



PROCEDIMIENTO EN MATERIA DE SEGURIDAD Y SALUD LABORAL

## **TRABAJOS CON EXPOSICIÓN A AGENTES BIOLÓGICOS**

### **1. OBJETO**

El objeto del presente documento es el establecer unas disposiciones mínimas en materia de seguridad y salud aplicables a las actividades en las que los trabajadores estén o puedan estar expuestos a agentes biológicos debido a la naturaleza de la actividad desarrollada.

### **2. MARCO JURÍDICO Y TÉCNICO DE REFERENCIA**

- Ley 31/1995, de 8 de noviembre, de Prevención de Riesgos Laborales.
- Real Decreto 39/1997, de 17 de enero, por el que se aprueba el Reglamento de los Servicios de Prevención.
- 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.
- Guía Técnica del Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo para la evaluación y prevención de los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos.
- Prevención de riesgos biológicos en el laboratorio. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo.
- Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.

### **3. RESPONSABILIDADES**

El responsable de cada Departamento deberá adoptar las medidas necesarias para que los miembros de la comunidad universitaria cumplan con lo establecido en el presente documento.

El Servicio de Prevención de Riesgos Laborales evaluará los riesgos derivados del uso de agentes biológicos y realizará, caso que sea necesario, las oportunas recomendaciones a los responsables. Realizará las comunicaciones a la Autoridad Laboral. Asimismo, dentro de la programación en materia de prevención de riesgos laborales, facilitará formación e información a los trabajadores de la Universidad sobre los riesgos en el uso de agentes biológicos.



Los trabajadores deberán cumplir con lo establecido en el presente documento, comunicando a su responsable directo cualquier incidencia.

#### 4. INTRODUCCIÓN

Se entiende por exposición a agentes biológicos la presencia de éstos en el entorno laboral.

Los agentes biológicos se clasifican en función del riesgo de infección en cuatro grupos:

TABLA I  
GRUPOS DE RIESGO DE LOS AGENTES BIOLÓGICOS

AGENTES BIOLÓGICO DEL GRUPO DE RIESGO	RIESGO INFECCIOSO	RIESGO DE PROPAGACIÓN A LA COLECTIVIDAD	PROFILAXIS O TRATAMIENTO EFICAZ
1	Poco probable que cause enfermedad	No	Innecesario
2	Pueden causar una enfermedad y constituir un peligro para los trabajadores	Poco Probable	Posible generalmente
3	Puede provocar una enfermedad grave y constituir un serio peligro para los trabajadores	Probable	Posible generalmente
4	Provocan una enfermedad grave y constituyen un serio peligro para los trabajadores	Elevado	No conocido en la actualidad

De esta forma, los agentes biológicos del Grupo de Riesgo 1 (GR1) serían aquellos que, habitualmente, no están asociados con enfermedades en el hombre. El GR2 lo constituyen agentes asociados con enfermedades en el hombre, que raramente son serias, y para las cuales existen habitualmente medidas preventivas o terapéuticas. El GR3 lo componen agentes que están asociados con enfermedades graves o mortales, para las cuales son posibles intervenciones de tipo preventivo o terapéutico (alto riesgo individual pero bajo para la colectividad). El GR4 lo forman agentes que, probablemente, causan una enfermedad grave o letal en el hombre, para las cuales las intervenciones preventivas o terapéuticas no son eficaces (alto riesgo individual y para la colectividad).

La relación de los agentes biológicos con su clasificación se encuentra en el Anexo I del presente documento.



## **5. REQUISITOS LEGALES.**

El Real Decreto 664/1997 establece una serie de obligaciones en lo relativo al uso de agentes biológicos. Entre estas obligaciones se encuentra la comunicación a la Autoridad Laboral sobre el uso de estos agentes (Art. 10). Por ello, previamente a la utilización de cualquier agente biológico incluido en el Anexo I, deberá comunicarse esta circunstancia a Servicio de Prevención de Riesgos Laborales al objeto de tramitar la oportuna comunicación.

## **6. RECOMENDACIONES PARA TRABAJOS CON AGENTES BIOLÓGICOS DEL GRUPO 1.**

Esta exposición no está específicamente reflejada en la normativa legal dado que el trabajo que se lleva a cabo no supone riesgo significativo de enfermedad para un trabajador sano. No obstante, las recomendaciones serían:

- El responsable del laboratorio podrá limitar o restringir el acceso al mismo cuando el trabajo o las prácticas donde se hallen presente este tipo de agente biológico se encuentre en marcha.
- Las superficies de trabajo se descontaminarán, al menos, una vez al día y siempre que se produzca un derramamiento de material contaminado.
- Está prohibido pipetear con la boca.
- No está permitido comer, beber, fumar, tomar medicamentos o maquillarse en el laboratorio.
- La comida se almacenará en armarios o refrigeradores destinados a tal fin y situados fuera de la zona de trabajo.
- Antes de dejar el laboratorio, el personal que haya manejado materiales o animales contaminados debe lavarse las manos.
- Cualquier técnica o manipulación debe ser efectuada de manera que minimice la creación de aerosoles.
- Se recomienda el empleo de batas u otro tipo de equipamiento que prevenga la contaminación de la ropa de calle.
- Los materiales contaminados se irán depositando en contenedores apropiados, que se podrán cerrar para su traslado.
- Normalmente no es necesario equipo de seguridad

## **7. RECOMENDACIONES PARA TRABAJOS CON AGENTES BIOLÓGICOS DEL GRUPO 2.**



Las recomendaciones para el uso de agentes biológicos del grupo 2, corresponden con las recomendaciones dadas para trabajos con agentes biológicos del grupo 1 con las modificaciones y ampliaciones siguientes:

- Todos los residuos, tanto líquidos como sólidos, deberían descontaminarse antes de su eliminación.
- El responsable del laboratorio limitará el acceso al mismo. De esta manera, personas con riesgo de adquirir infecciones o para las que una infección pueda resultar especialmente peligrosa no tendrán permitida la entrada al laboratorio.
- Siempre que se esté en el laboratorio, el personal llevará una bata o protección similar.
- Cuando se abandone el laboratorio para acceder a otras dependencias (cafetería, biblioteca,...), esta bata deberá dejarse siempre en el laboratorio.
- Se prestará especial atención para evitar la contaminación a través de la piel, por lo que es recomendable llevar guantes cuando se manipule el material.
- Los derramamientos y otros accidentes que tengan como consecuencia la sobreexposición del personal a materiales infectados deberán ser comunicados.

#### **Equipos de seguridad:**

- Cabinas de seguridad de clase I o II u otros sistemas de protección física del personal, que se emplearán cuando se lleven a cabo técnicas con un alto riesgo de formación de aerosoles o se utilicen grandes volúmenes o altas concentraciones de agentes infecciosos.

### **8. PRECAUCIONES UNIVERSALES**

Las denominadas “precauciones universales” constituyen la estrategia fundamental para la prevención del riesgo laboral para los trabajos con agentes biológicos.

