

Exposición a agentes biológicos. Equipos de seguridad: aisladores.

*Exposure to biological agents. Safety equipment: Isolators.
L'exposition aux agents biologiques. Équipement de sécurité : Isolateurs.*

Autor:

Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo (INSST), O.A., M.P.

Elaborado por:

Blanca de la Fuente Capdevila.

CENTRO NACIONAL DE CONDICIONES DE TRABAJO. INSST.

Los aisladores son sistemas de contención primaria que proporcionan un entorno seguro cuando se trabaja con agentes biológicos. La principal ventaja respecto a las cabinas de seguridad biológica (CSB) es que pueden diseñarse a demanda y se suelen utilizar cuando estas no son una solución práctica. Esta NTP proporciona información sobre los distintos tipos de aisladores y las principales características de los que se utilizan frente a la exposición a agentes biológicos.

Las NTP son guías de buenas prácticas. Sus indicaciones no son obligatorias salvo que estén recogidas en una disposición normativa vigente. A efectos de valorar la pertinencia de las recomendaciones contenidas en una NTP concreta es conveniente tener en cuenta su fecha de edición.

1. INTRODUCCIÓN

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, en su artículo 3.1, clasifica los microorganismos en 4 grupos en función del riesgo de infección en base a:

- La patogenicidad en humanos.
- El peligro que supone para las personas trabajadoras.
- La facilidad de propagación a la colectividad.
- La existencia y disponibilidad de profilaxis o tratamiento eficaz.

En función del grupo de riesgo en el que se haya clasificado el agente biológico y del resultado de la evaluación de riesgos, en los laboratorios que emprendan trabajos que impliquen la manipulación de agentes biológicos con fines de investigación, desarrollo, enseñanza o diagnóstico y en los locales destinados a animales de laboratorio deliberadamente contaminados por agentes biológicos o que se sospeche que son portadores de estos agentes, debe fijarse el nivel de contención y tomar las medidas de contención de conformidad con el anexo IV de ese real decreto.

Estas medidas de contención se pueden agrupar en dos líneas:

- Las barreras físicas primarias, cuya finalidad es el confinamiento físico del agente biológico, a fin de evitar su liberación al ambiente de trabajo, para proteger a la persona trabajadora y a su entorno inmediato.
- Las barreras físicas secundarias, que contemplan el diseño y la construcción de la instalación, que tienen como objetivo evitar la liberación o escape de los agentes biológicos fuera de la zona de trabajo, a otras áreas o dependencias o al medioambiente.

La aplicación combinada de los elementos de contención junto con unas buenas prácticas y técnicas de trabajo constituyen lo que se conoce como bioseguridad (*biosafety*, en inglés), que no debe confundirse con bioprotección (*biosecurity*, en inglés) en el ámbito del laboratorio, que se entiende como las medidas de seguridad, tanto del personal como de la institución, para prevenir la pérdida, robo, uso indebido, o liberación intencionada de los agentes biológicos manipulados en el laboratorio.

Los sistemas de contención primaria en el ámbito biológico, entre los que se encuentran las cabinas de seguridad biológica (véase la NTP 1202) y los aisladores, están diseñados para proteger a las personas trabajadoras frente a la exposición a bioaerosoles. Esta protección se consigue principalmente por la segregación del área de trabajo del área principal del laboratorio y también, en la mayoría de los casos, por el uso de flujos de aire controlados.

Los requisitos básicos y los criterios mínimos de funcionamiento para las CSB están claramente definidos, ya que cuentan con normas técnicas específicas (UNE-EN 12469; NSF/ANSI 49). En cambio, en el ámbito de la seguridad biológica, los aisladores no disponen de normas equivalentes de ensayo y certificación. Así, la norma UNE-EN ISO 14644-7, que es de tipo general y no está desarrollada para un sector concreto, especifica los requisitos mínimos en cuanto al diseño, construcción, instalación y de ensayo de los dispositivos de separación, entre los que se encuentran los aisladores.

2. DISPOSITIVOS DE SEPARACIÓN. AISLADORES

Los dispositivos de separación son equipos que utilizan medios estructurales (o físicos) y aerodinámicos para crear los niveles que aseguren una separación entre el interior y exterior de un volumen definido. Los medios de separación físicos comprenden barreras rígidas y flexibles. Los medios aerodinámicos incluyen flujos de aire/gas con o sin filtración. Las diferencias entre los dispositivos de separación se establecen en función de si utilizan medios físicos, aerodinámicos o ambos.

