

## **LABORATORIOS DE ALTA SEGURIDAD BIOLÓGICA EN SANIDAD ANIMAL HIGH-SECURITY LABORATORIES FOR ANIMAL HEALTH**

Edwige Nina BELLIERE<sup>1</sup>

Tutor: José Manuel SANCHEZ-VIZCAÍNO<sup>2</sup>

<sup>1</sup>C.I.S.A. (Centro de Investigación de Sanidad Animal) Carretera de Algete al Casar s/n,  
28130 Valdeolmos (Madrid)

<sup>2</sup>Dpto. Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, UCM (Universidad Complutense de  
Madrid), Avda. Puerta de Hierro, s/n. 28040 Madrid.

### **RESUMEN**

En los laboratorios de alta seguridad biológica en sanidad animal se trabaja con agentes infecciosos animales de alto riesgo biológico y/o económico. Ello implica minimizar el riesgo de contacto de estos agentes tanto con el personal, como con el medio ambiente. Con la descripción del C.I.S.A. (Centro de Investigación en Sanidad Animal) se pretende resaltar que para conseguir una máxima biocontención es tan importante el diseño de la instalación como las normas de bioseguridad que ha de respetar el personal. El C.I.S.A., inaugurado en 1993 y situado en Valdeolmos (Madrid), realiza una labor de investigación y desarrollo para controlar enfermedades víricas animales de interés e impacto económico. En este trabajo se presentarán la ubicación y el diseño de la instalación, cómo entran el personal, las muestras biológicas y los animales, la estancia en la zona biocontenida y la obligada descontaminación de todo a su salida (aire, efluentes, personal, material, cenizas).

Palabras claves: normas de bioseguridad, biocontención, agentes infecciosos animales, riesgo biológico, acceso restringido.

### **INTRODUCCIÓN**

Existen varias grandes instalaciones de alta seguridad biológica de salud animal, y para explicar su funcionamiento se tomará el C.I.S.A. (Centro de Investigación en Sanidad Animal) como ejemplo. La “Seguridad biológica” se podría definir como protección, y se consigue por tres vías: buenas prácticas de laboratorio, E.P.I.s (equipos de protección individual) y diseño de la instalación, Sarazá (2004).

A diferencia de la salud humana, no existe una clasificación internacionalmente reconocida de los agentes biológicos animales de acuerdo con su patogenicidad. Sin embargo, existen recomendaciones de los principales laboratorios de alta seguridad en sanidad animal que se citan a continuación:

- N.C.F.A.D. (National Centre for Foreign Animal Disease) en Winnipeg, Canadá
- P.I.A.D.C. (Plum Island Animal Disease Center), en Greenport, Estados Unidos
- I.A.H. (Institute for Animal Health), en Pirbright, Reino Unido
- I.V.I. (Institute of Virology and Immunoprophylaxis, Mittelhausern, Suiza)
- C.I.S.A., Valdeolmos, España
- C.V.I. (Central Veterinary Institute), Lelystad, Holanda
- A.A.H.L. (Australian Animal Health Laboratory), Geelong, Australia.

Estos laboratorios, en el primer congreso veterinario internacional de bioseguridad (F.I.V.B.W., First International Veterinary Biosafety Workshop), fijaron con la O.I.E. (Oficina Internacional de Epizootias) las características para clasificar los patógenos animales en cuatro grupos, Barbeito et al. (1995). Van desde el I donde se agrupan agentes enzoóticos no sometidos a control, hasta el IV donde están agentes zoonóticos. Pasando por los grupos II y III, que incluyen organismos patógenos de control oficial cuyo riesgo de difusión es bajo (grupo II) o moderado (III), Gasca Arroyo (2004). A cada grupo le corresponde su nivel de contención biológica (NCB), siendo los niveles 3 y 4 de alta seguridad biológica. En la tabla 1 se reflejan los principales criterios tomados por el CISA para ubicar un agente en el NCB 3 o 3+, con los más relevantes en negrita.