- a) **Vacunación (inmunización activa):** La comunidad trabajadora está sometida a numerosos riesgos biológicos, producidos por bacterias, hongos, virus, etc., frente a los cuales se dispone de vacunas que hacen posible su prevención y, a veces, su tratamiento. La inmunización activa frente a enfermedades infecciosas ha demostrado ser, junto con las medidas generales de prevención, una de las principales formas de proteger a los trabajadores.



b) **Normas de higiene personal:** A continuación se resumen un conjunto de normas de higiene personal a seguir por los trabajadores:

- Cubrir heridas y lesiones de las manos con apósito impermeable, al iniciar la actividad laboral.
- El lavado de manos debe realizarse al comenzar y terminar la jornada y después de realizar cualquier técnica que puede implicar el contacto con material biológico. Dicho lavado se realizará con agua y jabón líquido.
- En situaciones especiales se emplearán sustancias antimicrobianas. Tras el lavado de las manos éstas se secarán con toallas de papel desechables o corriente de aire.
- No comer, beber ni fumar en el área de trabajo.
- El pipeteo con la boca no debe realizarse.

c) **Elementos de protección de barrera:**

Todos los trabajadores de la salud deben utilizar rutinariamente los elementos de protección de barrera apropiados cuando deban realizar actividades que los pongan en contacto directo con agentes biológicos. Dicho contacto puede producirse tanto de forma directa como durante la manipulación de instrumental o de materiales utilizados.

Dentro de los elementos de protección de barrera podemos distinguir los siguientes:

1. Guantes.
2. Mascarillas.
3. Batas.

d) **Cuidado con los objetos cortantes y punzantes:**

Se deben tomar todas las precauciones necesarias para reducir al mínimo las lesiones producidas en el personal por pinchazos y cortes. Para ello es necesario:

- Tomar precauciones en la utilización del material cortante, de las agujas y de las jeringas durante y después de su utilización, así como en los procedimientos de limpieza y de eliminación.
- Los objetos punzantes y cortantes (agujas, jeringas y otros instrumentos afilados) deberán ser depositados en contenedores apropiados con tapa



de seguridad, para impedir su pérdida durante el transporte, estando estos contenedores cerca del lugar de trabajo y evitando su llenado excesivo.

**e) Desinfección y esterilización correcta de instrumentales y superficies:**

El empleo de productos químicos permite desinfectar a temperatura ambiente los instrumentos y superficies que no resisten el calor seco o la temperatura elevada.

Para llevar a cabo una desinfección del tipo que sea, es necesario tener en cuenta:

- a. La actividad desinfectante del producto.
- b. La concentración que ha de tener para su aplicación.
- c. El tiempo de contacto con la superficie que se ha de descontaminar.
- d. Los agentes biológicos que se han de eliminar.

El producto desinfectante debe tener un amplio espectro de actividad y una acción rápida e irreversible, presentando la máxima estabilidad posible frente a ciertos agentes físicos, no debiendo deteriorar los objetos que se han de desinfectar ni tener un umbral olfativo alto ni especialmente molesto. Una correcta aplicación de los desinfectantes será, en general, aquella que permita un mayor contacto entre el desinfectante y la superficie a desinfectar. El producto desinfectante se debe poder aplicar de tal manera que no presente toxicidad aguda o crónica para los animales y el hombre que puedan entrar en contacto con él. Debe tenerse en cuenta que por su propia función, destrucción de microorganismos, muchos desinfectantes tienen características de toxicidad importantes para el hombre, por lo que se deberán adoptar las medidas de protección y prevención adecuadas y seguir siempre las instrucciones para su aplicación, contenidas en la etiqueta y en las fichas de seguridad.

Los desinfectantes que se utilicen deben estar adecuadamente etiquetados según la normativa correspondiente, tanto si se han adquirido comercialmente, como si son de preparación propia. Al adquirir productos químicos, debe exigirse siempre la entrega de la ficha de seguridad correspondiente.

La eficacia de los desinfectantes está limitada por la presencia de materia orgánica, por lo que los tiempos de aplicación de los mismos disminuirá cuando el instrumental que se deba desinfectar esté limpio. En función de los agentes manipulados, se redactarán por parte de cada laboratorio las instrucciones de desinfección en las que consten los desinfectantes y las diluciones a las que se deban emplear.



### **Esterilización:**

Con la esterilización se produce la destrucción de todos los agentes biológicos, incluidos esporas bacterianas, que pueda contener un material. Se debe recordar que, en ciertos casos, los instrumentos son sometidos a la acción de soluciones detergentes o antisépticas para diluir sustancias orgánicas o evitar que se sequen. Dado que este paso no es una verdadera desinfección, estos instrumentos no deberán ser manipulados ni re-utilizados hasta que se efectúe una esterilización.

Existen diferentes tipos de esterilización de los cuales, a continuación, se ofrece un listado:

- a) Esterilización por calor húmedo bajo presión (autoclave): Es el método de elección, por ser el más fiable, eficaz y de fácil empleo. Se introduce el material a esterilizar en bolsas adecuadas y cerradas, dejándose durante 20 minutos a 121°C (para algunos agentes pueden ser necesarias otras condiciones), teniendo la precaución de que la atmósfera del autoclave esté a saturación y desprovista de aire. En este sentido es recomendable disponer de un manual de procedimiento para el trabajo con el autoclave, siguiendo las instrucciones del fabricante.
- b) Esterilización por calor seco: Debe mantenerse por dos horas a partir del momento en que el material ha llegado a los 170°C.

### **9. CABINAS DE SEGURIDAD BIOLÓGICA. RECOMENDACIONES GENERALES.**

Inicio del trabajo:

- Poner en marcha la cabina durante 5-10 minutos, al objeto de purgar los filtros y “lavar” la zona protegida
- Comprobar que el manómetro situado en la parte superior del frontal se estabiliza e indica la presión adecuada (varía con el modelo de cabina).
- Apagar la luz ultravioleta (si estuviera encendida y encender la luz fluorescente).
- Limpiar la superficie de trabajo con un producto adecuado.
- Antes y después de haber trabajado en una cabina deberían lavarse con cuidado las manos y brazos, prestando especial atención a las uñas.
- Se aconseja emplear batas de manga larga con bocamangas ajustadas y guantes de látex.
- En determinados casos, además es recomendable el empleo de mascarilla.

