

**CMIEET**

**Comité Científico Multidisciplinar para la Investigación en  
Encefalopatías Espongiformes Transmisibles**

**Ministerio de Ciencia y Tecnología**

**OPINIÓN CIENTÍFICA SOBRE:**

***BIOSEGURIDAD***

**Adoptada por el CMIEET (Subcomité de Seguridad)**

**el 15 de Enero de 2001**

**Nota:**

El Subcomité de Bioseguridad del CMIEET ha elaborado este documento basándose en la legislación y en las normativas tanto españolas como internacionales, así como en diferentes guías y planes de actuaciones de laboratorios con experiencia en trabajos con enfermedades priónicas.

En todo caso, se hace notar que las opiniones vertidas por el CMIEET no vinculan necesariamente al Ministerio de Ciencia y Tecnología.

## ÍNDICE

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>3</b>
<b>II.</b>	<b>ÁMBITOS LABORALES</b>	<b>4</b>
<b>III.</b>	<b>FACTORES DE RIESGO</b>	<b>5</b>
	1. Identidad del agente	5
	2. Transmisión del agente	7
	3. Gravedad de la enfermedad	8
	4. Profilaxis	9
	5. Tratamiento	9
<b>IV.</b>	<b>LA SEGURIDAD BIOLÓGICA</b>	<b>9</b>
	1. Prácticas de trabajo	9
	2. Equipo de seguridad	10
	3. Diseño y construcción de la instalación	10
<b>V.</b>	<b>LOS NIVELES DE CONTENCIÓN</b>	<b>10</b>
<b>VI.</b>	<b>PRÁCTICAS DE TRABAJO Y EQUIPOS DE PROTECCIÓN PERSONAL</b>	<b>13</b>
	1. Explotaciones ganaderas	14
	2. Mataderos	14
	3. Laboratorios de diagnóstico	15
	4. Instituciones donde se realice investigación	15
	5. Hospitales	17
<b>VII.</b>	<b>DESINFECCIÓN</b>	<b>17</b>
<b>VIII.</b>	<b>BIBIOGRAFÍA</b>	<b>18</b>

# MEDIDAS DE SEGURIDAD BIOLÓGICA PARA EL MANEJO DEL AGENTE CAUSAL DE LAS ENCEFALOPATÍAS ESPONGIFORMES TRANSMISIBLES (EET)

## I. INTRODUCCIÓN

Cuando en un ambiente laboral se manipulan agentes infecciosos se producen una serie de riesgos a los que están expuestos el propio trabajador, otros trabajadores cercanos a él, el medio ambiente y hasta la misma comunidad.

La evaluación de estos riesgos biológicos es el proceso mediante el cual se valoran estos riesgos laborales y asignándoles un nivel de contención (instalaciones, equipo de protección y prácticas de trabajo), se consigue reducir la exposición del trabajador hasta límites mínimos, de forma que no corra un peligro inaceptable (el riesgo cero no existe).

En Seguridad y Salud Laboral las evaluaciones de riesgos pueden ser cuantitativas o cualitativas. Una evaluación cuantitativa depende directamente de la precisión con que se puede efectuar la medida del riesgo, tal que la concentración de un gas tóxico, y la información disponible acerca de los niveles de toxicidad de ese gas para humanos.

Sin embargo, las evaluaciones de riesgos, cuando se trata de agentes biológicos, suelen ser de tipo cualitativo, debido a que entonces existen muchas variables desconocidas relacionadas con la transmisión de los agentes infecciosos que hacen que los datos cuantitativos resulten difíciles o imposibles de obtener. Entre las características que rodean a los agentes infecciosos están la variedad de microorganismos (y sus modificaciones genéticas), las diferentes vías de transmisión, la compleja composición química de estos microorganismos (que puede llevar en ocasiones, y como es el caso de los priones, a proporcionar barreras contra la desinfección química), el grado de resistencia inmunológica del trabajador a la infección, etc. Ahora bien, la mayor limitación para una valoración cuantitativa es que los agentes infecciosos necesitan ser medidos en función de su capacidad de reproducción. Un agente infeccioso que puede reproducirse en el hospedador es un agente viable. Sin embargo, un agente infeccioso viable no necesariamente se reproduce en el hospedador. Pero para que un agente infeccioso provoque enfermedad en el hospedador es necesario que se multiplique hasta que llegue a dañarlo. De lo que se deduce que esta capacidad de que el microorganismo se amplifique dentro del hospedador es la característica más significativa. Desafortunadamente, los ensayos *in vitro* para medir esta característica son técnicamente muy difíciles de desarrollar y de interpretar.

Por todo lo anterior, en ausencia de mediciones cuantitativas, son las medidas cualitativas los factores determinantes. Para llevar a cabo este análisis cualitativo en los diferentes ambientes laborales, es imprescindible en primer lugar identificar todos los factores de riesgo que pueden estar involucrados en la transmisión del agente al trabajador y/o al medio ambiente (otras personas, otros animales):

- (1) Identidad del agente: si el agente es conocido, se puede emplear la legislación correspondiente para determinar el nivel de contención asignado.

- (2) Transmisión del agente: la transmisión depende del tipo de material que se manipula, de la actividad que el operario desarrolla y de las posibles vías por las cuales el agente puede penetrar en el hospedador.
- (3) Gravedad de la enfermedad: cuanto más severa sea, más alto será el nivel de contención necesario.
- (4) Profilaxis: el riesgo de trabajar con agentes infecciosos decrece si existen medidas profilácticas efectivas.
- (5) Tratamiento: se da una situación similar a la anterior cuando están disponibles tratamientos efectivos, que pueden incluir el uso de vacunas, inmunoglobulinas específicas, antibióticos y antivirales.

Una vez valorado el riesgo hay que proceder con la siguiente secuencia de actuaciones: 1ª . Prevenir la exposición al agente o sustitución por otro menos peligroso (lo que en este caso no es factible). 2ª . Seleccionar las medidas de control. 3ª . Mantenimiento y comprobaciones periódicas de esas medidas. 4ª . Proporcionar información y formación a los profesionales. 5ª . Monitorización de la exposición en el lugar del trabajo, si ello fuera posible (al tratarse de contaminantes biológicos resulta prácticamente inviable). Y 6ª . Vigilancia médica de los trabajadores expuestos.

