



Versión 4

7 de octubre de 2014

Este documento está en revisión y actualización permanentes de acuerdo con los cambios en la situación epidemiológica y recomendaciones nacionales e internacionales. Consulte la página de INEI/ANLIS para actualizar la última versión

Recomendaciones de prácticas bioseguras para personal de laboratorio clínico para el manejo de especímenes de pacientes con sospecha de enfermedad por virus Ebola (EVE)

El objetivo de este documento es realizar recomendaciones sobre la manipulación de muestras biológicas de pacientes con sospecha de EVE

El ámbito de aplicación son los laboratorios de los hospitales designados para la atención de casos de EVE por la autoridad sanitaria de la jurisdicción correspondiente.

Vías de transmisión

Las principales vías de transmisión son el contacto directo con sangre, secreciones u otros fluidos corporales, tejidos u órganos de personas vivas o muertas infectadas y el contacto directo con objetos que se han contaminado con fluidos corporales de los pacientes. El virus se ha aislado de semen hasta 80 días después del comienzo de la enfermedad.

Los pacientes asintomáticos no transmiten la infección; la transmisibilidad se incrementa con la evolución de la enfermedad. También se transmite por la manipulación de cadáveres.

Aunque no se ha documentado transmisión por vía aérea, tampoco se ha descartado; por lo tanto se recomiendan prácticas de protección para la transmisión por aerosoles.

El virus es estable a temperatura ambiente o a 4°C durante 3 días, en medio líquido o seco, e indefinidamente a -70°C. Las muestras de pacientes tienen una alta carga viral y además, la dosis infectiva es baja, en primates no humanos se demostró una dosis infectiva de 1-10 organismos.

Clasificación de riesgo y prácticas de laboratorio

Los laboratorios que reciban muestras de pacientes bajo investigación por sospecha de enfermedad por virus Ebola (EVE) deben ser advertidos de que el manejo impropio de las mismas implica un riesgo serio para la salud de todo el personal, profesional, auxiliar y de limpieza.



El virus del Ébola se clasifica como agente patógeno del Grupo de Riesgo 4, de acuerdo con la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Estos son agentes que constituyen un riesgo individual y poblacional elevado, suelen provocar enfermedades graves en seres humanos o animales, se transmiten fácilmente de un individuo a otro directa o indirectamente y, en general, no existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces. De acuerdo con esta clasificación, no se debe realizar aislamiento viral o utilizar animales de experimentación fuera de un laboratorio de Bioseguridad nivel 4 (BSL-4).

Además, este virus está clasificado el Grupo 1 de agentes patógenos con alto riesgo de ser utilizado maliciosamente con potencial de causar grave daño comunitario ⁽¹⁾

Los niveles de bioseguridad se definen en función de una combinación de prácticas y técnicas de laboratorio, equipamiento e infraestructura de laboratorio que esté acorde con las operaciones realizadas, el grupo de riesgo al que pertenece el agente infeccioso y el análisis de riesgo.

El nivel de contención mínimo para el manejo de muestras para diagnóstico es el nivel 2 (BSL-2) con prácticas operativas de nivel 3. Debido a la naturaleza de la EVE se recomiendan imperiosamente el empleo de las prácticas operativas especiales que se detallan a continuación.

1. Protección del Personal

Recomendaciones generales

- Para la protección adecuada al personal de salud que realiza las pruebas de laboratorio sobre muestras de pacientes con sospecha de EVE se recomienda que una comisión de profesionales de laboratorio, responsables de medicina preventiva y responsables clínicos del área de enfermedades infecciosas realicen un adecuado análisis de riesgo para implementar las recomendaciones de bioseguridad y establecer los procedimientos que aseguren el adecuado manejo de las muestras.
- El laboratorio debe disponer permanentemente de todos los elementos de protección personal (EPP) y desinfectantes descritos en este documento así como de Cabina de Seguridad Biológica II (CSB II) certificada
- Se debe designar un área para la recepción de muestras separada del área común de recepción que cuente con CSBII y, en lo posible, con centrífuga con cierre hermético, lavatorio para manos, y lugar exclusivo para almacenaje provisorio de muestras.
- Se debe acordar previamente un horario de trabajo en el laboratorio en el cual no haya procesamiento de muestras y con la menor cantidad de personal posible.