Durante la manipulación:



- Todo el material a utilizar (y nada más) se sitúa en la zona de trabajo antes de empezar. De esta forma se evita tener que estar continuamente metiendo y sacando material durante el tiempo de operación.
- Es aconsejable haber descontaminado el exterior del material que se ha introducido en la cabina.
- Este material se coloca con un orden lógico, de manera que el material contaminado se sitúa en un extremo de la superficie de trabajo y el no contaminado ocupa el extremo opuesto de la misma.
- Según el tipo de manipulación y el modelo de la cabina, la zona de máxima seguridad dentro de la superficie de trabajo varía. En general, se recomienda trabajar a unos 5-10 cm por encima de la superficie y alejado de los bordes de la misma. Especial atención se prestará a no obstruir las rejillas del aire con materiales o residuos.
- Una vez que el trabajo haya comenzado y sea imprescindible la introducción de nuevo material, se recomienda esperar 2-3 minutos antes de reiniciar la tarea. Así se permite la estabilización del flujo de aire. Es conveniente recordar que cuanto más material se introduzca en la cabina, la probabilidad de provocar turbulencias de aire se incrementa.
- Mantener al mínimo la actividad del laboratorio en el que se localiza la cabina en uso, a fin de evitar corrientes de aire que perturben el flujo. El flujo laminar se ve fácilmente alterado por las corrientes de aire ambientales provenientes de puertas o ventanas abiertas, movimientos de personas, sistema de ventilación del laboratorio...
- Evitar los movimientos bruscos dentro de la cabina. El movimiento de los brazos y manos será lento, para así impedir la formación de corrientes de aire que alteren el flujo laminar.
- Al igual que en el resto del laboratorio, no debe utilizarse el mechero Bunsen, cuya llama crea turbulencias en el flujo y además puede dañar el filtro HEPA (si existe).
- Cuando deban emplearse asas de platino es aconsejable el incinerador eléctrico o, mejor aún, asas desechables.
- Si se produce un vertido accidental de material biológico se recogerá inmediatamente, descontaminado la superficie de trabajo y todo el material que en ese momento exista dentro de la cabina.
- No se utilizará nunca una cabina cuando esté sonando alguna de sus alarmas.

Al finalizar el trabajo:

- Limpiar el exterior de todo el material que se haya contaminado.
- Vaciar la cabina por completo de cualquier material.
- Limpiar y descontaminar con alcohol etílico al 70% o producto similar la superficie de trabajo.
- Dejar en marcha la cabina durante al menos 15 minutos.



- Conectar si fuera necesario la luz ultravioleta (UV). Conviene saber que la luz UV tiene poco poder de penetración por lo que su capacidad descontaminante es muy limitada.

Limpieza y desinfección de la cabina de seguridad biológica:

- Se llevará a cabo una desinfección completa en las siguientes situaciones:
  - a) en caso de que se haya producido un vertido importante;
  - b) antes de cualquier reparación;
  - c) antes de iniciarse los chequeos periódicos;
  - d) siempre que se cambie el programa de trabajo;
  - e) cuando se substituyan los filtros HEPA y
  - f) al cambiarla de lugar (incluso dentro del mismo laboratorio).
- Se realizará con vapores de formaldehído y siempre por personal debidamente entrenado y con las prendas de protección personal adecuadas.
- Por otro lado, debe tenerse en cuenta que una buena limpieza de la zona de trabajo es una garantía de ausencia de polvo y otros contaminantes. La limpieza tiene por objeto eliminar la suciedad que se halla adherida a las superficies y que sirve de soporte a los microorganismos. Al limpiar se elimina también la materia orgánica, contribuyendo de forma decisiva a la eficacia de la posterior descontaminación.
- Es conveniente una vez a la semana levantar la superficie de trabajo y limpiar y descontaminar por debajo de ella.
- Nunca se debe utilizar la cabina como almacén transitorio de equipo o material de laboratorio. Esta mala práctica conduce a una acumulación de polvo totalmente innecesaria.
- Evitar introducir en la cabina materiales que emitan partículas fácilmente como algodón, papel, madera, cartón, lápices...

Mantenimiento de la cabina de seguridad biológica:

- Semanalmente se limpiará la superficie de trabajo y el resto del interior de la cabina.
- Semanalmente se pondrá en marcha a fin de comprobar la medida que da el manómetro.
- Mensualmente, con un paño mojado, se limpiarán todas las superficies exteriores con objeto de eliminar el polvo acumulado.
- Mensualmente se revisará el estado de las válvulas interiores con que vaya equipada.
- Anualmente se certificará por una entidad cualificada.

## **10. UTILIZACIÓN DE OTROS EQUIPOS. RECOMENDACIONES GENERALES.**



### a) Normas Generales

- Los equipos y aparatos nunca deben colocarse en zonas de paso, en particular en los pasillos del laboratorio.
- Todos los aparatos con toma eléctrica deberán cumplir las normativas de seguridad correspondientes. Nunca deben utilizarse en zonas mal aisladas y expuestas a la humedad.
- Las fuentes de calor (calentadores, termobloques, etc.), sobre todo si se alcanzan temperaturas elevadas, deberán estar debidamente señalizadas para evitar quemaduras accidentales.
- Todos los procedimientos de utilización de aparatos deberían contar obligatoriamente con apartados relativos a su utilización segura.

### b) Neveras y habitaciones frigoríficas

Un adecuado mantenimiento, limpieza y desinfección sistemáticos de los aparatos reduce considerablemente los riesgos asociados a su utilización. Sin embargo, aun en estas condiciones, hay que tener en cuenta lo siguiente:

- No deben almacenarse cultivos de microorganismos patógenos por inhalación en recipientes que no estén convenientemente cerrados, especialmente si la cámara tiene un sistema de circulación de aire.
- No deben almacenarse reactivos que contengan compuestos volátiles inflamables (éter etílico, por ejemplo) en neveras que no posean un sistema de protección antideflagración. En los aparatos de tipo doméstico que se utilizan en el laboratorio debe anularse la lámpara de la luz.

### c) Congeladores

La congelación es un proceso que mantiene la viabilidad de muchos agentes infecciosos, de ahí un potencial riesgo y las siguientes recomendaciones:

- Tratar de identificar en ficheros, listas, etc. el contenido de lo almacenado y sus riesgos potenciales.
- El material potencialmente infeccioso debe colocarse en tubos, recipientes, etc. bien cerrados. No se llenarán completamente, para evitar que rebosen por efecto del aumento de volumen tras la congelación.
- Descongelar periódicamente, limpiar y desinfectar si fuese procedente.



- Utilizar guantes para manipular el contenido. Si la temperatura es baja (por ejemplo  $-70^{\circ}\text{C}$  o inferior), los guantes representan una protección adicional.

#### **d) Estufas e incubadores**

La limpieza y la desinfección, periódicas y sistemáticas, son el método recomendable para reducir los riesgos derivados de la contaminación accidental del personal del laboratorio.

#### **e) Microondas**

Los microondas cada vez son más populares en el Laboratorio de Microbiología y constituyen una nueva fuente de accidentes, entre los más frecuentes las explosiones cuando se usan para calentar medios con agar, ya que la diferencia de velocidad de calentamiento produce burbujas que pueden estallar.

- Las botellas o matraces deben tener el tapón aflojado, ya que si está cerrado estallan fácilmente.
- Estar siempre presente, con la ropa y pantalla facial adecuadas, y controlar la intensidad del aparato, que sólo puede ser la máxima con agua y la mínima si se usa con agar.
- Deberá existir una tabla bien visible de los tiempos en cada posición del potenciómetro y de las cantidades a emplear.
- Los microondas interfieren con los marcapasos. No deben ser colocados a una distancia inferior a 2 m de las personas que sean portadoras de uno de estos dispositivos.

#### **f) Autoclaves**

Los autoclaves deben poseer manómetro y termostato, así como válvula de seguridad, sistema de desconexión rápido y la purga del vapor ha de realizarse a un recipiente estanco y con agua, jamás directamente al exterior.