Los aisladores son dispositivos de separación que están diseñados para segregar la actividad que se desarrolla en el interior del equipo con el exterior, utilizando medios físicos y, generalmente, también aerodinámicos.

Estos equipos no están limitados a una industria específica y se utilizan en diferentes sectores: en la fabricación de productos estériles, en la fabricación o manipulación de medicamentos con principios activos de alta potencia o toxicidad, en procesos biotecnológicos, en la industria

nuclear o de componentes electrónicos, o en algunas aplicaciones en el sector sanitario, entre otros. Normalmente están diseñados a demanda, pueden variar mucho en función del uso y deben tenerse en cuenta los requisitos específicos de cada proceso que tenga lugar en su interior. Se trata de tecnologías que están en constante evolución en los diferentes sectores en los que se utilizan, y que en cada sector pueden definirse de forma distinta.

Sin embargo, las especificaciones de estas industrias no aplican directamente a los sistemas de contención biológicos.

Los aisladores constan de una parte fija, consistente en un cuerpo donde se desarrolla la actividad principal, a la que se pueden unir:

- Dispositivos de transferencia: son mecanismos para efectuar un desplazamiento de materiales entre el interior y exterior del dispositivo de separación. No deben comprometer la calidad ambiental del aislador ni reducir sus prestaciones.
- Dispositivos de acceso: son aquellos que permiten la manipulación de procesos, herramientas o productos en el interior del dispositivo de separación. Se pueden distinguir:
 - Guantes: son componentes de un dispositivo de acceso que permiten la entrada de las manos del operador/a en el interior del dispositivo de separación manteniendo una barrera eficaz.
 - Manopla: guante de una sola pieza que recubre toda la longitud del brazo.
 - Sistema guante-manguito: es un dispositivo de acceso multicomponente que mantiene una barrera eficaz a la vez que permite sustituir el manguito, la pieza circular de conexión y el guante.
 - Medio traje de protección: permite la introducción de la cabeza, el tronco y los brazos del operador/a en el espacio de trabajo del dispositivo de separación.

Además de las características de funcionamiento, en el diseño de los aisladores hay que considerar también aspectos relacionados con la ergonomía asociada, especialmente de los sistemas de acceso, ya que no todas las personas tienen las mismas características. La falta de ergonomía de estas instalaciones puede comprometer la seguridad y disminuir la eficiencia del trabajo realizado.

Tipos y características

Los aisladores se pueden clasificar en función de varias de sus características.

En función del tipo de material de construcción utilizado

Se pueden encontrar aisladores rígidos, de acero o de plástico, o flexibles, si se trata de aisladores de membrana. De manera general, la seguridad para mantener una separación se incrementa con el grado de rigidez de la separación física.

En función del dispositivo de acceso a la zona de trabajo

La manipulación se puede realizar de forma manual o mediante robot:

- Manual. Los dispositivos de operación manual son:
 - Manoplas.
 - Sistemas de guantes y similares (por ejemplo: manguito, pieza de conexión circular y guantes).
 - Medio trajes de protección y dispositivos similares.

- Sistemas de manipulación a distancia: consisten en una unión mecánica o por servomotores entre las manos y los brazos del operador/a y un sistema de manipulación mecánica dentro del dispositivo de separación.

Los sistemas de acceso como guantes, manoplas o medio traje deben diseñarse y construirse para permitir con facilidad su sustitución y los ensayos de integridad y de seguridad de funcionamiento.

- Robotizada. Consiste en sistemas automatizados diseñados para manipular materiales en el interior de un dispositivo de separación.

En función del sistema de gestión del aire

Los sistemas de tratamiento del aire de los dispositivos de separación han de ser capaces de impulsar o extraer el suficiente volumen de aire hacia o desde el dispositivo de separación a través de filtros y el sistema de conductos.

Estos sistemas se pueden clasificar en función del tipo de protección y del gradiente de presión.

En función del sistema de gestión del aire, los aisladores pueden diseñarse para proteger a la persona trabajadora, para proteger al producto o para ambas opciones. La elección del tipo de flujo dependerá de los requisitos del producto.

La configuración de la impulsión de aire es específica para cada aplicación. Pueden trabajar a diferentes gradientes de presión (positiva o negativa), tasas de renovación de aire, patrón de flujo de aire, temperatura y humedad, especificaciones para partículas en suspensión, recirculación, etc. El aire de alimentación de un dispositivo de separación debería ser de calidad suficiente para cumplir con una o más de las clases descritas en la norma UNE-EN ISO 14644-1.