- Se debe mantener un registro escrito de todo el personal involucrado en las pruebas de laboratorio con fecha y análisis realizados por cada persona.
- No deben trabajar con estas muestras mujeres embarazadas, personas inmunodeprimidas o con lesiones en la piel ni en otra áreas expuestas
- Los hombres no deben usar barba para garantizar la correcta colocación y protección de máscaras y respiradores.
- No se debe utilizar esmalte para uñas o uñas artificiales, ni utilizar bijouterie o reloj pulsera.
- No se deben llevar celulares a las áreas con pacientes o procesamiento de muestras.
- Se debe mantener adherencia estricta a las medidas de precaución estándar, para transmisión por sangre y para transmisión por aerosoles.

Uso de Equipos de protección personal (EPP) para personal del Laboratorio Clínico

- ✓ La selección del equipo de protección personal a utilizar depende del grado de exposición.
- ✓ La eficacia de la protección esperada depende de observar cuidadosamente las indicaciones de colocación, retiro y desinfección de todos los EPP y estricto lavado de manos antes y después del uso de los EPP.
- ✓ En caso de que por razones operativas el personal de laboratorio deba ingresar al área de aislamiento o entrar en contacto con el paciente seguir las recomendaciones sobre uso de EPP del documento *Prevención y control de infecciones para casos sospechosos de enfermedad por el virus del Ébola (EVE)* del Ministerio de Salud ⁽²⁾

EPP recomendados

- Bata (EJ: Tychem) o camisolín laminado impermeable sobre el ambo de trabajo.
- Para protección de cabeza y rostro elegir una de las siguientes alternativas:
 - Capucha completa (ej. 3M 0446) más antiparras, más respirador para partículas (ej. N95 o N100 ó tipo FPP2/FPP3) más careta completa.
 - Cofia para cabeza, antiparras y respirador N95 o N100/FPP2/FPP3 y careta completa.



- Doble par de guantes: 1º par de látex o nitrilo; 2º par de guantes de látex. Los guantes deben cubrir hasta el antebrazo del mameluco.
- Zapato cerrado resistente a cortopunzantes y cubrecalzado o botas de goma, el mameluco debe cubrir la bota por fuera.

Recomendaciones de uso.

- Para la correcta colocación, uso y disposición final de los EPP ver documento de *Prevención y control de infecciones para casos sospechosos de enfermedad por el virus del Ébola (EVE)*, Ministerio de Salud de la Nación ⁽²⁾
- Para más información ver *OPS toma segura de muestras* ⁽³⁾ y *Sequence for putting and removing personal protecting equipment* ⁽⁴⁾

- Lavarse las manos cuidadosamente con agua y jabón antes y después de utilizar los EPP
- Colocar los elementos en forma secuencial verificando que brinden la protección adecuada: protección de cabeza y cuerpo, cara, manos.
- Destinar un área cercana a la salida para el retiro y descontaminación de los EPP.

Retiro de EPP

Es fundamental el cuidado evitando el contacto de áreas potencialmente contaminadas con la piel.

- ✓ Quitarse el par de guantes externo y descartar en bolsa roja.
- ✓ Rociar la ropa de Tychem con desinfectante en forma descendente desde la cabeza a los pies, incluyendo la suela del calzado (este procedimiento debe realizarlo una persona a otra). Todo el equipo debe ser empapado en la solución desinfectante.
- ✓ Quitarse los EPP de forma de evitar el contacto con la piel y cabello, especialmente cualquier zona de la cara.
- ✓ Quitarse el segundo par de guantes.
- ✓ Disponer los EPP para su descontaminación o eliminación ⁽²⁾
- ✓ Lavarse las manos inmediatamente después de quitarse todos los EPP con abundante agua y jabón.



2. Manejo de muestras de pacientes bajo investigación

Las pruebas de laboratorio de rutina que incluyen la química tradicional, hematología, y otras pruebas de laboratorio deberán limitarse a las mínimas imprescindibles para diagnóstico y manejo clínico del paciente.

Se tomarán muestras para el diagnóstico de EVE y diagnósticos diferenciales que serán enviadas al INEI/ANLIS "Carlos G Malbrán" según *INEI-procedimiento de toma y envío de muestras* ⁽⁵⁾

Los diagnósticos diferenciales que podrán ser realizados en el INEI-ANLIS "Dr. C. G. Malbrán" son Malaria, Leptospirosis, Dengue y Fiebre Amarilla a solicitud del médico tratante.

Ninguna muestra de pacientes con sospecha de EVE puede ser manipulada sobre mesada.