Las evaluaciones de riesgos biológicos en el ámbito laboral se deben realizar para dos amplias categorías de trabajadores: (a) cuando la exposición de los mismos no es consecuencia directa del trabajo sino que es una consecuencia secundaria (por ejemplo, un hospital, un matadero), y (b) cuando la exposición resultante procede de una intención deliberada de trabajar con los agentes biológicos (por ejemplo, un laboratorio de investigación). En principio, el alcance para la reducción y control del riesgo suele ser mucho menor en la categoría primera.

## II. ÁMBITOS LABORALES

En el caso concreto de las EET, este apartado está íntimamente relacionado con el tipo de agente etiológico (especie de origen). Pero en términos generales, habría que considerar tres situaciones: (1) son muy diversos los ambientes laborales en los que un profesional puede verse expuesto a material infectado con el agente productor de las EET, (2) en un mismo ámbito laboral no todo el personal corre el mismo grado de riesgo por la diferente función que desempeña y (3) la dificultad existente para la descontaminación de locales, instrumental, utensilios, prendas de protección, residuos, por la conocida resistencia de los priones a la mayoría de los productos y métodos eficaces contra otros agentes infecciosos, hace que determinadas medidas vayan enfocadas exclusivamente a evitar la extensión de la contaminación.

En función de lo arriba mencionado se podrían distinguir:

- Explotaciones ganaderas:
  - a) ganaderos,
  - b) veterinarios.
  
- Mataderos:
  - a) matarifes,
  - b) veterinarios.

- Instalaciones para la destrucción de materiales específicos de riesgo (MER).
- Laboratorios de Diagnóstico:
  - a) personal de diagnóstico rápido (ELISA, Western Blot),
  - b) personal de anatomía patológica.
- Centros de Investigación:
  - a) personal de laboratorios (biología molecular, inmunología),
  - b) personal de laboratorios de anatomía patológica,
  - c) personal de salas de necropsias,
  - d) personal de animalarios.
- Hospitales:
  - a) prácticas médicas,
  - b) prácticas quirúrgicas: 1. Medidas generales de tratamiento del instrumental quirúrgico, 2. Destrucción del material quirúrgico y 3. Cuarentena,
  - c) anestesia: 1. General y 2. Local,
  - d) realización de autopsias,
  - e) estudios histopatológicos (con envío y traslado de muestras),
  - f) laboratorio de diagnóstico. Otros.

A fin de asegurar una adecuada protección de cada tipo de trabajador, así como del medio ambiente que rodea a cada actividad laboral, resulta imprescindible la realización de una evaluación de riesgos de cada puesto de trabajo.

Esta tarea se encuentra en gran parte ya en el REAL DECRETO 664/1997, de 12 marzo, sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo (y sus posteriores adaptaciones en función del progreso científico) y en la más reciente DIRECTIVA 2000/54/CE DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO, de 18 de septiembre de 2000, sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo.

### III. FACTORES DE RIESGO

#### III. 1. Identidad del agente

La ORDEN de 25 de marzo de 1998 por la que se adapta en función del progreso técnico el R.D. 664/1997, establece distintas medidas de protección en función de la naturaleza del agente causal a tratar. Para ello es necesario definir con claridad los términos empleados:

**Agente causal de Scrapie:** hace referencia a la tembladera natural y experimental (transmitida experimentalmente a animales de laboratorio) y, por lo tanto, se refiere a priones que atienden a la secuencia de oveja, ratón y hámster.

**Agente causal de CJD y de Kurú:** hace referencia en general a las prionopatías humanas (adquiridas, genéticas y esporádicas) y, en consecuencia, se refiere a priones de secuencia humana. En este grupo también han de contemplarse los priones de

naturaleza bovina capaces de producir la variante de CJD y los derivados de primates y está en duda la inclusión de algunos otros de rumiantes.

**Agente causal de EEB:** los priones causantes de la EEB hacen referencia a priones de naturaleza bovina.

En este mismo R.D. se dice que: .....”*Variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob que se clasifica en el grupo 3(\*)*” y más adelante ....”*Encefalopatía espongiforme bovina (BSE) y otras TSE de origen animal afines (i) que se clasifican en el grupo 3(\*) con las notas D (d)*”..... La nota “(i)” está redactada así: “*No hay pruebas concluyentes de infecciones humanas causadas por los agentes responsables de las TSE en los animales. No obstante, para el trabajo en laboratorio se recomiendan medidas de contención para los agentes clasificados en el grupo de riesgo 3(\*) como medida de precaución, excepto para el trabajo en laboratorio relacionado con el agente identificado de la tembladera (scrapie) de los ovinos para el que es suficiente un nivel 2 de contención”*. Los subrayados son nuestros.

Queda, por lo tanto, establecido claramente en la legislación, que el agente causal del **scrapie** no necesita de unas medidas de contención tan rigurosas como para el productor de las prionopatías humanas, antes agente causal de CJD, así como para el de la EEB, para los que es obligatorio un nivel 3(\*) de contención.

El mencionado R.D. 664/1997 define el “*símbolo D*” como “*la lista de los trabajadores expuestos al agente debe conservarse durante más de diez años después de la última exposición*”, el “*símbolo (\*)*”, como “*normalmente no infeccioso a través del aire* y el “*(d)*” como “*recomendado para los trabajos que impliquen un contacto directo con estos agentes*” (el subrayado es nuestro). En el mismo anexo II establece en el punto 5: “*Para los agentes biológicos normalmente no infecciosos a través del aire, señalados con un asterisco en la lista de agentes biológicos, podrá prescindirse de algunas medidas de contención destinadas a evitar su transmisión por vía aérea, salvo indicación en contrario de la autoridad sanitaria a la que se deberá informar previamente de tal circunstancia*”.