NCB3	NCB3+ (correspondiente a un NCB4)
<b>Pueden infectar un número amplio de ganado, aves y humano</b>	<b>Enfermedad zoonótica</b>
enfermedad seria	alto riesgo para el personal
tratamientos profilácticos y/o terapéuticos escasos con efectos limitados	sin profilaxis ni tratamiento eficaz tanto para animal como para humanos
consecuencias económicas <b>superiores a los 50 millones de dólares americanos</b> y/o consecuencias clínicas graves	consecuencias económicas y/o clínicas de la enfermedad son graves
<b>fácilmente transmitido por aerosoles</b>	<b>rápidamente transmitido por aerosoles o por artrópodos</b>
enfermedad exótica o enzoótica en el país	enfermedad exótica o enzoótica en el país

Tabla 1: datos del F. I. V. B. W. Barbeito et al. (1995) y del Código sanitario para los animales terrestres de la O.I.E. ([http://www.oie.int/esp/normes/mcode/es\\_index.htm](http://www.oie.int/esp/normes/mcode/es_index.htm)).

## **PRESENTACIÓN DEL C.I.S.A.**

El C.I.S.A. pertenece al I.N.I.A. (Instituto Nacional de Investigación y tecnología Agraria) y depende del M.E.C. (Ministerio de Educación y Ciencia). Inaugurado en 1993, fue el primer laboratorio de alta seguridad biológica en España, y está considerado como gran instalación científica española desde 1995.

Su labor principal es de investigación y desarrollo tecnológico para ayudar al control y erradicación de enfermedades infecciosas transfronterizas, de interés económico y de alto riesgo para la sanidad animal. En este sentido, es laboratorio mundial de referencia (W.R.L. World Reference Laboratory) para la O.I.E. de Peste Porcina Africana y Peste Equina Africana. Además, coopera con el M.A.P.A. (Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación) como laboratorio nacional de referencia para Peste Porcina Africana, Peste Porcina Clásica, Enfermedad Vesicular Porcina y Lengua Azul.

Para ello, la zona de alta seguridad biológica consta de dos niveles de biocontención: el NCB3 donde se desarrollan la casi totalidad de las líneas de investigación y el NCB3+ para agentes zoonóticos como son: el Virus de la Fiebre del Valle del Rift y el Virus del Nilo Occidental.

## **DESCRIPCIÓN DEL DISEÑO, LAS NORMAS DE BIOSEGURIDAD, Y E.P.I.s**

Aunque dentro del término general de “bioseguridad” se incluye el de “biocontención”, para esta sección es importante definir estos dos conceptos. La bioseguridad se refiere a las prácticas llevadas a cabo por el personal, mientras que la biocontención engloba aquellas características que proporciona la instalación como es la estructura del edificio.

Según la legislación española, en el Real Decreto 664/1997 del 12 mayo, anexo IV, sobre protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo, vienen descritas las medidas de biocontención de los NCB 3 y 4 ([http://noticias.juridicas.com/base\\_datos/Laboral/rd664-1997.html#anexo6](http://noticias.juridicas.com/base_datos/Laboral/rd664-1997.html#anexo6)). Se exponen en la tabla 2 y algunas de ellas se reflejarán en este trabajo.

A. Medidas de contención	B. Niveles de contención	
	3	4
1. El lugar de trabajo se encontrará separado de toda actividad que se desarrolle en el mismo edificio	Aconsejable.	Sí.
2. El aire introducido y extraído del lugar de trabajo se filtrará mediante la utilización de filtros de alta eficacia para partículas en el aire (HEPA) o de forma similar.	Sí, para la salida de aire.	Sí, para la entrada y la salida de aire.
3. Solamente se permitirá el acceso al personal designado.	Sí.	Sí, con exclusión de aire
4. El lugar de trabajo deberá poder precintarse para permitir su desinfección.	Aconsejable.	Sí.
5. Procedimientos de desinfección especificados.	Sí.	Sí.
6. El lugar de trabajo se mantendrá con una presión negativa respecto a la presión atmosférica.	Aconsejable.	Sí.
7. Control eficiente de vectores, por ejemplo, de roedores e insectos.	Sí.	Sí.
8. Superficies impermeables al agua y de fácil limpieza.	Sí, para el banco de pruebas o mesa de trabajo y el suelo.	Sí, para el banco de pruebas o mesa de trabajo, el suelo, las paredes y los techos.
9. Superficies resistentes a ácidos, álcalis, disolventes y desinfectantes.	Sí.	Sí.
10. Almacenamiento de seguridad para agentes biológicos.	Sí.	Sí, almacenamiento seguro
11. Se instalará una ventanilla de observación o un dispositivo alternativo en las zonas de manera que se pueda ver a sus ocupantes.	Aconsejable.	Sí.
12. Laboratorio con equipo propio.	Aconsejable.	Sí.
13. El material infectado, animales incluidos, deberá manejarse en una cabina de seguridad biológica o en un aislador u otra contención apropiada.	Sí, cuando la infección se propague por el aire.	Sí.
14. Incinerador para destrucción de animales muertos.	Sí (disponible).	Sí, en el mismo lugar.

