de Aviación Civil Internacional y la *Reglamentación sobre mercancías peligrosas* de la Asociación de Transporte Aéreo Internacional, ambas basadas en las recomendaciones de las Naciones Unidas (28, 29).

Además de los convenios y acuerdos internacionales, el movimiento de desechos peligrosos a través de fronteras internacionales puede estar sujeto a las regulaciones del país importador, del país exportador o de ambos (30-32).

3.2 Descontaminación de desechos líquidos

La eliminación de desechos líquidos es una cuestión importante para los centros de investigación. Hay muchos métodos disponibles, todos ellos con ventajas e inconvenientes que hay que tener en cuenta en la evaluación del riesgo. La elección del método depende de la composición química de los desechos, de los agentes biológicos que haya que descontaminar y del costo inicial y continuo de cada método. En los apartados siguientes se describen los métodos de descontaminación de desechos líquidos.

3.2.1 Sistema de alcantarillado

Dependiendo de la evaluación del riesgo, cuando se trate de muestras de bajo riesgo manipuladas en centros clínicos o de investigación conectados a un sistema de alcantarillado municipal tecnológicamente avanzado, el vaciado directo de los envases de desechos líquidos en el alcantarillado sanitario puede ser un método de eliminación apropiado. Aunque técnicamente no sean un proceso de descontaminación, los sistemas de alcantarillado sanitario conectados a una planta de tratamiento de desechos desinfectarán adecuadamente los desechos líquidos antes de que sean vertidos al medio ambiente. Esta opción no es aceptable cuando se trate de agentes biológicos o procedimientos de laboratorio que necesiten medidas de control reforzadas o de máxima contención (según lo determinado por la evaluación del riesgo). Además, este método puede no estar permitido por la

normativa local o nacional ni siquiera para los agentes biológicos menos peligrosos. También puede estar prohibido introducir en el sistema de alcantarillado desechos biológicos líquidos mezclados con productos químicos, como etanol, formaldehído o clorhidrato de guanidina. En todo caso, es necesario respetar estrictamente la normativa local y nacional.

3.2.2 Desinfección química

En la mayoría de los laboratorios de investigación está prohibida la eliminación directa de agentes biológicos sin ningún tratamiento, por lo que la desinfección química se ha convertido en un medio estándar para descontaminar soluciones antes de su eliminación. La evaluación del riesgo ayuda a determinar cuál es el método más adecuado de desinfección química de desechos líquidos.

El primer factor que hay que tener en cuenta al seleccionar un desinfectante químico es su actividad frente al agente biológico de que se trate. Por lo general, en la investigación se utilizan agentes biológicos predefinidos, pero las muestras clínicas pueden contener una gama más amplia de agentes biológicos. Las esporas y los priones requieren un proceso de descontaminación más riguroso antes de eliminarlos. Como la mayoría de los desinfectantes químicos, en particular los hipocloritos, son inactivados por la materia orgánica, hay que tener en cuenta la carga orgánica (cantidad de materia orgánica mezclada con los agentes biológicos).

Hay que considerar tanto la estabilidad de los desinfectantes listos para usar, pues afecta a la frecuencia con la que hay que cambiarlos, como su toxicidad, su corrosividad y los irritantes que contienen. Además, puede ser necesario considerar los costos y el tiempo de almacenamiento por motivos de sostenibilidad.

Los productos químicos más utilizados para descontaminar desechos líquidos son el hipoclorito de sodio, los fenoles y los compuestos de amonio cuaternario.

Antes de proceder a la desinfección química de cualquier solución se considerarán los demás productos químicos presentes en el líquido para evitar los efectos adversos de la mezcla de productos químicos incompatibles. El tiocianato de guanidina es un agente caotrópico (capaz de romper los enlaces de hidrógeno) común que se utiliza para desnaturalizar las células antes del aislamiento y secuenciación de ácidos nucleicos o de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La mezcla de hipoclorito de sodio con soluciones que contengan tiocianato de guanidina genera una mezcla gaseosa tóxica de ácido clorhídrico y cianuro de hidrógeno. La combinación de soluciones de formaldehído e hipoclorito de sodio genera una mezcla de gases tóxicos, entre los que se encuentran el ácido clorhídrico, el cloro y el ácido fórmico. La combinación de etanol y soluciones que contienen hipoclorito de sodio genera cloroformo.