Si bien la legislación española (la posterior comunitaria no añade nada nuevo en este tema concreto) establece claramente una serie de medidas higiénicas (artículo 7) así como las medidas de contención de un nivel 3 (anexos IV y V), es ésta misma legislación la que impone (artículo 4 del R.D. 664/1997), como paso previo a la adopción de cualquier medida, la “*identificación y evaluación de riesgos*”. Ello significa que, independientemente de que en el R.D. sólo se contemple de forma explícita el “*trabajo de laboratorio*” y otros trabajos que impliquen “*el contacto directo*” del trabajador con los agentes productores de las EET, existen diversos ámbitos laborales en los que, si bien la intensidad del riesgo es muy diferente, sí es necesaria la adopción de medidas, no tanto en cuanto a las instalaciones, sino principalmente en torno a las denominadas medidas higiénicas o prácticas de trabajo, más el empleo de diversos equipos de protección personal.

Con el fin de aportar más información, por parte de organismos internacionales de reconocida autoridad, el estadounidense CDC (Centros de Control y Prevención de Enfermedades) establece en su normativa, que los agentes productores de las EET

deberían ser manejados en un nivel de contención 2 o 3 en función del tipo de manipulación y del material que se maneje.

Puesto que la EEB es una enfermedad animal, corresponde también preguntarse en qué nivel de contención, desde el punto de Sanidad Veterinaria, correspondería situarlo, y no concentrarse exclusivamente en aspectos de Salud Pública. Dado que no existe legislación ni comunitaria ni española al respecto, lo más apropiado parece acogerse a lo que la OIE (Oficina Internacional de Epizootias) tiene publicado.

Así, en su Código Zoosanitario Internacional, define a los “Agentes patógenos de origen animal del grupo 2” como “Organismos que causan enfermedades exóticas o enzoóticas, sujetos a control oficial y con escasa posibilidad de propagarse a partir de un laboratorio: i) su transmisión no depende de vectores ni de huéspedes intermediarios; ii) su transmisión entre animales de especies distintas es muy limitada, incluso inexistente; iii) su capacidad de propagación geográfica en caso de liberación accidental por un laboratorio es limitada; iv) su transmisión directa entre animales es relativamente limitada; v) la necesidad de aislar los animales enfermos o infectados es mínima; vi) las consecuencias económicas y/o clínicas de la enfermedad son limitadas”. El agente productor de la EEB se ajusta a esta definición con bastante exactitud, sin embargo hay puntos que son más aproximados a los que el mismo Código apunta como características de los “Agentes patógenos de origen animal del grupo 3”, como pueden ser “v) el aislamiento reglamentario de los animales enfermos, infectados o que han estado en contacto con animales afectados es imperativo; vi) las consecuencias económicas y/o clínicas de la enfermedad son graves; vii) los tratamientos profilácticos y/o terapéuticos son escasos o tienen efectos limitados”. Es más, en cuanto a los dos últimos puntos, es posible que se ajustara aún más a parte de lo que constituye la definición de “Agentes patógenos de origen animal del grupo 4: vii) las consecuencias económicas y/o clínicas de la enfermedad son sumamente graves; viii) no existe ningún tratamiento profiláctico y/o terapéutico satisfactorio”.

De todo lo expuesto, incluidas Salud Pública y Sanidad Animal, se concluye que el agente causal de la EEB y de las prionopatías humanas, podría ser clasificado como un agente biológico del grupo 3, pero al que no le correspondería aplicar todas las medidas de contención de un nivel 3 (tal y como la legislación lo permite), previa la preceptiva evaluación de riesgos para cada tipo de trabajo. Análogamente, debe asumirse la clasificación del agente causal del scrapie y sus modelos de ratón y hámster como agente biológico del grupo 2, si bien la barrera de especie con el hombre en este caso ha quedado demostrada.

Merece la pena excluir en este capítulo a péptidos de síntesis o de producción biotecnológica que mimeticen las secuencias de las proteínas del prión de todas estas especies, ya que como mucho se clasifican como neurotóxicos y todos los estudios realizados ponen de manifiesto la ausencia de capacidad perpetuante.

### **III. 2. Transmisión del agente**

Como se ha citado, este factor riesgo depende del tipo de material que se manipula, de la actividad que el trabajador desarrolla y de las vías de entrada del agente en el hospedador.

Estos son algunos ejemplos, centrados en la EEB, tomados a partir de la división que se ha realizado de los diversos ámbitos laborales, y centrándose de momento en el material contaminado y la actividad del trabajador. El cuidado de los animales que desempeña un trabajador en una explotación es evidentemente una actividad de riesgo casi despreciable si se compara con otro profesional del mismo ámbito, el veterinario, que será el que deberá explorar al animal enfermo y, llegado, el caso, proceder a la toma de muestras. Y el riesgo de éste, a su vez, puede resultar menor si se compara con el que se deriva de las labores que el matarife desempeña con los animales que llegan a un matadero como parte del plan de erradicación de la enfermedad, ya que éste sí entra siempre en contacto directo con materiales posiblemente infectados. El riesgo que existe en los laboratorios de diagnóstico es menor que en los centros de investigación, puesto que en los primeros pueden llegar a manipularse muchas muestras no contaminadas, mientras que en los laboratorios y animalarios de investigación se produce la manipulación de material que se sabe con certeza contaminado y en muchos casos con altas concentraciones de agentes infecciosos. Tampoco supone el mismo nivel de riesgo trabajar con pequeñas cantidades de material infectado en un laboratorio de biología molecular que realizar necropsias de grandes animales inoculados experimentalmente y que han desarrollado la enfermedad.

Para finalizar, abordando las vías de transmisión de la EEB, en caso de que afectara al ser humano por motivos de su actividad laboral, habría que tener en cuenta la inoculación directa (a través del manejo de materiales específicos de riesgo en contacto con lesiones o heridas en la piel), la salpicadura de las mucosas (ojos y boca) o, excepcionalmente, la vía digestiva. También en este caso, la exposición es muy diferente, por ejemplo, entre un operario que está eliminando los materiales de riesgo de una canal, donde existe un riesgo de corte considerable si no se protege, y una persona de un laboratorio de investigación, donde al no emplearse objetos punzantes ni material de vidrio, la inoculación directa del agente sería una posibilidad remota. Parece ser que está descartada la transmisión por inhalación de partículas infecciosas, sin embargo, se recomienda, al tratarse todavía de una enfermedad relativamente nueva, de la que no existe suficiente bibliografía científica en este sentido, tomar una postura de precaución como medida adicional de seguridad.