Tabla 2: medidas de biocontención correspondientes a los NCB3 y 4.  
([http://noticias.juridicas.com/base\\_datos/Laboral/rd664-1997.html#anexo6](http://noticias.juridicas.com/base_datos/Laboral/rd664-1997.html#anexo6))

Tomándose como punto de vista el de un trabajador en la sección de laboratorios, se quiere resaltar siete características principales referidas a la biocontención y la bioseguridad de este centro.

Estos puntos son los siguientes:

- Ubicación del centro
- Diseño
- Entrada de personal
- Estancia en la zona de laboratorios del NCB-3
- Salida del personal
- Proceso de entrada y de descontaminación de reactivos y muestras para su salida
- Descontaminación de material no biológico para su salida
- Entrada de animales y salida de cenizas

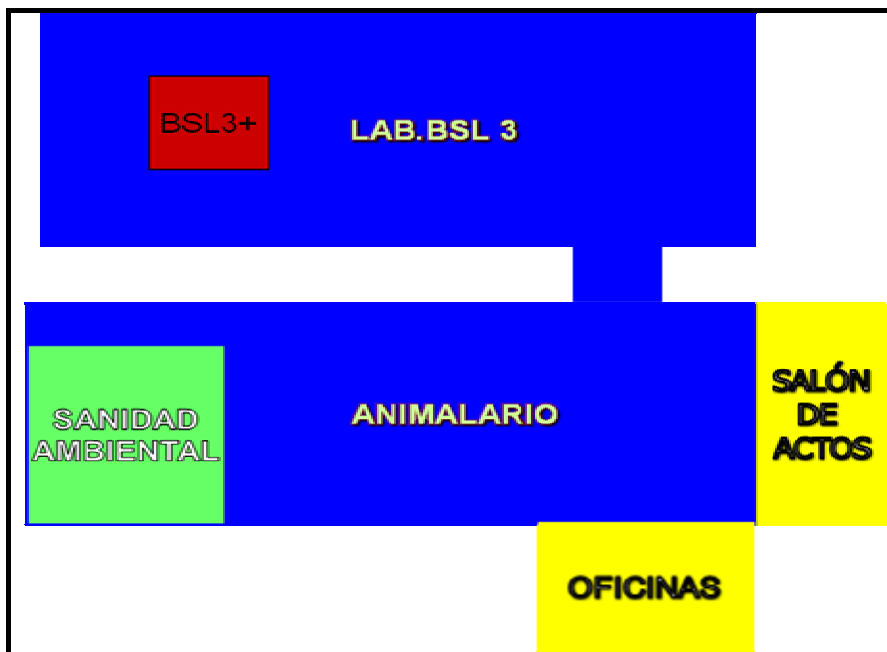
#### Ubicación del centro

Esta construcción está a 40 Km al norte de Madrid. Además, está aislada de la localidad más próxima: Valdeolmos, por una finca de 34 hectáreas rodeada de un doble vallado. La entrada es única, señalada con un cartel identificativo, y vigilada las 24 horas del día por un servicio de seguridad y una cámara de vídeo. Una vez dentro, un vehículo recorrerá unos 200m hasta llegar a una caseta de seguridad con barrera, donde sólo es permitida la entrada al personal autorizado, cuyos datos identificativos constarán en registro.