3.2.3 Autoclave

El tratamiento de desechos líquidos en autoclave puede ser un método preferido de esterilización porque generalmente los líquidos así tratados se pueden eliminar a través del sistema de alcantarillado sin preocuparse de la contaminación del medio ambiente con desinfectantes químicos o sus subproductos. Como se indica en el apartado 2.4.1 «AUTOCLAVE», el vapor debe entrar en contacto directo con la solución que haya que desinfectar, por lo que los envases que contienen los desechos líquidos no deben estar sellados. Los envases con desechos se introducirán en recipientes de contención secundarios, pero estos no serán más altos que aquellos para que el aire pueda ser sustituido por el vapor. Se pueden utilizar ciclos de desplazamiento por gravedad o de prevacío, pero el autoclave ha de tener un ciclo específico para líquidos que, después de completado, reduzca lentamente la temperatura y la presión, de modo que los desechos líquidos se enfríen lentamente. El uso de ciclos destinados a productos secos provocará la ebullición instantánea de los desechos líquidos cuando su temperatura supere el punto de ebullición con la presión residual del autoclave, y esto hará que se desborden y derramen en el recipiente de contención secundario o en el suelo del autoclave.

El tratamiento en autoclave de líquidos tratados previamente con desinfectantes químicos también puede ser peligroso. Las soluciones que contengan cantidades significativas de hipoclorito, etanol o formaldehído no deben ser tratadas en autoclave porque se volatilizarán y su concentración en el aire del autoclave puede superar los niveles aceptables cuando se abra. Los sólidos que se licúan a las temperaturas alcanzadas en un autoclave (por ejemplo, el agar) tienen que ser manejados con cautela. Si no están completamente contenidos en una bandeja secundaria, después de la licuefacción estos materiales pueden gotear de las bolsas en las que fueron colocados, acumularse alrededor de la bandeja de goteo y del drenaje, y bloquear completamente el drenaje cuando el autoclave se enfríe, haciendo necesaria una reparación difícil y cara.

3.3 Descontaminación de desechos sólidos

Para tratar desechos sólidos potencialmente infecciosos, la desinfección química no suele ser la opción preferida porque es difícil, si no imposible, asegurar el contacto del producto químico con todas las superficies. Los métodos preferidos para la mayoría de los sólidos son el autoclave o la incineración. En el caso de los cadáveres de animales grandes se puede proceder a la incineración o digestión alcalina, con *rendering* (véase el apartado 3.3.4 «RENDERING»). Hay en el comercio sistemas que combinan el calentamiento, la trituración o mezcla y/o la digestión alcalina.

3.3.1 Autoclave

Como se ha señalado en el apartado 2.4.1 «AUTOCLAVE», el tratamiento en autoclave es una forma fiable de esterilizar los agentes biológicos presentes en desechos sólidos, pero es imprescindible que todas las partes de los desechos estén expuestas al vapor,

pues las bolsas de aire atrapado actúan como aislantes que permiten que algunas sigan siendo potencialmente infecciosas. Garantizar esta exposición resulta más difícil cuando el embalaje de los desechos es irregular o los desechos sólidos contienen líquidos. Objetos completamente secos, como guantes y batas, pueden atrapar bolsas de aire seco que impidan la desinfección. Por consiguiente, los desechos o materiales introducidos en el autoclave deben estar en envases que permitan que el aire se elimine fácilmente y el vapor/calor penetre bien. Es esencial que las condiciones de funcionamiento sean validadas mediante el uso de muestras de prueba de desechos secos provistas de indicadores biológicos. La necesidad de añadir agua a los desechos sólidos debe determinarse experimentalmente; algunas investigaciones han indicado que la adición de más agua puede ayudar a la desinfección en determinadas condiciones (33). Para alcanzar temperaturas desinfectantes en todo el desecho sólido es probable que el éxito de la desinfección requiera ciclos más largos que los que normalmente se usan para esterilizar materiales. Deben evitarse los materiales grandes y voluminosos, los cadáveres de animales de gran tamaño, los envases herméticos termorresistentes y otros desechos que impidan la transferencia del calor.

La descontaminación en autoclave de cadáveres de animales es particularmente problemática. Los cadáveres pueden haber sido congelados hasta recoger un número suficiente para ser descontaminados, caso en el que, independientemente del método de descongelación, a cualquier ciclo o tiempo de procesamiento habrá que sumar el tiempo necesario para descongelar completamente todos los materiales.