Por lo tanto, corresponde establecer, según el tipo de trabajo a desarrollar (que también va a marcar el material infectado que se manipula), diferentes hábitos de trabajo y medidas de protección personal en función del riesgo que el trabajador corre.

### **III. 3. Gravedad de la enfermedad**

Se conoce perfectamente por lo que no es necesario insistir en ello. Relacionado con este punto, se destacan solamente un par de datos: 1°. Durante la epizootia declarada en Gran Bretaña, la incidencia, entre las explotaciones afectadas, no superó el 3% anual. 2°. El anuncio en marzo de 1996 de 10 casos de una nueva forma de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (vCJD) en pacientes jóvenes, renovó la preocupación acerca de la posibilidad de que el agente de la EEB pudiera producir enfermedad en humanos. Desde entonces han ido apareciendo hallazgos que apoyan de manera científica esta hipótesis, a pesar de que aún quedan muchas preguntas sin respuesta. Aún así, el británico Comité Consultivo de Encefalopatías Espongiformes (SEAC), concluyó que el agente transmisible de la EEB era el mismo que causa la nueva variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob.

### **III. 4. Profilaxis**

Es posible establecerla aplicando un código de prácticas de trabajo y las prendas de protección personal adecuadas, que en muchos casos, particularmente en los ámbitos laborales donde no se da la manipulación intencionada de los agentes productores de las EET, serán suficientes para proporcionar la protección necesaria.

### **III. 5. Tratamiento**

No existe.

## **IV. LA SEGURIDAD BIOLÓGICA**

El principal objetivo de la Seguridad Biológica es evitar que un agente patógeno infecte a las personas que están en contacto con él, así como evitar su escape del lugar donde se está manipulando para que no se convierta en un problema de Salud Pública. Si nos referimos a la Sanidad Animal habría que considerar ante todo el hecho de impedir que el agente en cuestión se propague a la población animal del país.

Los elementos de que se sirve la Seguridad Biológica para la contención del riesgo provocado por los agentes infecciosos son tres: (1) prácticas de trabajo, (2) equipo de seguridad (o barreras primarias) y (3) diseño y construcción de la instalación (o barreras secundarias).

### **IV. 1. Prácticas de trabajo**

Unas prácticas normalizadas de trabajo son el elemento más básico y a la vez el más importante para la protección de cualquier tipo de trabajador. Las personas que por motivos de su actividad laboral están en contacto, más o menos directo, con materiales infectados o agentes infecciosos, deben ser conscientes de los riesgos potenciales que su trabajo encierra y además han de recibir la formación adecuada en las técnicas requeridas para que el manejo de esos materiales biológicos les resulte seguro.

En el R.D. 664/1997, en sus artículos 6 y 7, se establecen una serie de medidas a tomar, que en realidad no varían substancialmente entre los niveles 2 y 3 de contención. En lo que sí realmente puede considerarse una variación cualitativa entre un nivel y otro es en cuanto a las prendas de protección personal y aún más en las barreras físicas (barreras secundarias) de contención. Además, en una muy reciente publicación del Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (Guía técnica para la evaluación y prevención de los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos), en su apéndice 11 se recomiendan una serie de *prácticas de laboratorio* y *prácticas especiales* específicas para cada nivel de contención.

Por otro lado, estos procedimientos estandarizados de trabajo deben figurar por escrito y ser actualizados periódicamente.

## **IV. 2. Equipo de seguridad**

Se incluyen entre las barreras primarias tanto los dispositivos o aparatos que garantizan la seguridad de un proceso (como por ejemplo, las cabinas de seguridad biológica) como los denominados equipos de protección personal (guantes, calzado, pantallas faciales, mascarillas, etc).

## **IV. 3. Diseño y construcción de la instalación**

La magnitud de las barreras secundarias dependerá del agente infeccioso en cuestión y de las manipulaciones que con él se realicen. Vendrá determinada por la evaluación de riesgos.

Como más adelante se verá, en muchos de los grupos de trabajadores en los que el contacto con este tipo de agentes patógenos sea secundario a su actividad profesional, cobran principalmente relevancia las normas de trabajo y los equipos de protección personal, mientras que cuando la manipulación es deliberada entrarán en juego, también, con mucha más importancia, las barreras secundarias.

## **V. LOS NIVELES DE CONTENCIÓN**

Combinando los tres elementos de que consta la Seguridad Biológica, la legislación española establece cuatro niveles de contención, siendo los requisitos de cada uno apropiados para el tipo de microorganismo considerado; es decir, para los agentes biológicos del grupo 2 se necesitará un nivel de contención más bajo y para los del grupo 4, el de más riesgo de todos ellos.

En cuanto a los requisitos de contención física, en el caso de las EET, la legislación permite la eliminación de algunos de ellos; se recuerda que les asigna un nivel 3(\*) de contención.

Según lo que se especifica en la Guía publicada por el INSALUD, por lo que respecta a las prionopatías humanas, pese a que el SEAC afirma que el examen restringido al cráneo puede hacerse en cualquier mortuario (reservando las salas de alto riesgo para las autopsias completas) el actual ámbito normativo español no contempla este extremo, ya que el citado anteriormente RD 664/1997, establece un nivel de contención 3(\*) para estos procedimientos, como se ha repetido.

Por otra parte, las restantes normas que en España regulan la autopsia clínica (LEY 29/1980, de 21 de junio, de Autopsias Clínicas y REAL DECRETO 2230/1982, de 18 de junio, sobre Autopsias Clínicas) son de carácter genérico e inespecífico, referidas a las autopsias clínicas en general, y anteriores al incremento de esta patología emergente. Por lo tanto, las consideraciones del SEAC deben entenderse en el contexto de las disposiciones británicas de policía mortuoria, diferentes a las españolas.