- No deben usarse si no se conocen perfectamente todos los mandos y su fundamento.
- Usar guantes especiales para protegerse del calor.
- No abrir jamás si el manómetro no está a "0" y la purga no ha sido abierta.
- Controlar una vez al mes su capacidad de desinfección mediante esporas, no siendo suficiente el método químico. El uso de registros de presión y



temperatura de cada proceso y la instauración de un programa de mantenimiento también puede ser una alternativa válida al control mediante esporas. El agua debe ser cambiada regularmente.

### **g) Centrífugas**

Los mayores riesgos derivan, sobre todo, de la contaminación por los aerosoles generados durante la centrifugación de materiales biológicos y, en menor medida, de los traumatismos accidentales. Se recomienda:

- Cuando se centrifugue material biológico potencialmente infeccioso deben utilizarse tubos cerrados; la centrífuga debe disponer de rotores o cestillos de seguridad que protejan al operador de los posibles aerosoles.
- La rotura accidental de un tubo y su vertido en la cubeta representa una incidencia importante que debe ser comunicada inmediatamente al Supervisor responsable, de forma que se proceda a la desinfección segura del aparato.
- No se deben utilizar centrífugas antiguas que no posean sistema de cierre de seguridad, del que disponen todos los aparatos actuales, ni manipular éstas de forma que permitan su apertura mientras están en funcionamiento.
- Si el laboratorio dispone de ultracentrífugas, el equilibrado cuidadoso del rotor es fundamental.

### **h) Miscelánea**

- Las bombas de vacío y los aspiradores deberán contar con las correspondientes trampas y filtros.
- Los baños de agua ("baños maría") deberán contener un desinfectante adecuado, ser limpiados una vez a la semana y desinfectados con periodicidad mensual.
- En la zona de trabajo no debe colocarse directamente material de escritorio ni libros, ya que el papel contaminado es de difícil esterilización o desinfección.



UNIVERSIDAD DE JAÉN

Servicio de Prevención de Riesgos Laborales



ANEXO I

**CLASIFICACIÓN DE LOS AGENTES BIOLÓGICOS**



Agente biológico	Clasificación	Notas	Agente biológico	Clasificación	Notas
<b>Bacterias y afines</b>			<i>Chlamydia psittaci</i> (cepas aviáres) .....	3	
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> ....	2		<i>Chlamydia psittaci</i> (cepas no aviáres) ...	2	
<i>Actinomadura madurae</i> .....	2		<i>Clostridium botulinum</i> .....	2	T
<i>Actinomadura pelletieri</i> .....	2		<i>Clostridium peffringens</i> .....	2	
<i>Actinomyces gerencseriae</i> .....	2		<i>Clostridium tetani</i> .....	2	T.V.
<i>Actinomyces israelii</i> .....	2		<i>Clostridium</i> spp .....	2	
<i>Actinomyces pyogenes</i> .....	2		<i>Corynebacterium diphtheriae</i> .....	2	T.V.
<i>Actinomyces</i> spp.....	2		<i>Corynebacterium minutissimum</i> .....	2	
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i> ( <i>Corynebacterium haemolyticum</i> ) .....	2		<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> .....	2	
<i>Bacillus anthracis</i> .....	3		<i>Corynebacterium</i> spp.....	2	
<i>Bacteroides fragilis</i> .....	2		<i>Coxiella burnetii</i> .....	3	
<i>Bartonella (Rochalimea)</i> spp .....	2		<i>Edwardsiella tarda</i> .....	2	
<i>Bartonella bacilliformis</i> .....	2		<i>Ehrlichia sennetsu (Rickettsia sennetsu)</i> ...	2	
<i>Bartonella quintana</i> .....	2		<i>Ehrlichia</i> spp .....	2	
<i>Bordetella bronchiseptica</i> .....	2		<i>Eikenella corrodens</i> .....	2	
<i>Bordetella parapertussis</i> .....	2		<i>Enterobacter aerogenes/cloacae</i> .....	2	
<i>Bordetella pertussis</i> .....	2	V	<i>Enterobacter</i> spp .....	2	
<i>Borrelia burgdorferi</i> .....	2		<i>Enterococcus</i> spp.....	2	
<i>Borrelia duttonii</i> .....	2		<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> .....	2	
<i>Borrelia recurrentis</i> .....	2		<i>Escherichia coli</i> (excepto las cepas no patógenas).....	2	
<i>Borrelia</i> spp.....	2		<i>Escherichia coli, cepas verocitotóxicas</i> (por ejemplo 0157:H7 ó 0103).....	3 <sup>o</sup>	T
<i>Brucella abortus</i> .....	3		<i>Flavobacterium meningosepticum</i> .....	2	
<i>Brucella canis</i> .....	3		<i>Fluoribacter bozemanæ (Legionella)</i> .....	2	
<i>Brucella melitensis</i> .....	3		<i>Francisella tularensis</i> (tipo A).....	3	
<i>Brucella suis</i> .....	3		<i>Francisella tularensis</i> (tipo B).....	2	
<i>Burkholderia mallei (Pseudomonas mallei)</i> ..	3		<i>Fusobacterium necrophorum</i> .....	2	
<i>Burkholderia pseudomallei</i> ( <i>Pseudomonas pseudomallei</i> ) .....	3		<i>Gardnerella vaginalis</i> .....	2	
<i>Campylobacter fetus</i> .....	2		<i>Haemophilus ducreyi</i> .....	2	
<i>Campylobacter jejuni</i> .....	2		<i>Haemophilus influenzae</i> .....	2	
<i>Campylobacter</i> spp.....	2		<i>Haemophilus</i> spp.....	2	
<i>Cardiobacterium hominis</i> .....	2		<i>Helicobacter pylori</i> .....	2	
<i>Chlamydia pneumoniae</i> .....	2		<i>Klebsiella oxytoca</i> .....	2	
<i>Chlamydia trachomatis</i> .....	2		<i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	2	