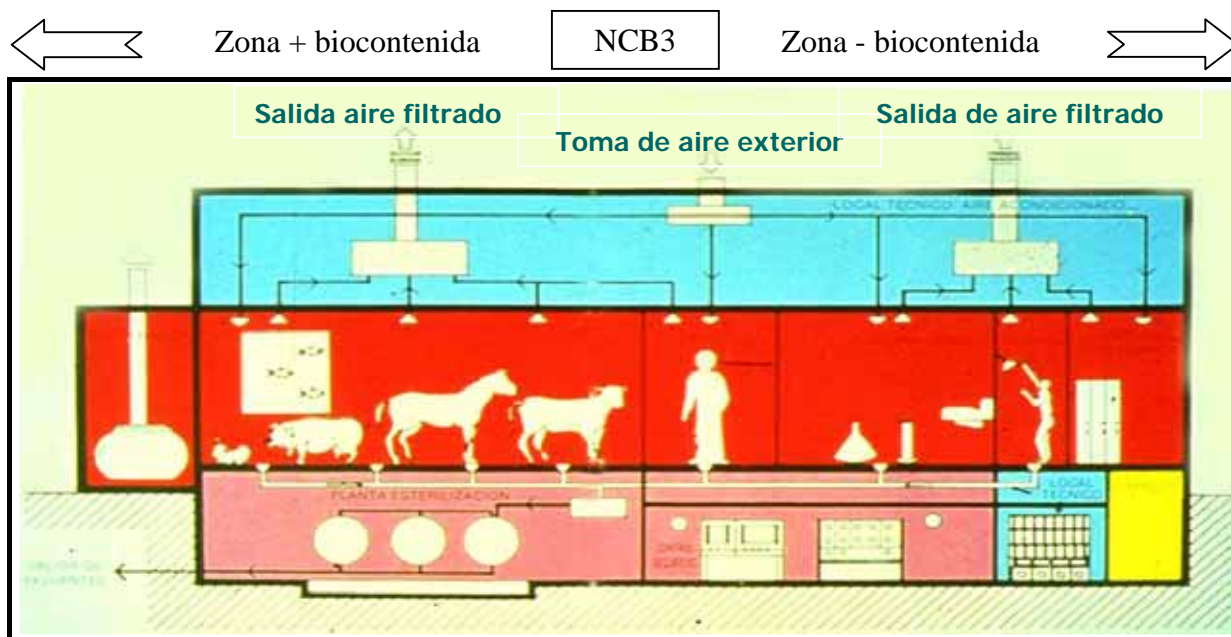
#### Diseño de la instalación

En esta instalación se distinguen varias zonas. Fuera de la zona biocontenida están los laboratorios NCB2 de sanidad ambiental, la cafetería externa, la administración y el salón de actos. Dentro de la zona de alta seguridad biológica (BSL 3, Biosafety level 3) que mide 10824 m<sup>2</sup>, hay 28 laboratorios (dos son de nivel 3+), 14 salas comunes y 21 boxes de animalario (tres son de nivel 3+), (Dibujo 1).

El diseño está basado en el concepto “caja dentro de caja”. Este se ilustra por una parte con el diseño “Sandwich”, denominado así porque la planta de los laboratorios y el animalario, que es la más biocontenida, está entre las dos plantas técnicas (Dibujo 2). Y por otra parte por la ubicación de los dos laboratorios NCB3+ al centro de la zona de laboratorios NCB3 (Dibujo1).



Dibujos 1: los laboratorios NCB3+ (rojo) están al centro de la zona de laboratorios NCB3 (Dibujos cedidos por Marisa ARIAS, directora técnica del C.I.S.A.).