Siguiendo el RD 664/1997, en su artículo 6, sobre la reducción de riesgos, y teniendo en cuenta la diversidad en la dotación de recursos físicos, humanos, materiales, etc. de los hospitales de nuestra red, es aconsejable realizar estas autopsias (parciales o completas) en centros seleccionados y suficientemente dotados, con objeto de evitar la duplicación

de recursos, a la par que potenciar los ya existentes, adecuándose a los fines que se persiguen.

Estos hospitales podrán hacerse cargo del estudio anatomopatológico íntegro y completo en su vertiente eminentemente asistencial (es decir, autopsia, estudio macroscópico y tallado del cerebro, estudio histopatológico con técnicas convencionales e inmunohistoquímica). Es aconsejable que exista al menos un hospital así cualificado en cada comunidad autónoma, que actuaría como referencia territorial. Otros estudios complementarios (técnicas genéticas y moleculares) y la conservación de tejido cerebral y/o medular como banco con fines científicos, deberían realizarse en un centro de referencia supraterritorial.

Los centros capacitados en el nivel territorial para realizar este tipo de autopsias deberían estar dotados de:

- 1) Sala de Autopsias que cumpla criterios genéricos y específicos, establecidos en la normativa vigente (Ley 29/1980, de 21 de junio, de Autopsias Clínicas; R.D. 2230/1982, de 18 de junio, sobre Autopsias Clínicas; RD 664/1997, de 12 de marzo, sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo).
- 2) La sala dispondrá de área de vestuarios con duchas, zonas diferenciadas de circulación de personal, material, residuos, etc. de sucio y limpio. Debe estar aislada de zonas de tránsito general, así como poder aislarse del exterior (sistemas de cierre de puertas y ventanas).
- 3) Todos los Servicios de Anatomía Patológica y las áreas dedicadas a autopsias deberán contar con la preceptiva evaluación de riesgos laborales.
- 4) En cuanto a su dotación, dispondrá de mesa de autopsias con agua corriente y sistema de recuperación de residuos líquidos, e iluminación directa suficiente. Se dispondrá de una sierra, manual o mecánica oscilante, con sistema de aspiración y/o antiaerosol, pese a que no está demostrada la propagación aerógena del agente.
- 5) Todo el instrumental será, en la medida de lo posible, desechable, así como la ropa de trabajo (batas, delantales, máscaras).
- 6) Se evitará el paso de líquidos y otros materiales biológicos a través de los desagües durante la realización de la autopsia.
- 7) Se dispondrá de métodos de toma, almacenaje y congelación de tejido en fresco, para facilitar la realización de estudios moleculares.
- 8) El material reutilizable deberá desinfectarse de acuerdo con las recomendaciones de este documento, en su correspondiente capítulo. Los métodos de desinfección habrán de practicarse y estar disponibles en la propia área de autopsias o, en su defecto, en el mismo servicio de Anatomía Patológica. Una vez desinfectado, deberá guardarse en un armario destinado específicamente a este material, con objeto de separarlo y diferenciarlo del resto del utillaje empleado en otras autopsias.

9) Las instalaciones del mortuorio del hospital habrán de ser adecuadas a las normas legales citadas en el punto 1.

10) Con respecto a los recursos humanos, el hospital que realice este tipo de autopsias deberá disponer de personal suficiente, con cobertura horaria y diaria adecuada a las necesidades del servicio, y en el caso del personal (tanto facultativo como auxiliar) con el nivel de destreza y experiencia suficiente para realizar o colaborar en la realización de autopsias.

11) El establecimiento de circuitos de comunicación, remisión de cadáveres para realización de autopsias, órganos o tejidos en fresco, fijados o procesados histológicamente desde centros periféricos a centros territoriales, se establecerá desde cada Dirección Territorial, siguiendo las normas legales de policía mortuoria y, en su caso, las recomendaciones de la Guía para el transporte seguro de sustancias infecciosas y especímenes diagnósticos de la OMS (Organización Mundial de la Salud).

12) Lo mismo es de aplicación para la remisión desde centros periféricos o territoriales al centro de referencia supraterritorial.

En cuanto a la EEB, en función, principalmente, de las vías por las que se ha citado que podría transmitirse la enfermedad (y que podría hacerse extensible al resto de las EETs), el trabajo de laboratorio permitiría la supresión de la presión negativa, de la filtración HEPA del aire de salida y, puesto que los productos químicos gaseosos que se emplean para la desinfección no afectan a los priones, de la posibilidad de que el laboratorio se pueda precintar para su desinfección; sin embargo, en este punto último punto, habría que añadir que debería existir un plan de actuación para el caso de que se produjera un derrame importante de material infeccioso.

Según lo que se sugiere que sea suprimido como medida de contención, quedarían el resto de las medidas que la legislación española obliga para los laboratorios de nivel 3: “3. Solamente se permitirá el acceso al personal designado”, “5. Procedimientos de desinfección especificados”, “7. Control eficiente de vectores, por ejemplo, de roedores e insectos”, “8. Superficies impermeables al agua y de fácil limpieza para el banco de trabajo o mesa de trabajo y el suelo”, “9. Superficies resistentes a ácidos, álcalis, disolventes y desinfectantes”, “10. Almacenamiento de seguridad para agentes biológicos” y “14. Incinerador para destrucción de animales muertos (disponible)”.

Además, existen otras medidas que el R.D. 664/1997 considera como “aconsejables” para el nivel 3, que son: “1. El lugar de trabajo se encontrará separado de toda actividad que se desarrolle en el mismo edificio”, “11. Se instalará una ventanilla de observación o un dispositivo alternativo en las zonas de manera que se pueda ver a sus ocupantes” y “12. Laboratorio con equipo propio”. En cuanto a la medida número 12, en el caso de la EEB, debido a la resistencia del agente a los métodos convencionales de desinfección física y química, debería ser obligatoria para gran parte de los equipos, como pueden ser cabinas de flujo laminar, microtomos, o cualquier otro equipamiento de un laboratorio para el que una descontaminación superficial no resulte suficiente para un uso seguro posterior.