Además, hay que proceder con antelación y de forma rutinaria a una validación experimental que demuestre que se alcanza la temperatura adecuada (normalmente 121 °C) en todos los cadáveres (34). Es necesario demostrar continuamente la descontaminación. El éxito de la descontaminación puede comprobarse colocando indicadores biológicos en muestras de prueba intercaladas estratégicamente entre los envases de desechos reales o utilizando indicadores fijados a varillas que puedan insertarse y retirarse sin alterar el contenido de los envases de desechos.

3.3.2 Incineración

La incineración es un medio para eliminar en los desechos sólidos todos los agentes biológicos conocidos, incluidas las esporas y los priones; lo ideal es que se utilicen incineradoras tecnológicamente avanzadas. Como se ha señalado en el apartado 2.4.2 «INCINERACIÓN», la temperatura y el tiempo correctos en la cámara primaria son esenciales para asegurar la combustión completa de los desechos sólidos y la descontaminación de cualquier agente biológico. Además, los operadores de las incineradoras deben recibir formación sobre la manipulación segura de los desechos antes de introducirlos en la incineradora. Cuando se empleen envases reutilizables, es necesario establecer los medios para desinfectarlos antes de iniciar la incineración.

Al incinerar desechos sólidos hay que tener en cuenta otros dos materiales además de los agentes biológicos: el plástico y el vidrio sodocálcico. La mayoría de los plásticos utilizados en los laboratorios de investigación arden a más temperatura

que los desechos de papel y pueden sobrecalentar la incineradora si la cantidad introducida es superior a la recomendada por el fabricante. El vidrio sodocálcico se funde a unos 550 °C y recubrirá el ladrillo refractario, reduciendo su vida útil, por lo que es importante minimizar la presencia de este tipo de vidrio en los desechos sólidos. Las cenizas generadas por la incineración de vidrio sodocálcico requieren una manipulación y eliminación especiales, ya que pueden estar enriquecidas con metales pesados y fosfatos.

3.3.3 Digestión alcalina

En la digestión alcalina se utilizan temperaturas y presiones elevadas en presencia de álcalis (1 N o más) para descomponer en formas solubles la mayoría de los materiales celulares de los cadáveres. El proceso puede reducir los cadáveres a una fracción soluble y un desecho sólido rico en calcio. La digestión alcalina es eficaz para descontaminar casi todos los agentes biológicos conocidos. Se ha demostrado que los priones dejan de ser infecciosos tras la digestión a 150 °C en presencia de 1 N de hidróxido de sodio (NaOH) o de potasio (KOH) (35). El proceso requiere una cantidad considerable de energía y tiempo (varias horas) y sólo debe utilizarse en instituciones con gran número de cadáveres (varios kilogramos a la semana).

3.3.4 Rendering

El *rendering* es otro método para descontaminar cadáveres de animales en el que se utiliza vapor a unos 130 °C en un recipiente a presión para descomponer los cadáveres en grasas, proteínas y huesos. Este método se utiliza tradicionalmente con animales grandes y es eficaz para eliminar la mayoría de los agentes biológicos. Sin embargo, es ineficaz contra los priones y no debe utilizarse con animales infectados por priones.

MÉTODOS DE INACTIVACIÓN

Los procesos de descontaminación están concebidos para eliminar los desechos de forma segura o para eliminar o destruir los agentes biológicos presentes en las superficies del laboratorio. En el laboratorio se utilizan procesos de inactivación para volver seguro cualquier material que contenga agentes biológicos, de modo que pueda ser manipulado con controles menos rigurosos. Los materiales que se inactivan contienen a menudo grandes concentraciones de agentes biológicos y pueden necesitar tratamientos muy eficaces para garantizar su completa inactivación. También pueden ser necesarios procesos que mantengan estables para futuros análisis las proteínas, los ácidos nucleicos y otros compuestos bioquímicos y estructuras. Por lo tanto, estos procesos tienen que ser validados. Puede haber varios motivos para retirar de una zona con mayores medidas de control del riesgo material infeccioso destinado a un procesamiento posterior. La más frecuente es la extracción de ácidos nucleicos para técnicas de amplificación como la PCR. Con respecto a la bioseguridad en el laboratorio, la inactivación de los agentes biológicos reduce el riesgo de trabajos posteriores y en la mayoría de los casos permite trabajar con los requisitos básicos. Las ventajas de trabajar con los requisitos básicos consisten en que el flujo de trabajo es más rápido, no es necesario descontaminar dispositivos que se ven afectados por los desinfectantes químicos, y el mantenimiento del espacio de trabajo resulta más barato. Dependiendo de la evaluación del riesgo, pueden ser necesarios dos métodos diferentes para inactivar los agentes biológicos.