PREVENCIÓN DE RIESGOS



Agente biológico	Clasificación	Notas	Agente biológico	Clasificación	Notas
<i>Klebsiella</i> spp.....	2		<i>Rhodococcus equi</i> .....	2	
<i>Legionella pneumophila</i> .....	2		<i>Rickettsia akari</i> .....	3 <sup>o</sup>	
<i>Legionella</i> spp .....	2		<i>Rickettsia canada</i> .....	3 <sup>o</sup>	
<i>Leptospira interrogans</i>			<i>Rickettsia conorii</i> .....	3	
(todos los serotipos).....	2		<i>Rickettsia montana</i> .....	3 <sup>o</sup>	
<i>Listeria monocytogenes</i> .....	2		<i>Rickettsia typhi (Rickettsia mooseri)</i> .....	3	
<i>Listeria ivanovii</i> .....	2		<i>Rickettsia prowazekii</i> .....	3	
<i>Morganella morganii</i> .....	2		<i>Rickettsia rickettsii</i> .....	3	
<i>Mycobacterium africanum</i> .....	3	V	<i>Rickettsia tsutsugamushi</i> .....	3	
<i>Mycobacterium avium/intracellulare</i> .....	2		<i>Rickettsia</i> spp.....	2	
<i>Mycobacterium bovis</i>			<i>Salmonella arizonae</i> .....	2	
(excepto la cepa BCG) .....	3	V	<i>Salmonella enteritidis</i> .....	2	
<i>Mycobacterium chelonae</i> .....	2		<i>Salmonella typhimurium</i> .....	2	
<i>Mycobacterium fortuitum</i> .....	2		<i>Salmonella paratyphi A, B, C</i> .....	2	V
<i>Mycobacterium kansasii</i> .....	2		<i>Salmonella typhi</i> .....	3 <sup>o</sup>	V
<i>Mycobacterium leprae</i> .....	3		<i>Salmonella (otras variedades serológicas)</i> ..	2	
<i>Mycobacterium malmoense</i> .....	2		<i>Serpulina</i> spp .....	2	
<i>Mycobacterium marinum</i> .....	2		<i>Shigella boydii</i> .....	2	
<i>Mycobacterium microti</i> .....	3 <sup>o</sup>		<i>Shigella dysenteriae</i> (tipo 1) .....	3 <sup>o</sup>	T
<i>Mycobacterium paratuberculosis</i> .....	2		<i>Shigella dysenteriae</i>		
<i>Mycobacterium scrofulaceum</i> .....	2		(con excepción del tipo 1) .....	2	
<i>Mycobacterium simiae</i> .....	2		<i>Shigella flexneri</i> .....	2	
<i>Mycobacterium szulgai</i> .....	2		<i>Shigella sonnei</i> .....	2	
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> .....	3	V	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	2	
<i>Mycobacterium ulcerans</i> .....	3 <sup>o</sup>		<i>Streptobacillus moniliformis</i> .....	2	
<i>Mycobacterium xenopi</i> .....	2		<i>Streptococcus pneumoniae</i> .....	2	
<i>Mycoplasma caviae</i> .....	2		<i>Streptococcus pyogenes</i> .....	2	
<i>Mycoplasma hominis</i> .....	2		<i>Streptococcus suis</i> .....	2	
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> .....	2		<i>Streptococcus</i> spp.....	2	
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> .....	2		<i>Treponema carateum</i> .....	2	
<i>Neisseria meningitidis</i> .....	2	V	<i>Treponema pallidum</i> .....	2	
<i>Nocardia asteroides</i> .....	2		<i>Treponema pertenuae</i> .....	2	
<i>Nocardia brasiliensis</i> .....	2		<i>Treponema</i> spp .....	2	
<i>Nocardia farcinica</i> .....	2		<i>Vibrio cholerae</i> (Incluido El Tor) .....	2	
<i>Nocardia nova</i> .....	2		<i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	2	
<i>Nocardia otitidiscaviarum</i> .....	2		<i>Vibrio</i> spp.....	2	
<i>Pasteurella multocida</i> .....	2		<i>Yersinia enterocolitica</i> .....	2	
<i>Pasteurella</i> spp.....	2		<i>Yersinia pestis</i> .....	3	V
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> .....	2		<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> .....	2	
<i>Plesiomonas shigelloides</i> .....	2		<i>Yersinia</i> spp.....	2	
<i>Porphyromonas</i> spp .....	2				
<i>Prevotella</i> spp.....	2		<b>Virus</b>		
<i>Proteus mirabilis</i> .....	2		<i>Adenoviridae</i> .....	2	
<i>Proteus penneri</i> .....	2				
<i>Proteus vulgaris</i> .....	2		<i>Arenaviridae:</i>		
<i>Providencia alcalifaciens</i> .....	2		Complejos virales LCM-Lassa		
<i>Providencia rettgeri</i> .....	2		(arenavirus del Viejo Continente):		
<i>Providencia</i> spp.....	2		Virus Lassa.....	4	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	2		Virus de la coriomeningitis linfocítica		
			(cepas neurotrópicas) .....	3	



Agente biológico	Clasificación	Notas	Agente biológico	Clasificación	Notas
Virus de la coriomeningitis linfocítica (otras cepas).....	2		<i>Coronaviridae</i> .....	2	
Virus Mopeia.....	2		<i>Filoviridae</i> :		
Otros complejos virales LCM-Lassa.....	2		Virus Ebola.....	4	
Complejos virales Tacaribe (arenavirus del Nuevo Mundo):			Virus de Marburg.....	4	
Virus Flexal.....	3		<i>Flaviviridae</i> :		
Virus Guanarito.....	4		Encefalitis de Australia (Encefalitis del Valle Murray).....	3	
Virus Junin.....	4		Virus de la encefalitis de las garrapatas de Europa Central.....	3 <sup>o</sup>	V
Virus Machupo.....	4		Absettarov.....	3	
Virus Sabia.....	4		Hanzalova.....	3	
Otros complejos virales Tacaribe.....	2		Hypr.....	3	
<i>Astroviridae</i> .....	2		Kumlinge.....	3	
<i>Bunyaviridae</i> :			Virus del dengue tipos 1-4.....	3	
Belgrade (también conocido como Dobrava).....	3		Virus de la hepatitis C.....	3 <sup>o</sup>	D
Bhanja.....	2		Hepatitis G.....	3 <sup>o</sup>	D
Virus Bunyamwera.....	2		Encefalitis B japonesa.....	3	V
Germiston.....	2		Bosquede Kyasamur.....	3	V
Sin nombre (antes Muerto Canyon)	3		Mal de Louping.....	3 <sup>o</sup>	
Virus Oropouche.....	3		Omsk (a).....	3	V
Virus de la encefalitis de California.....	2		Powassan.....	3	
<i>Hantavirus</i> :			Rocio.....	3	
Hantaan (Fiebre hemorrágica de Corea).....	3		Encefalitisverno-estival rusa (a).....	3	V
Virus Seoul.....	3		Encefalitis de St Louis.....	3	
Virus Puumala.....	2		Virus Wesselsbron.....	3 <sup>o</sup>	
Virus Prospect Hill.....	2		Virus del Nilo occidental.....	3	
Otros hantavirus.....	2		Fiebre amarilla.....	3	V
<i>Nairovirus</i> :			Otros flavivirus de conocida patogenicidad.....	2	
Virus de la fiebre hemorrágica de Crimea/Congo.....	4		<i>Hepadnaviridae</i> :		
Virus Hazara.....	2		Virus de la hepatitis B.....	3 <sup>o</sup>	V, D
<i>Flebovirus</i> :			Virus de la hepatitis D (Delta) (b).....	3 <sup>o</sup>	V, D
De la Fiebre del valle Rift.....	3	V	<i>Herpesviridae</i> :		
Virus de los flebotomos.....	2		Cytomegalovirus.....	2	
Virus Toscana.....	2		Virus de Epstein-Barr.....	2	
Otros bunyavirus de patogenicidad conocida.....	2		Herpesvirus simlae (virus B).....	3	
<i>Caliciviridae</i>			Herpes simplex virus tipos 1 y 2.....	2	
Virus de la Hepatitis E.....	3 <sup>o</sup>		Herpesvirus varicella-zoster.....	2	
Virus Norwalk.....	2		Virus linfotrópico humano B (HBLV-HHV6).....	2	
Otros Caliciviridae.....	2		Herpes virus humano 7.....	2	
			Herpes virus humano 8.....	2	D