En cuanto al animalario donde se alojen animales inoculados experimentalmente (según el R.D. 664/1997, “locales destinados a animales de laboratorio, deliberadamente

*contaminados con agentes biológicos de los grupos 2, 3 ó 4”*), ateniéndose a la legislación española se han de seguir las mismas medidas de contención física que en los laboratorios.

No obstante, hay países, por ejemplo, el Reino Unido o Suiza, que consideran oportuno el mismo nivel de contención para los alojamientos de pequeños animales (roedores, conejos) que para los laboratorios; sin embargo establecen más que suficiente un nivel 1 para grandes animales (ovejas, bovinos). En este segundo caso, no obstante, admiten mayores niveles de aislamiento con el fin de prevenir la contaminación cruzada y en condiciones particulares cuando puede existir riesgo de mordiscos, arañazos y otros riesgos físicos procedentes de las especies de experimentación. También se contempla la posibilidad de tomar medidas adicionales en circunstancias tales como cuando se esperan encontrar concentraciones de infectividad por encima de las que ocurren de forma natural, cuando las vías de inoculación hacen posible la fuga de material infeccioso al exterior, en experimentos con animales genéticamente modificados. Pero en cualquier caso lo que sí establecen es un adecuado método de tratamiento de todos los residuos (animales, camas, heces, etc.), especialmente durante el periodo post-administración del inóculo.

Esta eliminación de determinadas barreras físicas sería igualmente aplicable al resto de la EET para las que legislación española exige un nivel 3(\*) de contención.

En lo que se refiere a los requerimientos físicos de otros locales como mataderos o salas de despiece, es suficiente cumplir con lo que exige en esta materia el REAL DECRETO 147/1993, de 29 de enero, por el que se establecen las condiciones sanitarias de producción y comercialización de carnes frescas, dado el escaso riesgo que para la colectividad (humana y/o animal) existe en estos ámbitos laborales.

## **VI. PRÁCTICAS DE TRABAJO Y EQUIPOS DE PROTECCIÓN PERSONAL**

Se consideran, en principio, una serie de precauciones básicas, que han de observar tanto los profesionales de instituciones hospitalarias y de investigación como los que intervienen en las diversas etapas de la producción animal, desde explotaciones, mataderos, salas de manipulación de los MER, salas de despiece e industrias de transformación de cadáveres, despojos y subproductos. A ellos habría que añadir el personal que trabaja en plantas incineradoras y los técnicos de mantenimiento de cualquiera de los lugares arriba mencionados. La medida más elemental en estos ámbitos laborales es evitar la contaminación de cortes y de las membranas mucosas, empleando técnicas de trabajo seguras y manteniendo los niveles más altos que sea posible de higiene personal y limpieza de todos los lugares de trabajo.

Cuando exista riesgo de exposición a materiales potencialmente infectados se aplicarán las siguientes precauciones:

- 1) Seguimiento estricto de unas prácticas de trabajo seguras y un cuidado especial en minimizar el uso de instrumental, utensilios y equipos que puedan ocasionar cortes, abrasiones o heridas punzantes.
- 2) Cuando sea inevitable el empleo de estos equipos, emplear las prendas de protección personal necesarias, como guantes de malla metálica al utilizar determinado instrumental en una autopsia o cuchillos en los mataderos.

- 3) Cubrir todas las heridas, abrasiones o lesiones de la piel existentes con materiales impermeables al agua.
- 4) Si se produjera algún corte o pinchazo, forzar el sangrado de la herida, luego lavar de manera cuidadosa con agua y jabón y vendarla con material sanitario impermeable.
- 5) Emplear protección de la cara (principalmente de ojos y boca) cuando exista el riesgo de salpicaduras; esta protección se puede ofrecer mediante una pantalla de protección facial.
- 6) Si ocurriera una salpicadura en los ojos o la cara, inmediatamente lavar con abundante agua.
- 7) Tomar las medidas necesarias para evitar la creación de aerosoles y polvo.
- 8) Lavarse las manos y la piel de otras zonas expuestas, antes de comer, beber, tomar alguna medicación, usar el teléfono o ir al aseo.
- 9) Limpiar las zonas y el equipo contaminados con agua caliente y detergente de manera regular.
- 10) Limpiar cuidadosamente las prendas de protección personal después de ser empleadas y almacenarlas en lugar separado del resto de la ropa; una alternativa es el uso de ropa desechable.

## **VI. 1. Explotaciones ganaderas**

El riesgo biológico es mínimo tanto para los ganaderos como para los veterinarios, teniendo que considerar más bien una serie de riesgos físicos derivados de los cambios de comportamiento de los animales enfermos.

Los veterinarios han de emplear siempre guantes en cualquier tipo de exploración interna y prestar especial precaución a la eliminación de las agujas. El REAL DECRETO 3454/2000, de 22 de diciembre, por el que se establece y regula el Programa Integral coordinado de vigilancia y control de las encefalopatías espongiformes transmisibles de los animales, en su capítulo III, contempla la posibilidad de la toma de muestras *in situ*, en caso de muerte del animal en la propia explotación. En estos casos, las prendas de protección personal que el veterinario deberá emplear son las siguientes: a) mono impermeable desechable, b) pantalla de protección facial, c) guantes de látex gruesos sobre otros guantes anticorte de malla, d) botas de caucho.

En el caso de cadáveres y residuos, este mismo R.D. establece la incineración o método que asegure su destrucción total, así como la limpieza y desinfección de las zonas de riesgo de la explotación con “hipoclorito”.

Estas medidas serían aplicables en el caso de otras instalaciones animales como, por ejemplo, parques zoológicos.

## **VI. 2. Mataderos**

El R.D. 3454/2000 no especifica ni métodos de trabajo ni métodos de limpieza y de desinfección (aunque sí indica que deban existir), ya que en materia de Sanidad Animal, son las diferentes CC.AA. las encargadas de llevar este control y seguimiento.

Para los operarios directamente implicados en el sacrificio de los animales de riesgo, se recomiendan las siguientes prendas de protección personal: a) ropa diferente a la de uso personal, b) cubrecabezas, c) delantal impermeable, d) botas de caucho, e) pantalla de protección facial, f) guantes de látex gruesos, g) otros de malla metálica en el momento de manejar los MER.