Se recomienda utilizar controles o indicadores biológicos con los métodos de inactivación, aunque a menudo la validación del método de inactivación sólo se realiza con el agente biológico real, y los controles se utilizan para supervisar la eficacia de otros procesos combinados con el método de inactivación, como la extracción de ácidos nucleicos o la contaminación cruzada de las muestras.

4.1 Inactivación de muestras

La inactivación de muestras es un tratamiento preanalítico para eliminar/inactivar agentes biológicos. También hay otras razones para inactivar una muestra, como la fijación o la detención de reacciones. Así pues, la elección del método de inactivación depende de la evaluación del riesgo y de los pasos experimentales posteriores.

En la evaluación del riesgo hay que tener en cuenta los medios líquidos separados de la muestra porque su descontaminación suele ser diferente de la utilizada para inactivar la muestra.

Si se utilizan desinfectantes con fines de descontaminación (derrames), la introducción de un control positivo en el experimento puede garantizar que las muestras no han entrado en contacto con el desinfectante. En la mayoría de los procedimientos de inactivación no se realiza ningún control de la eficacia de la inactivación del agente biológico, pero en la validación inicial del procedimiento de inactivación debe utilizarse un control para demostrar la eficacia del método elegido.

4.1.1 Extracción de ácidos nucleicos

Cuando se utilizan técnicas genéticas suele ser necesaria una etapa de extracción del ácido nucleico para liberarlo de la célula o virión, de modo que esté disponible para la amplificación. Se necesita una extracción eficiente para poder estimar con exactitud la cantidad del agente biológico, pero puede ser necesaria una inactivación completa por motivos de bioseguridad y bioprotección. La inactivación del agente biológico es especialmente importante cuando se sabe que tiene una dosis infecciosa baja. Para la PCR, la inactivación suele hacerse con soluciones líticas que contienen desnaturalizantes de las proteínas, como las sales de guanidina, el calor directo o ambas cosas.

4.1.2 Inactivación térmica de portaobjetos

En los laboratorios clínicos los portaobjetos suelen calentarse para que la muestra se adhiera al vidrio antes de teñirla. En el caso de las muestras de tejido fijadas con formalina e incluidas en parafina el calentamiento elimina el exceso de parafina. El calentamiento no es un proceso de inactivación; los agentes biológicos ya están inactivados por la fijación en formalina. Sólo las secciones de tejidos que puedan contener priones deben considerarse potencialmente contaminadas, aunque se traten posteriormente en un calentador de portaobjetos o un dispositivo similar.

En una serie de procesos clínicos, como la tinción de Gram de muy diversas bacterias y la preparación de muestras de esputo de pacientes potencialmente infectados por *Mycobacterium tuberculosis* para la tinción de Ziehl-Neelsen, un paso clave consiste en secar la muestra del portaobjetos con un calentador de portaobjetos. Sin embargo, *M. tuberculosis* puede no ser inactivada completamente por el calentamiento, a menos que al frotis se añada fenol al 5% (36).

Aunque es probable que la inactivación por calor reduzca el número de agentes biológicos presentes en el portaobjetos, no debe suponerse que el calentamiento hasta lograr el secado sea suficiente para inactivar todos los agentes biológicos presentes. Sólo se puede suponer que se han inactivado todos los agentes biológicos si el calentamiento se ha validado experimentalmente, se ha evaluado la superficie de calentamiento para garantizar que el calor se aplica uniformemente a toda la superficie de trabajo y se dispone de un medio para verificar la temperatura.

4.1.3 Tratamiento de tejidos con formaldehído

El formaldehído se utiliza mucho para fijar muestras anatomopatológicas y anatómicas. Aunque este tratamiento sirve principalmente para preservar las características histológicas del tejido, el formaldehído también inactiva de forma fiable los agentes biológicos (como se ha mencionado en los apartados 2.2.1 «TIPOS DE DESINFECTANTES» y 2.3 «DESINFECCIÓN CON GASES»).

Para fijar tejidos, el formaldehído se utiliza como formalina, a menudo como solución de formalina tamponada, con formaldehído al 4%. El formaldehído penetra en el tejido a una velocidad de aproximadamente 1 mm por hora (37), de modo que el tiempo de incubación del tejido en formalina depende del grosor de la muestra. Generalmente no se utiliza ningún control para el proceso de fijación con formaldehído, ya que es poco práctico, y su uso se basa en la validación del PON.