En función del sistema de gas

Los dispositivos de separación pueden disponer de medios aerodinámicos para otros usos, diferentes de los de la gestión del aire, como los sistemas de gas, que están diseñados para cada aplicación. Estos sistemas pueden dividirse en dos grandes tipos en función del tipo de gas que utilicen:

- Sistemas de gas inerte. Pueden proporcionar una atmósfera casi totalmente libre de oxígeno o humedad. Los gases generalmente utilizados son nitrógeno, helio o argón. Estos sistemas deben utilizarse con precauciones especiales para no provocar la muerte por asfixia.
- Sistemas de gases activos. Pueden ser utilizados para el proceso de biodescontaminación, es decir, la eliminación o reducción de contaminantes biológicos hasta un nivel aceptable. Los gases utilizados en estos sistemas pueden ser, por ejemplo, ozono, peróxido de hidrógeno, dióxido de cloro, ácido peracético o vapor de agua.

3. AISLADORES EN LOS LABORATORIOS DE BIOSEGURIDAD

Para trabajos *in vitro* a pequeña escala, las CSB son una solución ampliamente reconocida para el control de la exposición a bioaerosoles. Sin embargo, para actividades que implican grandes equipos, o animales, así como para el trabajo de campo, las CSB o las jaulas de biocontención pueden no ser una solución práctica.

Una de las aplicaciones de los aisladores en los laboratorios de bioseguridad es para el trabajo con animales (ratas, conejos o pequeños vertebrados) contaminados con microorganismos patógenos. El trabajo en aisladores presenta la ventaja de que los animales pueden estar alojados en jaulas estándar y que cuando se manipulan pueden permanecer en el aislador, en un espacio destinado al efecto y manipularse a través de sistemas de acceso, sin necesidad de abandonar el mismo. Además, también se utilizan para proteger a los animales del medioambiente cuando se trata de trabajos con animales libres de patógenos, inmunodeficientes, inmunodeprimidos o gnotobióticos (animales con una microbiota conocida). Asimismo, también pueden utilizarse para alojar a los animales durante periodos de cuarentena para determinar su estado de salud.

Estos equipos pueden ser similares a las CSB de clase III y aplicárseles métodos similares de comprobación y validación. Pueden ser rígidos o flexibles y construirse en distintos tamaños. A la zona de trabajo se accede normalmente a través de guantes integrados o medio trajes y suelen disponer de sistemas de puertos (caja de paso, tanques de inmersión, puertos de transferencia rápidos) para la introducción, retirada o descontaminación de los materiales de trabajo. Pueden alojar equipos de laboratorio (incubadoras, microscopios, centrifugadoras) o animales. La ventaja principal sobre las CSB es que se diseñan de forma específica.

Para la selección de un aislador, la evaluación de riesgos es clave; determinar con qué agentes biológicos y qué actividades se van a realizar es un paso previo, complejo y fundamental para esta selección. Algunas de las cuestiones básicas a tener en cuenta son las siguientes:

- Tipo de protección.
- Configuración del sistema de gestión del aire: presiones diferenciales, número de filtros, recirculación o salida de aire, etc.
- Tipo de acceso.
- Otras necesidades: tamaño, forma, facilidad de la instalación o tipo de equipos que deben contener, etc.

En la determinación de las especificaciones de los aisladores es necesario tener en cuenta que estos no pueden trabajar a sobrepresiones tan elevadas ni con tantas renovaciones de aire como las CSB debido a la resistencia del material, especialmente si se trata de aisladores de membrana flexible. Además, si se van a alojar animales en su interior, estas especificaciones deben considerar también el bienestar de los animales hospedados, lo que debe tenerse en cuenta en la gestión del riesgo por exposición a agentes biológicos.

En la selección de este equipo, la característica principal a considerar es el tipo de protección necesario (de la persona trabajadora y/o del producto), y depende del riesgo que deba ser controlado. Los aisladores que trabajan a presión negativa proveen de una protección óptima de la persona trabajadora mientras que los que operan a presión positiva son adecuados para su uso en procesos asépticos, ya que protegen al producto.

La configuración del flujo de aire del dispositivo es una característica importante, ya que gran parte de la protección se basa en la creación de flujos de aire controlados que barren los aerosoles de las zonas de trabajo y son capturados por los filtros. En las aplicaciones para biocontención normalmente no suelen ser necesarios flujos laminares.