Agente biológico	Clasificación	Notas	Agente biológico	Clasificación	Notas
<i>Orthomyxoviridae:</i>			<i>Reoviridae:</i>		
Virus de la influenza tipos A, B y C ...	2	V (c)	Coltivirus .....	2	
Ortomixovirus transmitidos por garrapatas: Virus Dhori y Thogoto ..	2		Rotavirus humanos .....	2	
<i>Paramyxoviridae:</i>			Orbivirus.....	2	
Virus BK y JC .....	2	D (d)	Reovirus.....	2	
Virus del papiloma humano .....	2	D (d)	<i>Retroviridae:</i>		
<i>Paramyxoviridae:</i>			Virus de inmunodeficiencia humana .....	3 <sup>n</sup>	D
Virus del sarampión.....	2	V	Virus de las leucemias humanas de las células T (HTLV) tipos 1 y 2..	3 <sup>n</sup>	D
Virus de las paperas .....	2	V	Virus SIV(h) .....	3 <sup>n</sup>	
Virus de la enfermedad de Newcastle. ....	2		<i>Rhabdoviridae:</i>		
Virus de la parainfluenza tipos 1 a 4	2		Virus de la rabia .....	3 <sup>n</sup>	V
Virus respiratorio sincitial .....	2		Virus de la estomatitis vesicular .....	2	
<i>Parvoviridae:</i>			<i>Togaviridae:</i>		
Parvovirus humano (B 19) .....	2		<i>Alfavirus:</i>		
<i>Picornaviridae:</i>			Encefalomieltis equina americana oriental. ....	3	V
Virus de la conjuntivitis hemorrágica (AHC) .....	2		Virus Bebaru .....	2	
Virus Cocksackie .....	2		Virus Chikungunya .....	3 <sup>n</sup>	
Virus Echo.....	2		Virus Everglades .....	3 <sup>n</sup>	
Virus de la hepatitis A (enterovirus humano tipo 72) .....	2	V	Virus Mayaro .....	3	
Poliovirus.....	2	V	Virus Mucambo.....	3 <sup>n</sup>	
Rinovirus .....	2		Virus Ndumu.....	3	
<i>Poxviridae:</i>			Virus Onyong-nyong.....	2	
Buffalopox virus (e) .....	2		Virus del río Ross.....	2	
Cowpox virus.....	2		Virus del bosque Semliki .....	2	
Elephantpox virus (f) .....	2		Virus Sindbis .....	2	
Virus del nódulo de los ordeñadores ..	2		Virus Tonate .....	3 <sup>n</sup>	
<i>Molluscum contagiosum virus</i> .....	2		De la encefalomieltis equina venezolana .....	3	V
Monkeypox virus .....	3	V	De la encefalomieltis equina americana occidental .....	3	V
Orf virus .....	2		Otros alfavirus conocidos.....	2	
Rabbitpox virus (g).....	2		Rubivirus (rubeola) .....	2	V
Vaccinia Virus.....	2		<i>Toroviridae</i> .....		
Variola (major & minor) virus .....	4	V	<i>Virus no clasificados:</i>		
"Whitepox" virus (variola virus) .....	4	V	Virus de la hepatitis todavía no identificados .....	3 <sup>n</sup>	D
Yatapox virus (Tana & Yaba).....	2		Morbillivirus equino .....	4	



Agente biológico	Clasificación	Notas	Agente biológico	Clasificación	Notas
<i>Agentes no clasificados asociados a encefalopatías espongiformes transmisibles (TSE)</i>			<i>Leishmania ethiopica</i> .....	2	
			<i>Leishmania mexicana</i> .....	2	
			<i>Leishmania peruviana</i> .....	2	
La enfermedad de Creutzfeldt-Jakob...	3 (1)	D (d)	<i>Leishmania tropica</i> .....	2	
Variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD) .....	3 (1)	D (d)	<i>Leishmania major</i> .....	2	
Encefalopatía espongiforme bovina (BSE) y otras TSE de origen animal afines (1).....	3 (1)	D (d)	<i>Leishmania spp</i> .....	2	
El síndrome de Gerstmann-Straussler-Scheinker .....	3 (1)	D (d)	<i>Loa loa</i> .....	2	
Kuru.....	3 (1)	D (d)	<i>Mansonella ozzardi</i> .....	2	
			<i>Mansonella perstans</i> .....	2	
			<i>Naegleria fowleri</i> .....	3	
			<i>Necator americanus</i> .....	2	
			<i>Onchocerca volvulus</i> .....	2	
			<i>Opisthorchis felinus</i> .....	2	
			<i>Opisthorchis spp</i> .....	2	
			<i>Paragonimus westermani</i> .....	2	
			<i>Plasmodium falciparum</i> .....	3 (1)	
			<i>Plasmodium spp (humano y símico)</i> .....	2	
			<i>Sarcocystis suihominis</i> .....	2	
			<i>Schistosoma haematobium</i> .....	2	
			<i>Schistosoma intercalatum</i> .....	2	
			<i>Schistosoma japonicum</i> .....	2	
			<i>Schistosoma mansoni</i> .....	2	
			<i>Schistosoma mekongi</i> .....	2	
			<i>Strongyloides stercoralis</i> .....	2	
			<i>Strongyloides spp</i> .....	2	
			<i>Taenia saginata</i> .....	2	
			<i>Taenia solium</i> .....	3 (1)	
			<i>Toxocara canis</i> .....	2	
			<i>Toxoplasma gondii</i> .....	2	
			<i>Trichinella spiralis</i> .....	2	
			<i>Trichuris trichiura</i> .....	2	
			<i>Trypanosoma brucei brucei</i> .....	2	
			<i>Trypanosoma brucei gambiense</i> .....	2	
			<i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i> .....	3 (1)	
			<i>Trypanosoma cruzi</i> .....	3	
			<i>Wuchereria bancrofti</i> .....	2	
			<b>Hongos</b>		
			<i>Aspergillus fumigatus</i> .....	2	A
			<i>Blastomyces dermatitidis (Ajellomyces dermatitidis)</i> .....	3	
			<i>Candida albicans</i> .....	2	A
			<i>Candida tropicalis</i> .....	2	
			<i>Cladophialophora bantiana (antes :Xylophypha bantiana, Cladosporium bantianum o trichoides) ...</i>	3	
			<i>Coccidioides immitis</i> .....	3	A
<b>Parásitos</b>					
<i>Acanthamoeba castellani</i> .....	2				
<i>Ancylostoma duodenale</i> .....	2				
<i>Angiostrongylus cantonensis</i> .....	2				
<i>Angiostrongylus costaricensis</i> .....	2				
<i>Ascaris lumbricoides</i> .....	2	A			
<i>Ascaris suum</i> .....	2	A			
<i>Babesia divergens</i> .....	2				
<i>Babesia microti</i> .....	2				
<i>Balantidium coli</i> .....	2				
<i>Brugia malayi</i> .....	2				
<i>Brugia pahangi</i> .....	2				
<i>Capillaria philippinensis</i> .....	2				
<i>Capillaria spp</i> .....	2				
<i>Clonorchis sinensis</i> .....	2				
<i>Clonorchis viverrini</i> .....	2				
<i>Cryptosporidium parvum</i> .....	2				
<i>Cryptosporidium spp</i> .....	2				
<i>Cyclospora cayetanensis</i> .....	2				
<i>Dipetalonema streptocerca</i> .....	2				
<i>Diphyllobothrium latum</i> .....	2				
<i>Dracunculus medinensis</i> .....	2				
<i>Echinococcus granulosus</i> .....	3 (1)				
<i>Echinococcus multilocularis</i> .....	3 (1)				
<i>Echinococcus vogeli</i> .....	3 (1)				
<i>Entamoeba histolytica</i> .....	2				
<i>Fasciola gigantica</i> .....	2				
<i>Fasciola hepatica</i> .....	2				
<i>Fasciolopsis buski</i> .....	2				
<i>Giardia lamblia (Giardia intestinalis)</i> .....	2				
<i>Hymenolepis diminuta</i> .....	2				
<i>Hymenolepis nana</i> .....	2				
<i>Leishmania brasiliensis</i> .....	3 (1)				
<i>Leishmania donovani</i> .....	3 (1)				