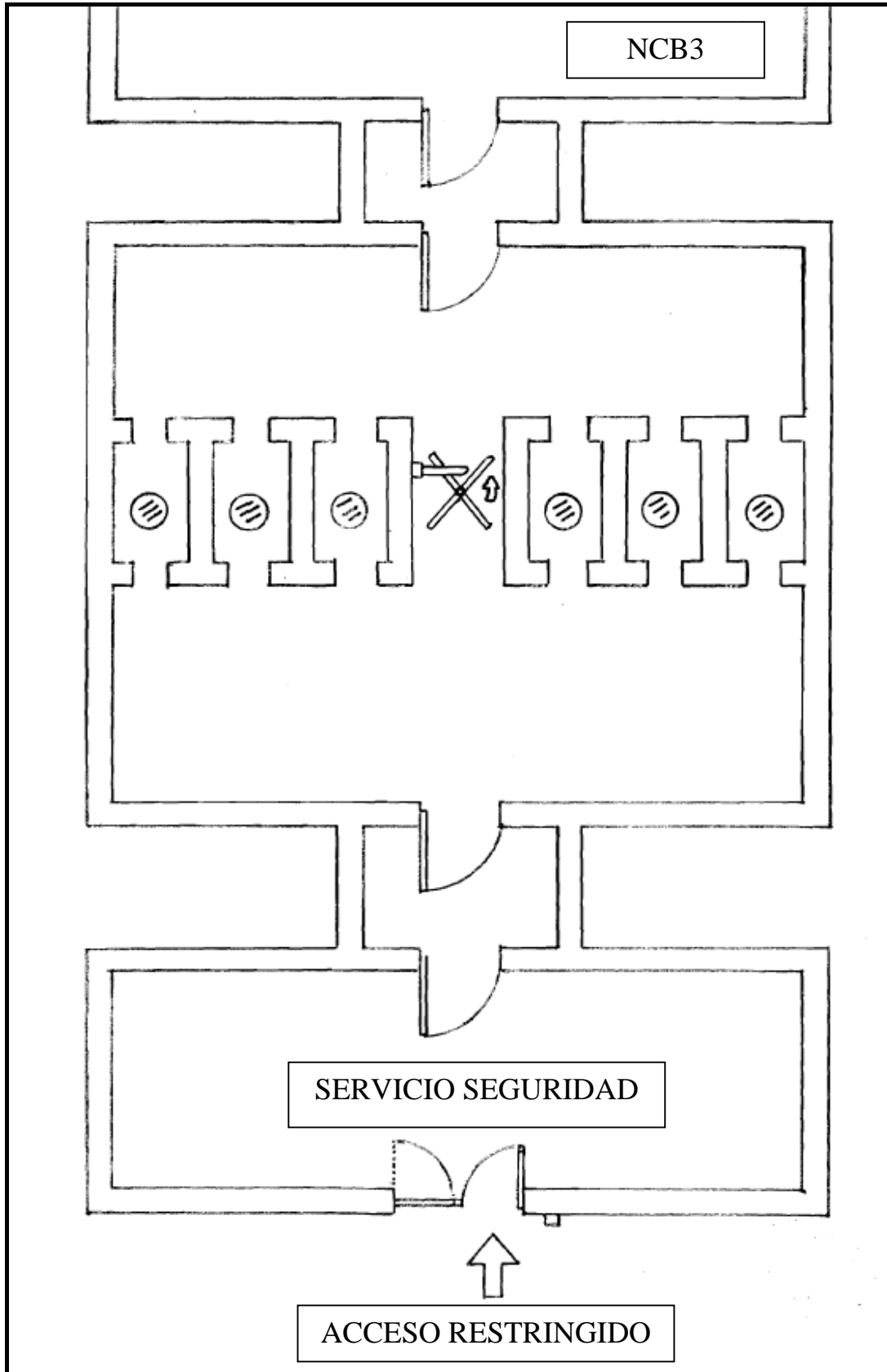
Dibujos 2: Diseño "Sandwich" del CISA, con la zona de mayor biocontención en el centro (Dibujos cedidos por Marisa ARIAS, directora técnica del C.I.S.A.).