Otro aspecto que hay que tener en cuenta es la recirculación del aire o la salida al exterior, el tipo y número de filtros. En función de la calidad requerida, el aire pasa

por sistemas de filtrado. Normalmente la entrada es a través de un filtro HEPA (filtros para partículas en aire de alta eficacia, del inglés *High Efficiency Particulate Air*) y a la salida por dos filtros en serie, también de tipo HEPA, cada uno de los cuales debería poder someterse a ensayo de forma independiente y de una instalación de cambio seguro. El segundo filtro actúa como sistema de seguridad en caso de fallo. Esta configuración evita la necesidad de salida del aire al exterior y permite la recirculación, siempre que esté determinado por la evaluación de riesgos.

Respecto a la tasa mínima de renovaciones de aire por hora, la norma UNE-EN 12741 indica que debería ser de 20 para aplicaciones de biotecnología, mientras que para el trabajo con animales se recomienda entre 10 (UNE 171400-1) y 30 renovaciones (Smither & Lever, 2012), valor muy inferior al utilizado en las CSB. Este valor necesita ser mayor cuando el sistema de transferencia precise que el aire contaminado sea aspirado rápidamente del interior del aislador.

Las diferencias de presiones deberían monitorizarse de forma continua y los sensores de presión deben contar con alarmas cuando se encuentren fuera del intervalo definido. En el caso de que ocurra un fallo del sistema de aislamiento, debería mantenerse un flujo de aire hacia el interior cuya velocidad sea de 0,75 m/s (UNE-EN 12741).

El tamaño de los dispositivos de acceso puede limitar la accesibilidad a la superficie de trabajo. Así, los aisladores flexibles con sistema de medio traje permiten un mejor acceso a la zona de trabajo, aunque normalmente el acceso al interior del aislador suele ser a través de guantes integrados.

Además, si se ha determinado en la evaluación de riesgos, los sistemas aisladores pueden requerir de descontaminación. Esta puede ser gaseosa, por vapor o líquida y debe realizarse por personal cualificado y con un método validado. Las superficies interiores del aislador (superficie de trabajo y paredes interiores), así como el equipamiento, deben descontaminarse antes y después de cada uso y antes de sacarse del mismo, con un desinfectante validado que inactíve los microorganismos que puedan contaminar el dispositivo. Cuando se utilicen desinfectantes corrosivos, como la lejía, las superficies deben enjuagarse con agua estéril o alcohol al 70 % para retirar los residuos, ya que pueden causar degradación. Debido a la gran variedad de materiales que pueden usarse en la construcción de los aisladores, es especialmente importante comprobar la compatibilidad del desinfectante con los materiales utilizados.

Por otra parte, debe establecerse la periodicidad de las revisiones, no siendo aconsejable periodos superiores a 6 meses para instalaciones de nivel de contención 3 o 4 y, como mínimo, anualmente para el resto, en función de la criticidad del parámetro. En el caso que se desarrollen actividades de duración superior a 6 meses, debe tenerse este hecho en cuenta en la programación de actividades o que se puedan desarrollar estas comprobaciones con las actividades en marcha.

Tipo de aisladores para biocontención

Una de las principales clasificaciones de los aisladores en el ámbito del riesgo biológico es por el tipo de estructura. Estos se dividen en aisladores de membrana flexible o aisladores rígidos. Los aisladores utilizados para alojar animales pueden ser de ambos tipos, tanto de plástico como de acero, y uno de los criterios de selección es el riesgo por mordeduras de los animales.

Aisladores flexibles

Son dispositivos con una estructura o armazón rígido cerrados por un plástico flexible (véase figura 1), normalmente de PVC, aunque pueden ser también de otros materiales, siempre que sean compatibles con el proceso que se desarrolla en su interior. La principal ventaja de este tipo de aisladores es que pueden diseñarse a demanda, pueden trabajar a presión negativa, lo que permite aislar el material biológico del laboratorio circundante, y pueden contener grandes equipos o zonas de trabajo.