Agente biológico	Clasificación	Notas	Agente biológico	Clasificación	Notas
<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i> ( <i>Filobasidiella neoformans</i> var. <i>neoformans</i> ) ....	2	A	<i>Sporothrix schenckii</i> .....	2	
<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>gattii</i> ( <i>Filobasidiella bacillispora</i> ) .....	2	A	<i>Trichophyton rubrum</i> .....	2	
<i>Emmonsia parva</i> var. <i>Parva</i> .....	2		<i>Trichophyton</i> spp.....	2	
<i>Emmonsia parva</i> var. <i>Crescens</i> .....	2		(a) Encefalitis vehiculada por la garrapata.		
<i>Epidermophyton floccosum</i> .....	2	A	(b) El virus de la hepatitis D precisa de otra infección simultánea o secundaria a la provocada por el virus de la hepatitis B para ejercer su poder patógeno en los trabajadores.		
<i>Fonsecaea compacta</i> .....	2		La vacuna contra el virus de la hepatitis B protegerá, por lo tanto, a los trabajadores no afectados por el virus de la hepatitis B, contra el virus de la hepatitis D (Delta).		
<i>Fonsecaea pedrosoi</i> .....	2		(c) Sólo por lo que se refiere a los tipos A y B.		
<i>Histoplasma capsulatum</i> var. <i>capsulatum</i> ( <i>Ajellomyces capsulatus</i> ) .....	3		(d) Recomendado para los trabajos que impliquen un contacto directo con estos agentes.		
<i>Histoplasma capsulatum duboisii</i> .....	3		(e) Se pueden identificar dos virus distintos bajo este epígrafe: un género «buffalopox» virus y una variante de «vaccinia» virus.		
<i>Madurella grisea</i> .....	2		(f) Variante de «cowpox».		
<i>Madurella mycetomatis</i> .....	2		(g) Variante de «vaccinia».		
<i>Microsporium</i> spp.....	2	A	(h) No existe actualmente ninguna prueba de enfermedad humana provocada por otro retrovirus de origen simio. Como medida de precaución, se recomienda un nivel 3 de contención para los trabajos que supongan una exposición a estos retrovirus.		
<i>Neotestudina rosatii</i> .....	2		(i) 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 el laboratorio relacionado con el agente identificado de la tembladera (scrapie) de los ovinos, para el que es suficiente un nivel 2 de contención.		
<i>Paracoccidioides brasiliensis</i> .....	3				
<i>Penicillium marneffei</i> .....	2	A			
<i>Scedosporium apiospermum</i> ( <i>Pseudallescheria boydii</i> ) .....	2				
<i>Scedosporium prolificans</i> ( <i>inflatum</i> ) .....	2				



ANEXO II**INDICACIONES RELATIVAS A LAS MEDIDAS DE CONTENCIÓN Y A LOS NIVELES DE CONTENCIÓN**

Las medidas que figuran en el presente anexo se aplicarán según la naturaleza de las actividades, la evaluación del riesgo para los trabajadores y las características del agente biológico de que se trate.

A. Medidas de contención	B. Niveles de contención		
	2	3	4
1. El lugar de trabajo se encontrará separado de toda actividad que se desarrolle en el mismo edificio.	No.	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.	No.	Sí, para la salida de aire.	Sí, para la entrada y la salida de aire.
3. Solamente se permitirá el acceso al personal designado.	Aconsejable.	Sí.	Sí, con exclusión de aire.
4. El lugar de trabajo deberá poder precintarse para permitir su desinfección.	No.	Aconsejable.	Sí.
5. Procedimientos de desinfección especificados.	Sí.	Sí.	Sí.
6. El lugar de trabajo se mantendrá con una presión negativa respecto a la presión atmosférica.	No.	Aconsejable.	Sí.
7. Control eficiente de vectores, por ejemplo, de roedores e insectos.	Aconsejable.	Sí.	Sí.
8. Superficies impermeables al agua y de fácil limpieza.	Sí, para el banco de pruebas o mesa de trabajo.	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.	Aconsejable.	Sí.	Sí.
10. Almacenamiento de seguridad para agentes biológicos.	Sí.	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.	Aconsejable.	Sí.
12. Laboratorio con equipo propio.	No.	Aconsejable.	Sí.
13. El material infectado, animales incluidos, deberá manejarse en una cabina de seguridad biológica o en un aislador u otra contención apropiada.	Cuando proceda.	Sí, cuando la infección se propague por el aire.	Sí.
14. Incinerador para destrucción de animales muertos.	Aconsejable.	Sí (disponible).	Sí, en el mismo lugar.



### ANEXO III

#### **RIESGOS DERIVADOS DEL TRABAJO CON CULTIVOS CELULARES**

Los cultivos celulares son el resultado del crecimiento “in vitro” de células obtenidas de organismos pluricelulares. Tienen la categoría de agentes biológicos según la definición recogida en el Artículo 2; se refiere en este caso, tanto a cultivos celulares primarios, como a los de líneas continuas celulares o cepas celulares bien definidas.

Los cultivos celulares no contaminados generalmente no presentan un riesgo significativo, y aun la inoculación dérmica origina sólo una inflamación local. Sin embargo, estos cultivos pueden contribuir sustancialmente al riesgo de exposición a agentes biológicos ya que pueden actuar como la base o ayudar a la supervivencia y/o la replicación de agentes oportunistas, o ser origen de otros riesgos potenciales. Los agentes oportunistas más característicos son los virus y entre los otros riesgos pueden citarse la contaminación por micoplasmas, o productos celulares que pueden ser moléculas biológicamente activas con propiedades farmacológicas, de inmunomodulación o sensibilizantes.

#### **Evaluación del riesgo**

El nivel de riesgo que presenta el trabajo con cultivos celulares es variado. Por un lado se debe considerar si las cepas o líneas celulares utilizadas tienen una procedencia lo suficientemente documentada para garantizar y evitar la problemática asociada con la contaminación cruzada de la línea celular original por otro tipo de células. Respecto a los cultivos celulares habrá que considerar asimismo tanto su origen anatómico como el de la especie, ya que está directamente relacionado con su potencial infeccioso por virus u otros agentes patógenos en humanos. En ningún caso el trabajador que realice los cultivos celulares podrá utilizar sus propias células para el desarrollo “in vitro”. Las células humanas para cultivo deberán obtenerse solamente de individuos que no tengan relación con el trabajo experimental.