Una vez transcurrido el tiempo de incubación estimado, un corte cauteloso de la muestra y la observación del color del tejido puede indicar si es necesaria una incubación más prolongada antes de manipular la muestra en condiciones seguras. A continuación, para los métodos de microscopía y análisis molecular se procesa el tejido en una muestra fijada en formol e incluida en parafina. El formaldehído genera enlaces cruzados de los grupos amino de las proteínas y los ácidos nucleicos, lo que da lugar a artefactos de la formalina, como proteínas desnaturalizadas y ADN dañado. Por lo tanto, los análisis posteriores tienen limitaciones y son necesarios protocolos especiales (como la recuperación de antígenos para los métodos de detección a base de anticuerpos) (38).

El formaldehído es irritante y cancerígeno (18, 19), y se está examinando su uso con fines analíticos y médicos (como fijador para la histología o para embalsamar cadáveres).

4.1.4 Radiación ionizante

Como agente esterilizante, la radiación ionizante tiene importantes ventajas: es capaz de inactivar los agentes biológicos a través de embalajes cerrados —no es necesario contacto físico directo con el agente biológico— y la inactivación se hace sin que el proceso deje ningún desecho (como pueden ser productos químicos). Como la radiación ionizante penetra fácilmente en toda la materia, es capaz de inactivar cualquier tipo de agente biológico, incluidas las esporas. Sin embargo, suele ser cara, requiere instalaciones especializadas y lleva más tiempo que la mayoría de los demás tratamientos.

El uso de la radiación ionizante se limita a dos funciones: 1) inactivar pequeñas cantidades de agentes biológicos para posteriores análisis estructurales o inmunológicos o para su uso en vacunas, y 2) esterilizar objetos o materiales voluminosos, a menudo consistentes en suministros o dispositivos médicos que podrían resultar dañados por la exposición al vapor o a los desinfectantes químicos.

Hay tres fuentes comerciales de radiación ionizante: irradiadores de rayos gamma, aparatos de rayos X y aceleradores de haces de electrones. Todos ellos inactivan los

agentes biológicos generando radicales libres cuando la radiación interactúa con la materia. Estos radicales libres crean roturas y aductos de las cadenas de los ácidos nucleicos, que generalmente se consideran críticos para la inactivación. En general, la sensibilidad a la radiación está directamente relacionada con el tamaño del material genético, con valores de D10 que van desde 0,2 kilograys (kGy) para *S. Typhimurium* hasta 13,0 kGy para el virus de la fiebre aftosa (39).

Irradiadores de rayos gamma

Los irradiadores de rayos gamma generan fotones de alta energía mediante la desintegración de elementos radiactivos; las fuentes típicas de radiación gamma son el cobalto 60 (^{60}Co) y el cesio 137 (^{137}Cs). Los irradiadores de cobalto tienen una semivida más corta (5,3 años frente a los 30 años del ^{137}Cs), por lo que deben recargarse con cobalto fresco con más frecuencia. Sin embargo, los irradiadores de cobalto proporcionan fotones de rayos gamma más potentes (dos rayos gamma de 1,17 y 1,33 megaelectronvoltios (MeV) frente a un fotón de 660 kiloelectronvoltios (keV) con el ^{137}Cs), lo que permite descontaminar una masa mayor.

Hay que tener en cuenta la semivida del elemento radiactivo para garantizar una exposición adecuada del material que se vaya a inactivar. Además, las fuentes de cobalto son metálicas y, en el caso de los irradiadores comerciales de gran tamaño utilizados para esterilizar grandes cantidades, pueden sumergirse en una piscina de agua que sirve de blindaje; por su parte, las fuentes de cesio suelen suministrarse en forma de sales o polvo, por lo que generalmente no pueden utilizarse cerca del agua.

El robo de fuentes de radiación gamma preocupa a las autoridades nacionales porque podrían utilizarse para producir contaminación radiactiva. La obtención de irradiadores gamma se ha vuelto difícil y muchas autoridades nacionales están intentando sustituirlos por aparatos de rayos X.

Aparatos de rayos X

Los aparatos de rayos X generan radiación ionizante acelerando electrones contra un blanco metálico. La interacción entre los electrones y el blanco, que expulsa los electrones orbitales o altera la dirección de los electrones acelerados, crea fotones de rayos X. A diferencia de los irradiadores gamma, los aparatos de rayos X pueden apagarse y, por tanto, son intrínsecamente más seguros, pero la energía de sus fotones suele ser muy inferior a la de aquellos. La menor energía puede dar lugar a una menor dosis por unidad de tiempo, lo que significa que se necesita más tiempo de exposición con un aparato de rayos X que con un irradiador gamma.