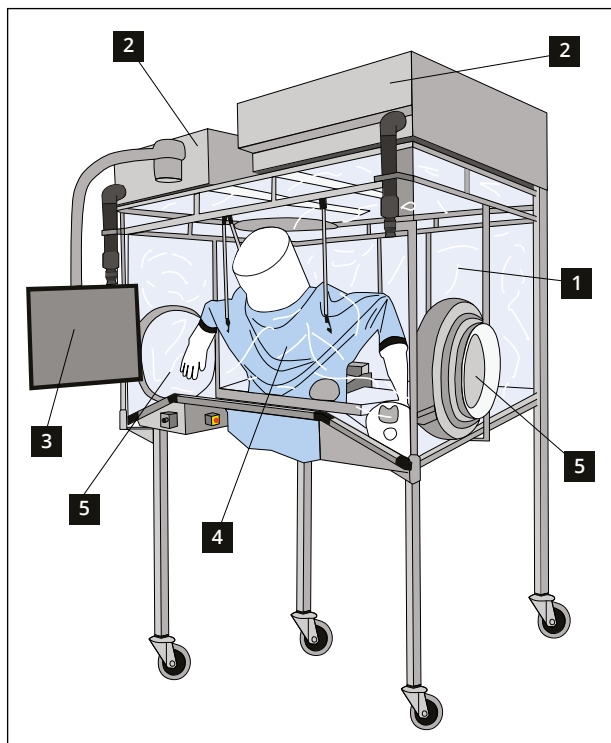


Figura 1. Aislador flexible.¹

Se pueden utilizar para diferentes necesidades en el ámbito del riesgo por exposición a agentes biológicos: para el trabajo de campo con patógenos de alto riesgo, o en laboratorios de campaña, que se utilizan en lugares donde no es posible instalar CSB convencionales, así como para el trabajo con animales que necesitan confinamiento.

Los aisladores flexibles son más fáciles de adaptar a un cambio de uso que los rígidos, disponen de una mejor visibilidad e iluminación total, tanto del interior como del exterior y, en general, suelen tener un menor coste y una mejor portabilidad y montaje y no suelen necesitar sistemas de comunicación desde dentro del traje a la sala exterior.

Sin embargo, estos sistemas disponen de una vida de utilización menor que los rígidos o que las CSB de clase III, son más susceptibles a dañarse y necesitan reemplazar la membrana regularmente. En este sentido, es importante evitar, en la medida de lo posible, el uso de objetos punzantes, como tijeras, que puedan dañar la integridad de los guantes o de la membrana/pared flexible.

El principal problema de este tipo de aisladores es evitar la creación de presiones positivas durante el de-

sarrollo de las operaciones, especialmente en el uso de los sistemas de transferencia, cuando se puede perder presión de aire. Por lo tanto, deben establecerse procedimientos para la introducción y retirada de materiales. Otra consideración es que pueden deteriorarse durante los ensayos con presiones diferenciales que sobrepasen excesivamente las presiones de funcionamiento.

Aisladores rígidos

Los aisladores rígidos (véase figura 2) son una alternativa a los aisladores flexibles, ya que también proveen de un elevado nivel de contención. Estos sistemas permiten trabajar tanto a presión positiva como negativa. Cuando trabajan a presiones negativas deben hacerlo a mayor presión que los de pared flexible para evitar la aparición de presiones positivas durante su uso. Esto es

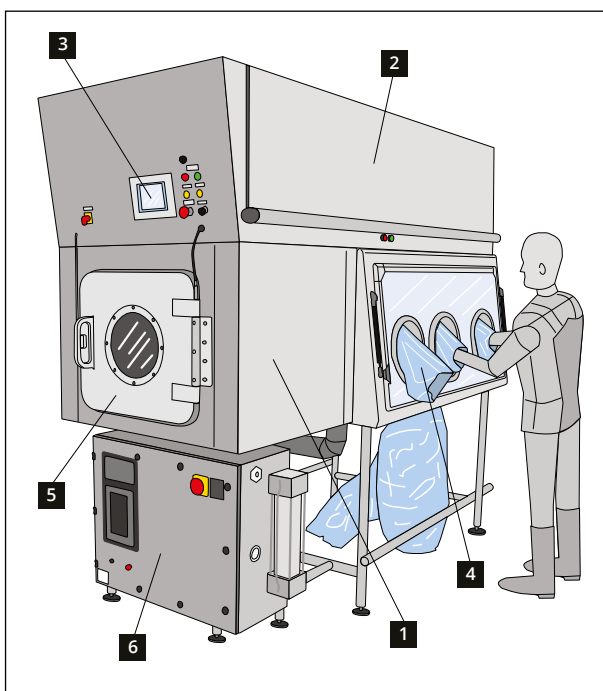


Figura 2. Aislador rígido.²

especialmente significativo en las configuraciones con medio traje, ya que el movimiento dentro del aislador afecta significativamente a la presión interior.