Para que estén retenidas todas las partículas del aire dentro de la instalación, se mantienen unos gradientes de presión negativa unidireccionales que van desde  $-30$  a  $-120$  pascales de la zona menos a la más biocontenida (laboratorios 3+, sala de necropsias y boxes 3+). Para conseguir la hermeticidad del edificio, la estructura es de hormigón armado y todas las juntas selladas y estancas. En la planta técnica superior se filtra el aire, tanto el entrante como el saliente. Este último pasa por filtros H.E.P.A. (High Efficiency Particulate Air) que retienen cualquier partícula. En la inferior se procede a la esterilización de efluentes líquidos y sólidos químicamente (tratamiento con peróxido de hidrógeno) y térmicamente ( $135^{\circ}\text{C}$ , 20 minutos). En esta planta, en la “zona del almacén” se procede a la entrada y salida tanto de material como de muestras, a través de sistemas de doble puerta como air lock (exclusas), s.a.s. (surface aire system), autoclaves de vapor y de óxido de etileno, sistemas más detallados en el quinto apartado.

#### Entrada del personal

Además de una buena biocontención es fundamental, en un NCB3 el entrenamiento del personal. Un trabajador nuevo recibirá un curso de formación y además, será acompañado los tres primeros días por un responsable que le vigilará en los procesos de entrada y salida. En esta etapa deberá aprender el concepto fundamental de las zonas biocontenidas que es “todo puede entrar pero nada puede salir sin previa descontaminación”.

La entrada se realiza mediante introducción de un código de acceso y registro del servicio de vigilancia interior (Dibujo 3). Las personas deberán estar identificadas mediante un pase que les autorizará para determinadas estancias. Deberá dirigirse hacia el vestuario de mujeres o de hombres, donde está señalizada, con el logotipo “*biohazard*” (riesgo biológico) la zona NCB3. Son dos puertas de acceso consecutivas, y se cerrará la primera antes de abrir la segunda para mantener estable la diferencia de presión entre dos zonas de diferente riesgo (Dibujo 3). El vestuario externo corresponde a la “zona limpia”. Allí el personal dejará en su taquilla la ropa y todos los objetos personales, exceptuando las gafas (foto1). También podrá introducir comida y bebida en envases desechables. Una vez la persona esté totalmente desnuda, pasará por un torno de sentido único. El trabajador tendrá a disposición en su taquilla ropa de trabajo incluyendo ropa interior y calzado. Cada categoría profesional lleva un uniforme de un color, siendo el blanco para el personal de laboratorio (foto2).



Dibujo 3: Vestuario femenino





Foto 1: Trabajadora dejando su ropa y objetos personales en la taquilla exterior.



Foto 2: Mujer del cuerpo de limpieza en el vestuario interno (uniforme azul)

En el caso de haber introducido cualquier objeto de valor, se deberá entregar al personal de seguridad biológica que lo descontaminará en el autoclave de óxido de etileno. Para salir del vestuario se debe atravesar otra vez un sistema de doble puerta, cerrando la primera antes de abrir la segunda (dibujo3).

#### Estancia en la zona de laboratorios del NCB-3

En la zona biocontenida están perfectamente aisladas las diferentes zonas de trabajo, que son: las plantas técnicas superior e inferior, el animalario y los laboratorios. El personal, cuya vestimenta permite reconocer a qué zonas tiene acceso, deberá respetar normas estrictas de trabajo cuyo incumplimiento supondría severas represalias. Una de ellas, fundamental, es que los trabajadores del animalario no tengan acceso a los laboratorios, ya que es el único sitio del centro donde el personal tiene contacto directo con los virus “in vivo”. Esto implica mayores normas de bioseguridad en esta zona como son la ducha al salir de un box o de la sala de necropsias.

En la zona de laboratorios, el personal manipulará virus vivo en cabina biológica de flujo laminar de clase II, por lo que el paso de laboratorio a animalario también está restringido pero presenta menos riesgo de contaminación cruzada que en el sentido inverso. Teniendo en cuenta que al salir del animalario no se deberá acceder de nuevo a la zona de laboratorios.

Para evitar contaminaciones cruzadas entre laboratorios, estos están perfectamente aislados unos de otros por puertas estancas. Además, el personal deberá quitarse todos los EPIs (guantes, mascarilla) al pasar de un laboratorio a otro. Un aspecto común a todas las zonas de trabajo es la separación de basura porque la descontaminación se hará en función de la composición del residuo. Son cuatro cubos: para vidrio, papel de aluminio, plástico y papel, estando pegado en la puerta de cada laboratorio un cartel explicativo.