El poder de penetración de los rayos X y de los fotones gamma requiere un blindaje —a menudo de hormigón o acero— alrededor del aparato y del material irradiado para reducir la potencial exposición a la radiación por debajo del límite reglamentario establecido por la autoridad nacional. Las autoridades nacionales también pueden establecer límites de exposición para el personal que trabaja con irradiadores gamma o aparatos de rayos X a fin de que no se sobreexponga a la radiación, y para ello puede ser necesario utilizar dosímetros personales.

Aceleradores de haces de electrones

En el mercado hay aceleradores de haces de electrones con energías de hasta 10 MeV. Al igual que en los aparatos de rayos X, si se corta la energía eléctrica se detiene la producción de electrones, lo que los hace más seguros que los irradiadores gamma. Además de su costo considerable, el principal inconveniente de los aceleradores de haces de electrones es la penetración relativamente corta de los electrones en el agua o en materiales de densidad similar (aproximadamente 4 cm para un haz de 6 MeV) (40). Los electrones interactúan directamente con la materia del blanco para romper los enlaces atómicos y generar partículas ionizantes secundarias que inactivan el blanco crítico (generalmente ácidos nucleicos). Los materiales con alto número atómico, como los metales, deben mantenerse fuera del haz para evitar la formación de rayos X de alta energía. Siempre que se respete estrictamente el uso de envases únicamente de vidrio o plástico, los aceleradores de haces de electrones pueden ser autónomos y no necesitar ningún blindaje más allá del proporcionado por el fabricante.

Debe calcularse cuidadosamente la potencia de penetración de la radiación (dosis de radiación por minuto y centímetro de material) de cada tipo de irradiador y trazarse una curva de supervivencia del organismo en el mismo estado físico en el que se utiliza habitualmente (por ejemplo, líquido, congelado o liofilizado). En el caso de las bacterias en fase vegetativa, la oxigenación puede influir considerablemente en la supervivencia y debe ser similar en los estudios de validación y en el uso rutinario.

Cuando se utiliza la radiación como método de inactivación también es esencial una dosimetría adecuada (evaluación de la dosis de radiación ionizante absorbida por el objeto). La dosimetría puede ser un reto porque, por ejemplo, la dosis con la que haya una posibilidad de uno entre un millón de que una partícula vírica sobreviva en una solución que contenga 10^6 partículas del virus del Ebola/ml puede ser del orden de 30 kGy (41), muy superior al rango de la mayoría de los dosímetros químicos o indicadores biológicos, como las esporas de *B. pumilus*. Deben utilizarse dosímetros especiales, con técnicas como la dosimetría de radicales libres de alanina (42) o de película fluorescente (43).

Si no se mantienen los límites establecidos en los estudios de validación con respecto al volumen total, la concentración de oxígeno, la concentración del agente biológico que se vaya a inactivar, el estado físico del material (sólido o líquido) y el estado del organismo (vegetativo o spora), es posible que los organismos sobrevivan al procedimiento de radiación ionizante y se liberen materiales contaminados.

Referencias

1. Manual de bioseguridad en el laboratorio, 4.º edición. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2023 (Manual de bioseguridad en el laboratorio, 4.º edición y monografías complementarias).
2. Evaluación del riesgo. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2023 (Manual de bioseguridad en el laboratorio, 4.º edición y monografías complementarias).
3. Diseño y mantenimiento del laboratorio. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2023 (Manual de bioseguridad en el laboratorio, 4.º edición y monografías complementarias).
4. Cámaras de seguridad biológica y otros dispositivos de contención primaria. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2023 (Manual de bioseguridad en el laboratorio, 4.º edición y monografías complementarias).
5. Equipos de protección personal. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2023 (Manual de bioseguridad en el laboratorio, 4.º edición y monografías v).
6. Gestión de programas de bioseguridad. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2023 (Manual de bioseguridad en el laboratorio, 4.º edición y monografías complementarias).
7. Preparación y capacidad de recuperación ante brotes epidémicos. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2023 (Manual de bioseguridad en el laboratorio, 4.º edición y monografías complementarias).
8. Gold NA, Avva U. Alcohol sanitizer. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2019 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513254/>, consultado el 6 de septiembre de 2019).
9. Menegueti MG, Laus AM, Ciol MA, Auxiliadora-Martins M, Basile-Filho A, Gir E, et al. Glycerol content within the WHO ethanol-based handrub formulation: balancing tolerability with antimicrobial efficacy. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2019;8:109. doi: 10.1186/s13756-019-0553-z
10. How to handrub? Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2006 (https://cdn.who.int/media/docs/default-source/patient-safety/how-to-handrub-poster.pdf?sfvrsn=9d2f6e89_11, consultado el 10 de noviembre de 2023).
11. Rodríguez Ferri EF, Martínez S, Frandoloso R, Yubero S, Gutiérrez Martín CB. Comparative efficacy of several disinfectants in suspension and carrier tests against *Haemophilus parasuis* serovars 1 and 5. *Res Vet Sci*. 2010;88(3):385–9. doi: 10.1016/j.rvsc.2009.12.001