Los métodos de aturdimiento de los animales serán tales que impidan la extensión de la contaminación. Durante todo el proceso de sacrificio y despiece del animal se evitará la creación de aerosoles, así como la exposición del trabajador, en la medida de lo posible, a los MER.

El veterinario encargado de la toma de muestras se protegerá de la misma manera que la descrita para el de las explotaciones ganaderas. Similares medidas tomarán todas aquellas personas que actúen como asistentes.

Precauciones especiales se implementarán en el caso del manejo y transporte de los MER. Se extremarán las medidas de limpieza y higiene para todos aquellos en contacto con estos materiales, incluidos, por ejemplo, los transportistas durante la carga y descarga de los mismos. Estos trabajadores emplearán monos impermeables junto con guantes y pantallas de protección facial, equipos que deberán quitarse antes de acceder a la cabina del vehículo, durante otras tareas o cuando se encuentren en pausas laborales.

Cuando una adecuada desinfección no sea factible, bien por la resistencia de los agentes infecciosos o bien, y principalmente, porque resulte difícil de practicar (es el caso de contenedores, vehículos, superficies de trabajo, suelos) en los lugares expuestos a la contaminación por los MER, se recomienda una limpieza exhaustiva con abundante agua caliente y detergente, lo que dará lugar a una descontaminación por dilución.

### **VI. 3. Laboratorios de Diagnóstico**

En cuanto al personal que realiza el diagnóstico por técnicas no anatomopatológicas, las prendas de protección personal recomendadas son las siguientes: a) ropa exclusiva de trabajo que cubra todo el brazo, b) guantes, c) calzas o calzado de uso exclusivo para el laboratorio.

El empleo de cabina de flujo laminar de clase II es obligado al realizar actividades en las que se puedan producir aerosoles (como por ejemplo, homogeneización de las muestras). El uso de mascarilla, como medida adicional de protección, durante el trabajo en cabina es recomendable. Entre otras prácticas recomendables está la de emplear material de plástico en lugar de material de vidrio y evitar el empleo de objetos cortantes y/o punzantes, el no compartir determinados equipos con otros laboratorios, restringir el acceso de personal no autorizado, y, especialmente, la formación específica de las personas que trabajan en estos laboratorios de diagnóstico.

Para el personal destinado en laboratorios de diagnóstico anatomopatológico se seguirán las mismas normas y equipos de protección que más tarde se describen para los centros de investigación.

### **VI. 4. Instituciones donde se realice investigación**

Personal de Laboratorios (biología molecular, inmunología): los equipos de protección para este grupo son los siguientes: a) ropa diferente a la de calle y ausencia de cualquier objeto de uso personal (reloj, anillos, etc.), b) bata desechable de manga larga, c) guantes, d) pantalla de protección facial, e) calzado exclusivo de laboratorio.

Las actividades que entrañan un mayor riesgo, bien por la concentración del agente infeccioso (preparación de extractos de cerebro, purificación de la proteína) o bien por el tipo de manipulación (ultracentrifugación, homogeneización) se realizarán en cabina de flujo laminar de clase II (para lo que entonces la pantalla facial es substituida por una mascarilla) siempre que sea factible. Ningún aparato de este laboratorio será compartido con otro. En caso de equipamiento muy costoso (una ultracentrífuga, por ejemplo) se puede recurrir al uso de rotores exclusivos para manipulación de materiales contaminados con el agente de las EET.

Todo el equipo que se emplee será desechable y se evitará el uso de material punzante y/o cortante.

Personal de Laboratorios de Anatomía Patológica: los equipos de protección personal son los mismos que los indicados para los que trabajan en otros laboratorios de investigación, con algunas prendas añadidas ante riesgos particulares de este tipo de laboratorios, como son: a) guantes de nitrilo y b) máscara de protección respiratoria cuando exista riesgo por los productos químicos que se manipulan y c) guantes anticorte para la preparación de las muestras en las cassettes.

Todas las operaciones que impliquen manipulación de determinados productos químicos se harán en campana de extracción de gases. El equipo usado en este laboratorio no se compartirá con ningún otro. Todo el material a emplear será desechable.

Personal de Animalarios: empleo del mismo tipo de prendas que en los laboratorios diferentes a los de anatomía patológica, a excepción de la bata desechable, con cambio de ropa a diario y diferente para la manipulación de animales pertenecientes a otros experimentos y el calzado que consistirá en botas de caucho.

En el caso de la administración experimental de material infeccioso, además de la sedación del animal, se recomienda el uso de guantes de malla (para inoculaciones).

Personal de Necropsias: para el veterinario y auxiliares, éstas son las prendas de protección recomendadas: a) mono de manga larga, b) pantalones tipo *pescador* a los que van soldadas las botas de caucho, c) guantes de malla metálica encima de otros largos que cubran brazo y antebrazo, d) guantes de nitrilo sobre los de malla, e) casco con aporte de aire filtrado. Es importante la presencia de alguna persona no implicada directamente en la necropsia, como asistente, la cual llevará las siguientes prendas: a) mono de manga larga, b) pantalones tipo *pescador*, c) gafas de seguridad, d) guantes de látex gruesos, e) máscara contra partículas. Para el momento de la descontaminación de la sala se empleará máscara de protección respiratoria contra contaminantes químicos.

En el caso de necropsias de roedores y otros pequeños animales de laboratorio, las precauciones son similares a las ya definidas para el caso de las inoculaciones.

Si bien es una recomendación necesaria en cualquier tipo de trabajo, como ya se ha dicho, en caso de las necropsias de grandes animales, unos procedimientos normalizados escritos y una correcta planificación son imprescindibles para que el riesgo se reduzca al mínimo. Los métodos de trabajo son similares a los ya descritos, pero en este caso es aún más importante insistir en la formación del personal.

Personal de hospitales no contemplado en los grupos citados: se seguirán las instrucciones ya mencionadas establecidas por el INSALUD.

## **VI. 5. Hospitales**

Autopsias y personal de autopsias: lo mismo ya indicado en el apartado “Niveles de Contención”.