El personal de laboratorio accederá a la zona de laboratorios de nivel 3 y zonas comunes. Siendo necesaria una autorización adicional para entrar en los laboratorios NCB-3+, de priones y de radioactividad. A los laboratorios NCB-3+, el acceso es con código secreto debido a un mayor riesgo para el personal. Este deberá vestirse con EPIs de mayor protección como son: gafas y mono, o incluso trajes de presión positiva. Deben entrar al menos dos personas y no pueden estar más de dos horas dentro. Disponen de un teléfono y como medida adicional de precaución, sus compañeros les podrán observar a través de un monitor. Al salir pasarán por ducha, siendo ésta química en caso del uso de traje de presión positiva.

#### Proceso de descontaminación del personal para su salida

La salida del personal guardará las siguientes normas. En el vestuario es obligatorio lavarse las manos, cepillarse las uñas, expectorar y sonarse la nariz, y las gafas deberán permanecer unos minutos en ácido acético. La ropa diaria se echará a lavar y el personal pasará necesariamente por una ducha que se abrirá al cabo de 3 minutos, para acceder al vestuario externo (dibujo 3).

#### Proceso de entrada y de descontaminación de reactivos y muestras para su salida

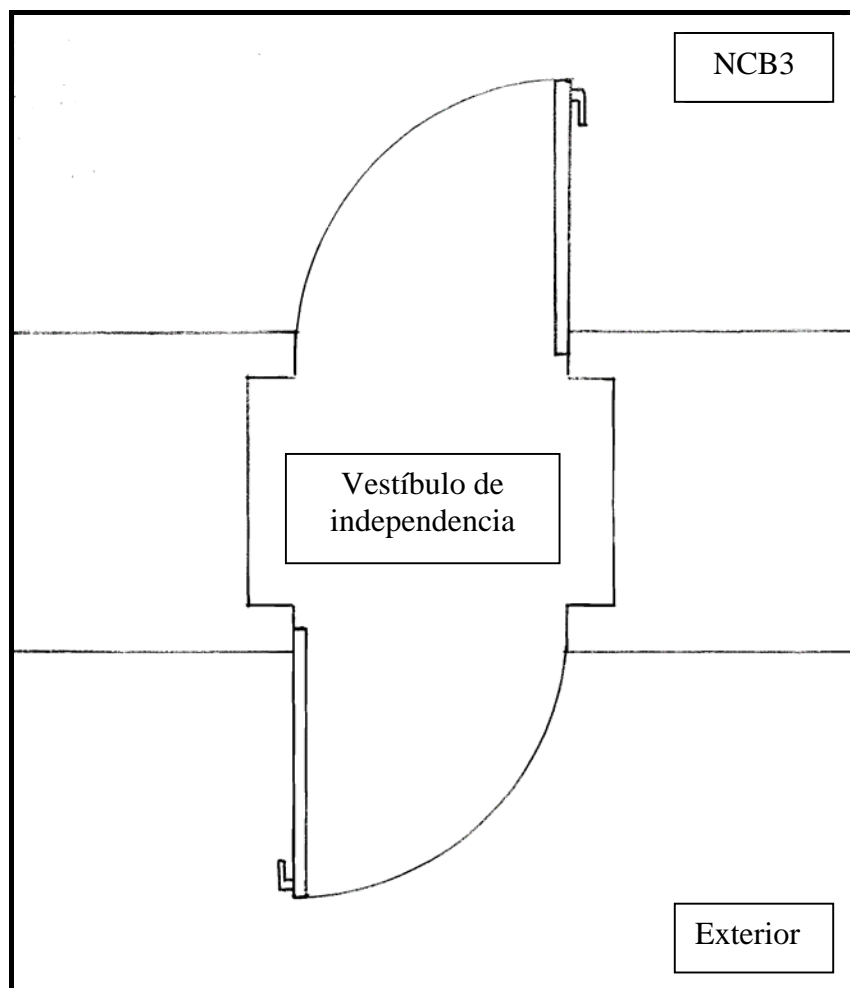
El material biológico estará adecuadamente empaquetado e identificado como material biológico infeccioso, si lo es. El equipo de seguridad biológica es el encargado de introducirlo o de descontaminarlo para su salida. Estos procesos tendrán lugar a través de un sas. Es un sistema de doble puerta de descontaminación química superficial.