12. WHO infection control guidelines for transmissible spongiform encephalopathies. Report of a WHO consultation, Geneva: Switzerland, 23–26 March 1999. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2000 (https://iris.who.int/handle/10665/66707?search-result=true&query=WHO+infection+control+guidelines+for+transmissible+spongiform+encephalopathies&scope=&rpp=10&sort_by=score&order=desc, consultado el 10 de noviembre de 2023).
13. Bistaffa E, Rossi M, De Luca, Chiara MG, Moda F. Biosafety of prions. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2017;150:455–85. doi: 10.1016/bs.pmbts.2017.06.017
14. Sagripanti JL, Bonifacino A. Comparative sporicidal effects of liquid chemical agents. *Appl Environ Microbiol.* 1996;62(2):545–51. doi: 10.1016/S0196-6553(96)90024-3
15. Spotts Whitney EA, Beatty ME, Taylor TH, Weyant R, Sobel J, Arduino MJ, et al. Inactivation of *Bacillus anthracis* spores. *Emerg Infect Dis.* 2003;9(6):623–7. doi: 10.3201/eid0906.020377
16. Khakimova M, Ahlgren HG, Harrison JJ, English AM, Nguyen D. The stringent response controls catalases in *Pseudomonas aeruginosa* and is required for hydrogen peroxide and antibiotic tolerance. *J Bacteriol.* 2013;195(9):2011–20. doi: 10.1128/JB.02061-12
17. Lemmer K, Howaldt S, Heinrich R, Roder A, Pauli G, Dorner BG, et al. Test methods for estimating the efficacy of the fast-acting disinfectant peracetic acid on surfaces of personal protective equipment. *J Appl Microbiol.* 2017;123(5):1168–83. doi: 10.1111/jam.13575
18. Facts about formaldehyde. United States Environmental Protection Agency (<https://www.epa.gov/formaldehyde/facts-about-formaldehyde>, consultado el 12 de marzo de 2019).
19. Formaldehyde, 2-butoxyethanol and 1-tert-butoxypropan-2-ol. Lyon: WHO International Agency for Research on Cancer; 2006 (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Vol. 88) (<http://publications.iarc.fr/106>, consultado el 27 de mayo de 2019).
20. Morton HE. The relationship of concentration and germicidal efficiency of ethyl alcohol. *Ann N Y Acad Sci.* 1950;53(1):191–6. doi: 10.1111/j.1749-6632.1950.tb31944.x
21. Fey G, Klassen S, Theriault S, Krishnan J. Decontamination of a worst-case scenario class II biosafety cabinet using vaporous hydrogen peroxide. *Appl Biosaf.* 2010;15(3):142–50. doi: 10.1177/153567601001500307
22. Batterman S. Findings of an assessment of small-scale incinerators for health-care waste. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2004 (<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/68775/a85187.pdf>, consultado el 3 de septiembre de 2019)