Laboratorios: idénticas condiciones que cualquier muestra de riesgo. Material adecuadamente etiquetado y posterior destrucción por cremación.

Exploraciones complementarias: restricción del uso de instrumentos en función del modo en que han de ser descontaminados. En caso de que la desinfección no pueda llevarse a cabo con los medios habituales, se procederá a la destrucción de dicho instrumental o de parte de los mismos (piezas de endoscopia).

Quirófanos: separación y cremación de todo el material desechable. Descontaminación del material en contacto con tejido nervioso o linfóide de los pacientes. Especial atención merecen las biopsias cerebrales (aunque no está indicadas y, en principio, no deben practicarse) y las biopsias amigdalares o apendiculares (en caso de sospecha de la vCJD)

## **VII. DESINFECCIÓN**

El citado R.D. 664/1997, en su Capítulo II, artículo 6. Reducción de riesgos, establece en su punto “e) *Utilización de medios seguros para la recogida, almacenamiento y evacuación de residuos por los trabajadores, incluido el uso de recipientes seguros e identificables, previo tratamiento adecuado*”. Por otro lado, cada CC.AA. tiene su legislación competente en materia de residuos biosanitarios.

Es de sobra conocida la resistencia de los priones a los métodos convencionales de desinfección. Por ello, es importante hacer énfasis en un adecuado sistema de limpieza previo a cualquier proceso descontaminación.

Hasta el momento sólo se han identificado como métodos eficaces la desinfección química con hipoclorito sódico con un 2% de cloro libre, aplicado durante una hora, hidróxido sódico 2M, durante una hora, ácido fórmico al 96% durante una hora (sólo para muestras histológicas) o autoclave de vapor durante 18 minutos a una temperatura de 134-137°C. Además, por supuesto, de la incineración. En el caso de instrumental quirúrgico también podrían estar indicados los ultrasonidos como método previo a la esterilización

Por lo que se refiere a los laboratorios de anatomía patológica veterinaria, la Veterinary Laboratories Agency británica, recomienda el hipoclorito sódico al 20%.

## VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Agrinst, A. What remedies for the ailing autopsy? *Journal of the American Medical Association*, 193: 806-808, 1965.
- Advisory Committee on Dangerous Pathogens. Bovine spongiform encephalopathy. Background and general occupational guidance. HSE Books, Sudbury, 1996.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC)/National Institutes of Health (NIH). Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. U.S. Department of Health and Human Services, Washington, 1999.
- Commission fédérale d'experts pour la sécurité biologique. Statement of the Swiss Expert Committee for Biosafety (EFBS) on the classification of work using prion genes and prion proteins. EFBS, Berna, 1999.
- CORRECCIÓN de erratas de la Orden de 25 de marzo de 1998 por la que se adapta en función del progreso técnico el Real Decreto 664/1997, de 12 de mayo, sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo. BOE nº 90, 15 de abril de 1998.
- DIRECTIVA 2000/54/CE DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO, de 18 de septiembre de 2000, sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo. DO L 262, 17 de septiembre de 2000.
- Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Guía Técnica para la evaluación y prevención de los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos. INST, Madrid, mayo, 2001.
- Knudsen, R.C. Risk assessment for biological agents in the laboratory. *Journal of the American Biological Safety Association*, 3(3): 99-104, 1998.
- LEY 29/1980, de 21 de junio, reguladora de las autopsias clínicas.
- Oficina Internacional de Epizootias. Código Zoosanitario Internacional. OIE, París, 2000.
- Oficina Internacional de Epizootias. Bovine spongiform encephalopathy. OIE, París, 2001.
- ORDEN de de 25 de mayo de 1998 por la que se adapta en función del progreso técnico el Real Decreto 664/1997, de 12 de mayo, sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos duante el trabajo. BOE nº 76, 30 de marzo de 1998.
- Organización Mundial de la Salud. Guía para el transporte seguro de sustancias infecciosas y especímenes diagnósticos. WHO, Ginebra, 1997.
- REAL DECRETO 664/1997, de 12 de mayo, sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo. BOE nº 124, 24 de mayo de 1997.
- REAL DECRETO 147/1993, de 29 de enero, por el que se establece las condiciones sanitarias de producción y comercialización de carnes frescas. BOE nº 61, 12 de marzo de 1993.
- REAL DECRETO 3454/2000, de 22 de diciembre, por el que se establece y regula el Programa Integral coordinado de vigilancia y control de las encefalopatías espongiiformes transmisibles de los animales. BOE nº 307, 23 de diciembre de 2000.
- REAL DECRETO 2239/1982, de 18 de junio, de desarrollo de la Ley de 21 de junio de 1980 reguladora de las Autopsias Clínicas.

- Sarazá, M.L. Servicio de Seguridad Biológica y Mantenimiento-Centro de Investigación en Sanidad Animal. Normativas para el trabajo con el agente de la BSE en laboratorios, animalario y sala de necropsias. CISA, 1998-2001.
- Sarazá, M.L., C. Sánchez y J.M. Sánchez-Vizcaíno. Biocontainment Procedures to Handle Prions. 43<sup>rd</sup> Biological Safety Conference, Washington, 22-25 de octubre de 2000.
- Sarazá, M.L. y J.M. Sánchez-Vizcaíno. Normas de seguridad biológica en la manipulación experimental de la EEB. IX Congreso Internacional de la Federación Mediterránea de Sanidad y Producción de Rumiantes, León, 31 de mayo-2 de junio, 2001.
- Sarazá, M.L. La Seguridad Biológica en el Laboratorio de Microbiología. Curso: Enfermedades transmisibles entre los animales y el hombre (zoonosis). Facultad de Veterinaria de León, 8-30 de octubre de 2001.
- Spongiform Encephalopathy Advisory Committee. Transmissible Spongiform Encephalopathy Agents: Safe Working and the Prevention of Infection. The Stationery Office, Londres, 1998.
- Veterinary Laboratories Agency. BSE and scrapie: Guidelines on safe working procedures in hispathology laboratories and post-mortem rooms. VLA-Weybridge, Surrey, 1999.