Aquellas prácticas con el potencial de generación de aerosoles (ej. pipeteo, centrifugación, aspiración, preparación de portaobjetos) deben ser realizadas bajo CSB II certificada dentro de un laboratorio nivel 2 (BSL-2) o mayor con prácticas BSL-3 ^(6,7,8)

Antes de tomar la muestra ⁽⁹⁾:

- ✓ Preparar todos los materiales necesarios para la recolección y posterior descontaminación
- ✓ Completar los documentos necesarios para el envío de las muestras al INEI y al laboratorio del hospital.
- ✓ Informar al laboratorio y al personal que la transportará para que estén preparados para recibirlas.
- ✓ Asignar un asistente que esté disponible para ayudar durante el proceso; la persona designada debe utilizar al menos guantes y bata y debe permanecer fuera de la habitación del paciente para asistir durante la preparación del material (antes de la toma de la muestra), proveer cualquier elemento adicional que se requiera y preparar la muestra para el envío.
- ✓ Informar y capacitar al personal sobre los riesgos y procedimientos adecuados.



- **La toma de muestra debe ser realizada por el personal encargado de la asistencia al paciente utilizando las medidas de protección adecuadas.**
- Tomar las muestras necesarias para el laboratorio clínico del hospital y 3 tubos para envío al INEI, 2 tubos para hemograma de tapa violeta con EDTA (NO heparina) y un tubo para suero de tapa roja o de tapa amarilla con gel separador.
- Utilizar tubos plásticos (**NO vidrio**) con tapa de seguridad. Si no se cuenta con tubo previamente preparado con EDTA (**NO heparina**), utilizar soluciones comerciales que tienen una concentración de 0,342 moles/litro, lo que corresponde aproximadamente a 0,13g de EDTA disódico por mililitro. Se utilizan a razón de 50 microlitros (una gota) por cada 5 mililitros de sangre.
- Desinfectar con alcohol o lavandina el tubo de recogida con paño absorbente descartable eliminando cualquier resto de sangre o fluido.
- Colocar cada tubo que contiene la muestra en un segundo tubo de cierre hermético (se considerará contenedor primario) que sostendrá el asistente, quien lo cerrará y continuará el proceso de empaque y envío de la muestra ⁽⁵⁾
- Utilizar recipientes contenedores de bioseguridad tanto para el transporte de la muestra dentro del hospital como para el envío al INEI. Limpiar con alcohol o lavandina la superficie externa de los contenedores terciarios.
- **NO UTILIZAR SISTEMA DE ENVIO AL LABORATORIO POR TUBO NEUMATICO**
- Si no se envía inmediatamente al INEI, preservar la muestra refrigerada a 4°C, debidamente rotulado como caso sospechoso de ébola y en refrigerador previamente designado para estas muestras.
- Proceder al empaque y envío al INEI/ANLIS "Carlos G Malbrán" según procedimiento de toma y envío de muestras⁽⁵⁾

Manipulación y procesamiento de muestras en el laboratorio

La manipulación de especímenes y muestras que implican exposición al fluido constituye el momento de mayor riesgo para el personal de laboratorio.

El hospital debe utilizar los recursos disponibles respetando los lineamientos de bioseguridad recomendados en CSBII certificada con prácticas BSL-3.



- Priorizar la utilización de los sistemas analíticos ubicados en la cabecera del paciente en los establecimientos que dispongan de los mismos.
- Para la utilización de los sistemas analíticos habituales seguir las recomendaciones de este documento.
- Las muestras no deben remitirse al área habitual de recepción de muestras del hospital sino a un área previamente establecida que cuente con CSB II certificada.
- **Las manipulaciones de las muestras deben realizarse en CSB II certificada aplicando las medidas recomendadas.**
- Los tubos tapados para hemograma y coagulación pueden procesarse utilizando BSL-2 con los EPP previamente descritos. Dichas muestras se procesarán en analizadores que no requieran destapar los tubos.
- No se realizarán pruebas cruzadas por el riesgo que implican; por lo tanto, en caso de ser necesario realizar transfusiones se utilizará sangre 0 negativo, plaquetas grupo 0 o plasma A/B.
- Fuera de la cabina sólo pueden manipularse muestras en las que previamente se haya inactivado el virus.
- Si no se puede evitar realizar frotis, estos se prepararán en CSB II, fijándose con metanol al 5% y 15 minutos en buffer con formalina al 10% para garantizar la inactivación ⁽⁹⁾
- Las muestras de suero deben inactivarse antes de su procesamiento mediante calentamiento a 60°C durante una hora. Este procedimiento no afecta significativamente la determinación de sodio, potasio, magnesio, urea, creatinina, ácido úrico, bilirrubina, glucosa y proteína C reactiva, aunque afecta determinaciones como fosfatasa alcalina, GPT, GGT o CK por inactivación de las enzimas. Para test serológicos se debe inactivar a 57°C durante una hora, dado que a mayor temperatura se puede agregar la IgG ⁽⁹⁾