Los sistemas rígidos, por su parte, son más resistentes al daño, pero menos capaces de absorber las fluctuaciones de presión, son más fáciles de limpiar y tienen mejor compatibilidad química, como, por ejemplo, con productos de limpieza y desinfectantes, y un mayor nivel de contención. La detección de fugas es más fácil y las paredes rígidas permiten el uso de puertos de transferencia.

Aisladores no ventilados

Puede darse también el caso de aisladores sin ventilación, normalmente de membrana flexible. Estos son utilizados en situaciones de emergencia, en trabajo de campo cuando se trabaja con microorganismos infecciosos o en laboratorios temporales. En este caso, puesto

¹ 1. Cuerpo (recinto de contención), 2. Ventilación / filtración, 3. Sistema de control, 4. Dispositivo de acceso y 5. Dispositivo de transferencia.

² 1. Cuerpo (recinto de contención), 2. Ventilación / filtración, 3. Sistema de control, 4. Dispositivo de acceso, 5. Dispositivo de transferencia y 6. Sistema de gas para biodescontaminación.

que presentan una efectividad de la contención reducida, se requiere, además, de la utilización de estrictas medidas de trabajo y desinfección. Puede considerarse

su uso si la probabilidad de generación de aerosoles es baja, juntamente con procedimientos estrictos de desinfección.

BIBLIOGRAFÍA

UNE-EN ISO 14644-1:2016 Salas limpias y locales anexos controlados. Parte 1: Clasificación de la limpieza del aire mediante la concentración de partículas. (ISO 14644-1:2015).

UNE-EN ISO 14644-2:2016 Salas limpias y locales anexos controlados. Parte 2: Seguimiento para proporcionar evidencias del desempeño en relación con la limpieza del aire mediante la concentración de partículas. (ISO 14644-2:2015).

UNE 171400-1:2019 Diseño de instalaciones de nivel 3 de contención biológica (NCB3).

UNE-EN 12738:2000 Biotecnología. Laboratorios de investigación, desarrollo y análisis. Guía para la contención de los animales inoculados con microorganismos con fines experimentales.

UNE-EN 12741:2000 Biotecnología. Laboratorios de investigación, desarrollo y análisis. Guía para las operaciones en los laboratorios biotecnológicos.

UNE-EN 12469:2001 Biotecnología. Criterios de funcionamiento para las cabinas de seguridad microbiológica.

UNE-EN ISO 14644-7:2005 Salas limpias y locales anexos controlados. Parte 7: Dispositivos de separación (campanas de aire limpio, cajas de guantes, aisladores, minientornos) (ISO 14644-7:2004).

UNE-ISO 35001:2021 Gestión del riesgo biológico en laboratorios y otras organizaciones relacionadas.

UNE-ISO 35001:2021/Amd 1:2024 Gestión del riesgo biológico en laboratorios y otras organizaciones relacionadas. Modificación 1: Acciones relativas al cambio climático.

UNE-EN ISO 13408-6:2022 Procesado aséptico de productos para la salud. Parte 6: Sistemas aisladores. (ISO 13408-6:2021).

Bässler, H.-J., & Lehmann, F. (2013). Containment technology. Progress in the Pharmaceutical and Food Processing Industry. Springer.

Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia.

HSE. Guidance on the use, testing and maintenance of laboratory and animal isolators for the containment of biological agents. In. Health and Safety Executive.

NSF/ANSI 49. (2022). Biosafety Cabinetry: Design, Construction, Performance, And Field Certification. In.

Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo. (2024). NTP 1202 Exposición a agentes biológicos. Equipos de seguridad: cabinas de seguridad biológica.

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.

Smither, S. J., & Lever, M. S. (2012). A Review of Filovirus Work and Facilities at The Defence Science and Technology Laboratory Porton Down. Viruses, 4(8), 1305-1317.

U.S. Department of Health and Human Services. (2020). Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (6 ed.). Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health.

WHO. (2020). Biological safety cabinets and other primary containment devices. Geneva: World Health Organization; (Laboratory biosafety manual, fourth edition and associated monographs).

WHO (2020). Laboratory biosafety manual, fourth edition. Geneva: World Health Organization; (Laboratory biosafety manual, fourth edition and associated monographs).