23. ISO 14001:2015(en): Environmental Management systems – Requirements with guidance for use [website]. International Standards Organization; 2015 (<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:14001:ed-3:v1:en>, consultado el 21 de octubre de 2019).
24. International Solid Waste Association (ISWA) [website] (<https://www.iswa.org/>, consultado el 3 de septiembre de 2019).
25. Chartier Y, Emmanuel J, Pieper U, Prüss A, Rushbrook P, Stringer R, et al, editors. Safe management of wastes from health-care activities: a practical guide. Second edition. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2014 (https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/85349/9789241548564_eng.pdf?sequence=1, consultado el 6 de septiembre de 2019).
26. Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants [website] (<http://www.pops.int/>, consultado el 3 de septiembre de 2019).
27. Naciones Unidas. Recomendaciones relativas al transporte de mercancías peligrosas. Reglamentación modelo. 21.a edición revisada. Nueva York, Ginebra: Naciones Unidas; 2019 (https://unece.org/fileadmin/DAM/trans/danger/publi/unrec/rev21/ST-SG-AC10-1r21e_Vol1_WEB.pdf, consultado el 10 de noviembre de 2023).
28. Instrucciones técnicas para el transporte sin riesgos de mercancías peligrosas por vía aérea, edición de 2017–2018. Montreal: Organización de Aviación Civil Internacional; 2014 (Doc 9284).
29. IATA. Reglamentación sobre mercancías peligrosas, 60.ª edición. Montreal: Asociación de Transporte Aéreo Internacional; 2019.
30. Basel Convention on the Control of Transboundary Movements of Hazardous Wastes and their Disposal [website] (<http://www.basel.int/TheConvention/Overview/tabid/1271/Default.aspx>, consultado el 3 de septiembre de 2019).
31. Decision of the Council Concerning the Revision of Decision C(92)39/Final on the Control of Transboundary Movements of Wastes Destined for Recovery Operations. París: Organización de Cooperación y Desarrollo Económicos (OCDE); 2004 ([https://one.oecd.org/document/C\(2001\)107/FINAL/en/pdf](https://one.oecd.org/document/C(2001)107/FINAL/en/pdf), consultado el 10 de noviembre de 2023).
32. Bamako Convention on the Import into Africa and the Control of Trans-Boundary Movement and Management of Hazardous Wastes within Africa [webpage](<https://www.unep.org/explore-topics/environmental-rights-and-governance/what-we-do/meeting-international-environmental>, consultado el 10 de noviembre de 2023).
33. Lauer JL, Battles DR, Vesley D. Decontaminating infectious laboratory waste by autoclaving. Appl Environ Microbiol. 1982;44(3):690–4.

34. Bearss JJ, Honnold SP, Picado ES, Davis NM, Lackemeyer JR. Validation and verification of steam sterilization procedures for the decontamination of biological waste in a biocontainment laboratory. *Appl Biosaf.* 2017;22(1):33–7. doi: 10.1177/1535676017694147
35. Taylor DM, Woodgate SL. Rendering practices and inactivation of transmissible spongiform encephalopathy agents. *Rev Sci Tech.* 2003;22(1):297–310. doi: 10.20506/rst.22.1.1400
36. Forbes BA, Hall GS, Miller MB, Novak SM, Rowlinson MC, Salfinger M, et al. Practice guidelines for clinical microbiology laboratories: mycobacteria. *Clin Microbiol Rev.* 2018;31(2). doi: 10.1128/CMR.00038–17
37. Howat WJ, Wilson BA. Tissue fixation and the effect of molecular fixatives on downstream staining procedures. *Methods.* 2014;70(1):12–9. doi: 10.1016/j.ymeth.2014.01.022
38. Werner M, Chott A, Fabiano A, Battifora H. Effect of formalin tissue fixation and processing on immunohistochemistry. *Am J Surgl Pathol.* 2000;24(7):1016–9. doi: 10.1097/00000478-200007000-00014
39. Block SS, editor. *Disinfection, sterilization, and preservation.* Philadelphia (PA): Lippincott Williams & Wilkins; 2001.
40. *Radiation oncology physics: a handbook for teachers and students.* Vienna: International Atomic Energy Agency; 2005.
41. Hume AJ, Ames J, Rennick LJ, Duprex WP, Marzi A, Tonkiss J, et al. Inactivation of RNA viruses by gamma irradiation: a study on mitigating factors. *Viruses.* 2016;8(7). doi: 10.3390/v8070204
42. Ciesielski B, Reinstein LE, Meek AG, Wielopolski L. Energy response of agar-alanine free radical dosimetry to therapeutic electron beams. *Med Phys.* 1993;20(5):1453–5. doi: 10.1118/1.597130
43. Twardoski B, Feldmann H, Bloom ME, Ward J. Modern dosimetric tools for (60) Co irradiation at high containment laboratories. *Int J Radiat Biol.* 2011;87(10): 1039–44. doi: 10.3109/09553002.2011.598210

Información complementaria

Pathogen safety data sheets. Government of Canada [website] (<https://www.canada.ca/en/public-health/services/laboratory-biosafety-biosecurity/pathogen-safety-data-sheets-risk-assessment.html>), consultado el 10 de noviembre de 2023).



Organización
Mundial de la Salud

9789240059504