Analizadores automáticos:

Se deben usar los que trabajan con tubo cerrado; en caso contrario, la muestra debe inactivarse. Es necesario realizar una evaluación de riesgos local por la potencial generación de aerosoles. Si los puertos o aberturas presentes en el sistema pueden generar aerosoles, se recomienda que el aparato esté ubicado, ya sea dentro de una CSB,



o bien cubierto o aislada con una cubierta de película plástica flexible. Después de su uso, los analizadores deben desinfectarse según lo recomendado por el fabricante o con 500 partes por millón de solución de hipoclorito de sodio (dilución 1: 100 de cloro de uso doméstico).

Consideraciones operativas adicionales

- Designar e identificar al personal competente y bien entrenado en la práctica de rutina y en bioseguridad que realizará las tareas requeridas con este tipo de muestras⁽¹⁰⁾
- Designar las áreas de laboratorio y los equipos que serán utilizados para las pruebas y dejar registro de los mismos.
- Proteger los bordes cortantes de los equipos y mesadas que representen riesgo de ruptura para la vestimenta de protección.
- Minimizar las actividades y el personal no necesario en el área durante el procesamiento de las muestras.
- Minimizar actividades que puedan generar aerosoles siempre que sea posible (por ejemplo, mezcla de muestras con la pipeta, centrifugación).
- No utilizar material de vidrio
- Minimizar el uso de objetos punzantes siempre que sea posible, utilizando medidas de seguridad y descartadores para cortopunzantes que se eliminarán en bolsa roja.
- Rotular o etiquetar los tubos claramente antes de la recolección de las muestras de pacientes, y mantener segregadas las muestras para EVE durante la manipulación en el laboratorio.
- Los pedidos de pruebas deben estar claramente identificados como sospecha de Ebola para el manejo interno del hospital y para envío los contenedores deben estar etiquetados como material **categoría A (UN 2814)** según el instructivo de toma y envío de muestras⁽⁵⁾
- Asegurar que todas las muestras se almacenen de forma segura y con acceso sólo al personal autorizado.



Las exposiciones potenciales a estos especímenes deben ser reportados inmediatamente de acuerdo con las políticas y procedimientos institucionales.

Decontaminación

Desinfectantes efectivos ⁽¹¹⁾.

El virus Ebola es susceptible a:

- Lavandina doméstica (**hipoclorito de sodio**) al 5.25%. La recomendación de OMS para limpiar derrames de sangre o fluidos es el uso de una dilución 1:10 de lavandina 5.25% (55g/l de cloro activo) empapando el área y dejando actuar por 10 minutos. Para superficies que pueden corroerse o decolorarse usar una dilución 1:100 por más de 10 minutos. ⁽¹²⁾
- Acido acético al 3%.
- Glutaraldehido al 1%.
- Productos basados en alcohol, en diluciones 1:10 a 1:100, dejando actuar al menos por 10 minutos.
- Hipoclorito de calcio.

Los contenedores con las muestras a ser transportados para pruebas confirmatorias, así como los contenedores secundario y terciario, deben ser descontaminados utilizando desinfectantes efectivos previo al embalaje.

Derrames

Ante un derrame accidental de una muestra bajo investigación:

- Evacuar y asegurar el área.
- El personal que realice el procedimiento de limpieza debe estar equipado con los EPPs de máxima protección descriptos previamente.
- Cubrir el derrame con suficiente material absorbente y empapar con desinfectante; dejar actuar 15 minutos.
- Retirar el material absorbente, descartar en bolsa roja y volver a limpiar con desinfectante.
- Todos los EPP descartables utilizados deberán ser removidos inmediatamente después de completar la tarea, colocados en una bolsa de autoclave para su posterior autoclavado y eliminación.

Tratamiento de residuos



Todo material potencialmente contaminado deberá ser descontaminado apropiadamente antes de ser retirado del área.