Los cultivos celulares de mayor riesgo son los proceden de primates y humanos, especialmente si derivan de sangre periférica, tejido linfoide y nervioso. Cuando se sospeche la infección del cultivo celular por un agente patógeno para el hombre, dichos cultivos deberán ser manejados en un nivel de contención adecuado al agente en cuestión.

La elección del nivel de contención, según el origen del cultivo celular, se muestra en la siguiente Tabla:



CULTIVO CELULAR	CONTENCIÓN
Líneas celulares bien caracterizadas de origen humano o de simios.	Nivel de contención 2 y empleo de cabina de bioseguridad.
Líneas celulares no humanas ni de simios bien caracterizadas, con bajo riesgo de infección endógena con patógenos humanos.	
Líneas celulares o cepas no totalmente caracterizadas o autenticadas.	Nivel de contención 2 y empleo de cabina de bioseguridad.
Células con patógenos endógenos y células deliberadamente infectadas.	Contención apropiada al patógeno.
Células sanguíneas humanas, células linfoides, tejido nervioso de origen humano o simio.	Contención apropiada al riesgo potencial.

Hay un riesgo adicional en el caso de cultivos celulares genéticamente modificados.

#### **Riesgos en los procedimientos de cultivos celulares:**

En la manipulación de cultivos celulares deberán minimizarse todas las tareas que contribuyan a la formación de aerosoles o salpicaduras: trasvases, derrames, pipeteos continuados y rápidos, .... Las agujas no deberán utilizarse si existe una alternativa razonable. Como en todo trabajo con material infeccioso o potencialmente infeccioso, deberán utilizarse cabinas de seguridad biológica, las cuales estarán correctamente instaladas y regularmente mantenidas y comprobadas.

Algunos productos celulares pueden ser alergénicos por lo que en estos casos se requerirán unos estrictos niveles de contención primaria y/o protección personal de los trabajadores para prevenir la inhalación o el contacto con las mucosas.

#### **Contención:**

Como se indico en la Tabla anterior, cuando hay evidencia o sospecha de la presencia de patógenos (por ejemplo: Herpesvirus simiae en tejidos de simios o VIH en células blancas de sangre periférica), los cultivos celulares se manipularán en el nivel de contención requerido para el patógeno en cuestión. Todos los procedimientos implicados en la propagación de cultivos celulares



que estén contaminados deberían llevarse a cabo como mínimo en el nivel de contención 2, en la realización de las manipulaciones.

Cuando se utilice sólo un pequeño número de células con un bajo riesgo de infección y no se encuentren en fase proliferativa podrá no ser necesaria la cabina de seguridad. Por el contrario, donde el volumen y número de células es alto (proceso a gran escala) o donde el nivel de exposición va aumentando por la inevitable producción de aerosoles, los niveles de contención y planes de contingencia deberán ser más estrictos.

### **Desinfección y desecho de residuos:**

Es necesaria la existencia de normas efectivas para la descontaminación de todos los materiales utilizados en relación con los cultivos celulares y fluidos de desecho.

Los procedimientos de descontaminación deberán ser capaces de inactivar virus y otros agentes contaminantes aun en presencia de fluidos con una elevada carga de material orgánico. La descontaminación química es por esta causa menos efectiva que la que se obtiene por calor.

El riesgo de infección en las sucesivas etapas necesarias para el tratamiento de los desechos deberá ser valorado, tomando las medidas adecuadas en cada caso.

### **Conclusiones:**

Para el manejo seguro de los cultivos celulares es necesaria una valoración adecuada de los riesgos, una buena organización del trabajo y la aplicación de los principios de las buenas prácticas en el laboratorio. Es importante adoptar procedimientos de separación que prevengan la transmisión accidental de agentes infecciosos de un cultivo a otro. Para evitar dichas transmisión así como la contaminación cruzada entre células, sólo deberá manipularse una línea celular cada vez, utilizando métodos adecuados de descontaminación, especialmente en las operaciones desarrolladas entre diferentes tipos de células.

Es recomendable que los cultivos celulares que están infectados se manipulen al final del período de trabajo o preferiblemente en un laboratorio diferente de los que se reconocen como libres de infección.



## ANEXO IV

### **BIBLIOGRAFÍA Y OTRAS FUENTES DE INFORMACIÓN**

- INSHT. Guía Técnica para la Evaluación y Prevención de Riesgos relacionados con la Exposición a Agentes Biológicos.
- 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.
- Organización Mundial de la Salud. Manual de Bioseguridad en el laboratorio. Ginebra 1994.
- Furr, A.K. CRC Handbook of Laboratory Safety. CRC Press, Boca Ratón, FL 1989.
- INSALUD. Manual de gestión interna para residuos de centros sanitarios. INSALUD. Madrid 1990.
- INSHT. Condiciones de Trabajo en Centros Sanitarios. Madrid 2000
- INSHT. Prevención de Riesgos Biológicos en el Laboratorio. Madrid 1997
- INSHT. Notas Técnicas de Prevención, números 202, 203, 299, 351, 372, 376, 384, 398, 402, 411 y 422.
- European Chemical Industry Council (CEFIC). Guidance on the health protection of pregnant, recently delivered and breast-feeding women at work. Guía de la Directiva 92/85/EEC.
- ACDP-HSE. Categorisation of biological agent according to hazard and categories of containment. 1995.
- HSE. Biological Agent Approved Codes of Practice. HSE Book.
- Silva, J.; Fernández, I. Curso Riesgos Biológicos y Trabajo. GTP Cantabria. 1995.

### **BIBLIOGRAFÍA PARA LA AYUDA DE LA CLASIFICACIÓN DE LOS AGENTES BIOLÓGICOS**

- Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.  
Vol. 1, Krieg, N.R.; Holt, J.G., 1984  
Vol. 2, Sneath, P.H.; Mair, N.S. 1986

#### ***Vol. 3, Staley, J.T.; Bryant, M.P. 1989***

Vol. 4, Williams, S.T.; Sharpe, M.E. 1989

- Francki RIB; Fanquet C.M.; Knudson, D.L.; Brown, F. (Eds.). Classification and nomenclature of viruses-Fifth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. 1991. Archives of Virology. Supple.2. Springer-Verlag.



UNIVERSIDAD DE JAÉN

Servicio de Prevención de Riesgos Laborales

- Noble E. R.; Noble G. A. Parasitology: The biology of the animal parasites. 1989. (6th edit.) Leaand Febigier.
- HMSO. Medical Research Council Nomenclature of Fungi Pathogenic to man and animals.1977.

HMSO

- En Internet:

Index to material safety data sheets (MSDS) for infectious substances.

<http://www.hc-sc.gc.ca/main/lcdc/web/biosafety/msds/index.html>.

Base de datos de patógenos aerotransportados.

<http://www.bio.psu.edu/People/Faculty/Whittan/apdbase/aplist.html>