Para introducir muestras y reactivos, se abrirá la puerta en contacto con el exterior y se depositarán las muestras en el vestíbulo de dependencia (foto 3). Una vez cerrada esta puera, se abrirá la que está en contacto con el NCB3 (dibujo 4).

Para sacar muestras o reactivos, el proceso es idéntico, sólo que antes de abrirse la puerta exterior, el material habrá sufrido una descontaminación superficial con hipoclorito sódico, seguida de un aclarado con agua.



Foto 3: Puerta exterior del sas. (Foto cedida por Marisa Arias, directora técnica del CISA)



Dibujo 4: Esquema del funcionamiento del sas

## Descontaminación de material no biológico para su salida

En la zona del almacén, además del sas, hay otros sistemas de descontaminación que son tres autoclaves y un air lock. Dos son autoclaves de vapor: uno grande para descontaminar embalajes de plástico y porexpan, y otro pequeño, para las bandejas de cafetería. Es la descontaminación más barata. El tercer autoclave es de óxido de etileno para objetos delicados que no puedan ser tratados por vapor como cámaras de fotografía u otros objetos de valor. Este gas es nocivo y caro.

También hay un air-lock para objetos de gran volumen donde la descontaminación se hace con Virkon® líquido o con peróxido de hidrógeno, gas no nocivo vaporizado. El Virkon® se usará para descontaminar equipos como frigoríficos o centrifugas, y otros objetos grandes como garrafas de plástico de 20 L o palets de madera.

## Entrada de animales y salida de cenizas

Para finalizar, también es interesante explicar cómo entran y salen los animales. Entran por un air lock separado de la zona del almacén, y cuya entrada da directamente al animalario, es decir a la planta intermedia.

El incinerador está contiguo a la sala de necropsias. Allí se recogen las cenizas en bolsas de autoclave, se descontaminan en un air lock con Virón®, cuya segunda puerta se abre a la altura del almacén (planta baja). Una vez descontaminadas, estas bolsas se almacenan en cartones en el almacén y saldrán por el air lock antes mencionado. Allí sufrirán una descontaminación por peróxido de hidrógeno nebulizado (así el cartón no se estropea).

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a José-Manuel Sánchez Vizcaíno, catedrático del dpto. de Sanidad Animal de la U.C.M. por dirigir este trabajo.

A Marisa Arias, directora técnica del CISA, por las ilustraciones cedidas.

A Belén Vázquez Ruiz, coordinadora de diagnóstico de enfermedades exóticas, por su asesoramiento para enfocar los puntos críticos de bioseguridad del NCB3.

Y a Begoña Giráldez Alonso, jefe de Equipo de Seguridad Biológica, por sus explicaciones a cerca de la entrada y salida de material en la zona biocontenida.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Gasca, A. El laboratorio de análisis veterinarios. Organización y funciones. En: Diagnóstico de enfermedades de declaración obligatoria. Córdoba. Junta de Andalucía, consejería de Agricultura y Pesca. 2004. (11-24)

Sarazá, M. L. La seguridad biológica en el laboratorio. En: Diagnóstico de enfermedades de declaración obligatoria. Córdoba. Junta de Andalucía, consejería de Agricultura y Pesca. 2004. (25-30)

Barbeito, M.; Abraham, G.; Caims, P.; Langevin, P.; Sterritt, W.; Barr, D.; Meulepas, W.; Mebus, C.; Sánchez-Vizcaíno, JM.; Saraza, M.; Thompson, L. (1995). Recommended biocontainment features for research and diagnostic facilities where animal pathogens are used. Rev. sci.tech.OIE. 14(3), 873-887.

[http://www.oie.int/esp/normes/mcode/es\\_index.htm](http://www.oie.int/esp/normes/mcode/es_index.htm)

[http://noticias.juridicas.com/base\\_datos/Laboral/rd664-1997.html#anexo6](http://noticias.juridicas.com/base_datos/Laboral/rd664-1997.html#anexo6)