- ✓ Colocar los residuos dentro de una bolsa para autoclave.
- ✓ Autoclavar
- ✓ Colocar en bolsa roja para su incineración.
- ✓ Continuar el proceso según las recomendaciones del instructivo del Ministerio de Salud⁽²⁾

Referencias

1. Interim Guidance Regarding Compliance with Select Agent Regulations for Laboratories Handling Patient Specimens that are Known or Suspected to Contain Ebola Virus. Set 8,2014 (<http://www.cdc.gov/vhf/ebola/hcp/select-agent-regulations.html>)
2. Prevención y control de infecciones para casos sospechosos de enfermedad por el virus del Ébola (EVE)
<http://www.msal.gov.ar/images/stories/epidemiologia/ebola/pdf/2-09-2014-MSN-Ebola-Prevencion-de-infecciones-casos-sospechosos.pdf.pdf>
3. OPS. Recomendaciones para la toma segura y manipulación apropiada de muestras potencialmente infecciosas con agentes altamente patógenos
(http://www.anlis.gov.ar/inei/?page_id=286)
4. Sequence for putting and removing personal protecting equipment Centers for Disease Control. (<http://www.cdc.gov/vhf/ebola/pdf/ppe-poster.pdf>)
5. INEI-ANLIS Procedimiento de toma y envío de muestras para la investigación de casos sospechosos de EVE (<http://www.anlis.gov.ar/inei/wp-content/uploads/2014/09/INEI-ANLIS-Ebola.-Procedimiento-toma-y-envio-muestras-de-casos-sospechoso1.pdf>)
6. Canadian Biosafety Standards and Guidelines (CBSG) (1st ed., 2013, Gov. of Canada) (<http://canadianbiosafetystandards.collaboration.gc.ca/cbsg-nldcb/index-eng.php>)
7. Interim Infection Control Recommendations for Care of Patients with Suspected or Confirmed Filovirus (Ebola, Marburg) Haemorrhagic Fever. BDP/EPR/WHO, Geneva March 2008.



(<http://www.internationalbiosafety.org/Organizations/fde5681c-ca94-4a20-827a-716f524babc/Resources/Emerging%20Issues/WHO%20Infection%20Control%20Guidelines%20Haemorrhagic%20Fever.pdf>)

8. Interim Guidance for Specimen Collection, Transport, Testing, and Submission for Patients with Suspected Infection with Ebola Virus Disease. CDC. August 2014. [http://www.cdc.gov/vhf/ebola/hcp/interim-guidance-specimen-collection-submission-patients-suspected-infection-ebola.html#Specimen Handling for Routine Laboratory Testing \(not for Ebola Diagnosis\)](http://www.cdc.gov/vhf/ebola/hcp/interim-guidance-specimen-collection-submission-patients-suspected-infection-ebola.html#Specimen Handling for Routine Laboratory Testing (not for Ebola Diagnosis))
9. Recomendaciones para la obtención y análisis de muestras clínicas en pacientes sospechosos de enfermedad por virus de Ébola (EVE). Plan de Laboratorios Clínicos del Sistema Sanitario Público de Andalucía.05/09/2014
10. Routine practices are a combination of universal precautions and body substance isolation. (<http://www.ccohs.ca/oshanswers/prevention/universa.html>)
11. Pathogen Safety Data Sheet - Ebola Virus. <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/ebola-eng.php>
12. World Health Organization (2010). WHO best practices for injections and related procedures toolkit. March 2010. http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241599252_eng.pdf?ua=1

LAS MUESTRAS PARA EL DIAGNOSTICO DE VIRUS EBOLA DEBEN SER ENVIADAS A INEI-ANLIS “Carlos G Malbrán” según procedimiento de toma y envío de muestras.

Ver actualización de documentos asociados en la página de INEI-ANLIS

-
- *INEI-ANLIS. Ebola. Procedimiento de toma y envío de muestras*
 - *Ficha notificación y pedido de estudios de laboratorio del Ministerio de Salud que aparece en la página de INEI-ANLIS*
 - *INEI-ANLIS Algoritmo del proceso diagnóstico*

Para más información orientativa de procedimientos ver documentos con imágenes en la página de ANLIS-INEI:

- OPS- Toma segura de muestras
- OPS -envío de muestras. Las fichas que aparecen son ejemplos. Utilizar las que se indican en las páginas de INEI-ANLIS y del Ministerio de Salud de la Nación.



Ministerio de Salud

- OPS- Reglamentaciones de transporte

