

PARA LA EVALUACIÓN  
Y PREVENCIÓN  
DE LOS RIESGOS RELACIONADOS CON LA

EXPOSICIÓN  
a  
AGENTES BIOLÓGICOS

REAL DECRETO 664/1997, de 12 de mayo  
BOE nº 124, de 24 de mayo



MINISTERIO  
DE TRABAJO  
Y ASUNTOS SOCIALES



INSTITUTO NACIONAL  
DE SEGURIDAD E HIGIENE  
EN EL TRABAJO

PARA LA EVALUACIÓN  
Y PREVENCIÓN  
DE LOS RIESGOS RELACIONADOS CON LA

# EXPOSICIÓN a AGENTES BIOLÓGICOS

REAL DECRETO 664/1997, de 12 de mayo  
BOE nº 124, de 24 de mayo



MINISTERIO  
DE TRABAJO  
Y ASUNTOS SOCIALES



INSTITUTO NACIONAL  
DE SEGURIDAD E HIGIENE  
EN EL TRABAJO

## PRESENTACIÓN

Esta Guía Técnica tiene como finalidad facilitar la comprensión y aplicación del Real Decreto 664/1997, de 12 de mayo, sobre la protección de los trabajadores que por su trabajo están o puedan estar expuestos a agentes biológicos. De acuerdo con el Artículo 6 de la Ley de Prevención de Riesgos Laborales (LPRL), dicho RD, como norma de desarrollo reglamentario, determina las disposiciones mínimas que deben adoptarse para la adecuada protección de los trabajadores, contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo.

El Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, en el desarrollo de sus funciones descritas en el Artículo 8 apartado a) de la LPRL, siguiendo las indicaciones del Real Decreto 39/1997 de 17 de enero por el que se aprueba el Reglamento de los Servicios de Prevención (RSP) (Artículo 5, apartado 3b) y tal como se indica en la disposición final primera del RD 664/1997, ha elaborado la presente Guía Técnica de Riesgos.

Este documento consta de dos partes. La primera comenta y amplía aquellos puntos del RD que requieran una mayor explicación o puedan ser motivo de confusión. La segunda incluye, en forma de apéndices, una serie de criterios y recomendaciones para la evaluación de riesgos y su correspondiente eliminación o reducción.

El RD objeto de la presente Guía traspone las Directivas 90/679/CEE, de 26 de noviembre, 93/88/CEE, de 12 de octubre y 95/30/CE de 30 de junio. Asimismo, deroga las disposiciones que se opongan al mismo y, en particular, los Artículos 138 y 139 de la Ordenanza General de Seguridad e Higiene en el Trabajo, aprobada por Orden de 9 de marzo de 1971, en lo referente a los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo.

Leodegario Fernández Sánchez  
DIRECTOR DEL INSHT

## ÍNDICE

	<b>Pág.</b>
I. INTRODUCCIÓN .....	5
II. DESARROLLO Y COMENTARIOS AL REAL DECRETO 664/1997, SOBRE LA PROTECCIÓN DE LOS TRABAJADORES CONTRA LOS RIESGOS RELACIONADOS CON LA EXPOSICIÓN A AGENTES BIOLÓGICOS DURANTE EL TRABAJO .....	6
CAPÍTULO I. DISPOSICIONES GENERALES .....	7
Artículo 1. Objeto y ámbito de aplicación .....	7
Artículo 2. Definiciones .....	7
Artículo 3. Clasificación de los agentes biológicos .....	8
CAPÍTULO II. OBLIGACIONES DEL EMPRESARIO .....	9
Artículo 4. Identificación y evaluación de riesgos .....	9
Artículo 5. Sustitución de agentes biológicos .....	12
Artículo 6. Reducción de los riesgos .....	13
Artículo 7. Medidas higiénicas .....	16
Artículo 8. Vigilancia de la salud de los trabajadores .....	17
Artículo 9. Documentación .....	20
Artículo 10. Notificación a la autoridad laboral .....	21
Artículo 11. Información a las autoridades competentes .....	22
Artículo 12. Información y formación de los trabajadores .....	22
Artículo 13. Consulta y participación de los trabajadores .....	24
CAPÍTULO III. DISPOSICIONES VARIAS .....	24
Artículo 14. Establecimientos sanitarios y veterinarios distintos de los laboratorios de diagnóstico .....	24
Artículo 15. Medidas especiales aplicables a los procedimientos industriales, a los laboratorios y a los locales para animales .....	25
Disposición adicional única. Remisión de documentación e información a las Autoridades Sanitarias .....	27
Disposición transitoria única. Notificación a la autoridad laboral .....	27
Disposición derogatoria única. Derogación normativa .....	27
Disposición final primera. Elaboración y actualización de la Guía Técnica de Riesgos .....	27
Disposición final segunda. Facultades de aplicación y desarrollo .....	28
Disposición final tercera. Entrada en vigor .....	28

	<b>Pág.</b>
Anexo I. Lista indicativa de actividades.....	28
Anexo II. Clasificación de los agentes biológicos .....	28
Anexo III. Señal de peligro biológico .....	36
Anexo IV. Indicaciones relativas a las medidas de contención y a los niveles de contención .....	36
Anexo V. Indicaciones relativas a las medidas de contención y a los niveles de contención para procesos industriales.....	37
Anexo VI. Recomendaciones prácticas para la vacunación .....	38
<b>III. APÉNDICES .....</b>	<b>39</b>
Apéndice 1. Organismos modificados genéticamente.....	39
Apéndice 2. Riesgos derivados del trabajo con cultivos celulares.....	40
Apéndice 3. Identificación y evaluación de agentes biológicos en los lugares de trabajo.....	42
Apéndice 4. Trabajadoras embarazadas y en período de lactancia.....	49
Apéndice 5. Recogida, manipulación y transporte de contaminantes biológicos .....	51
Apéndice 6. Notificación primer uso.....	54
Apéndice 7. Plan de emergencia frente a exposiciones a agentes biológicos.....	55
Apéndice 8. Precauciones universales.....	56
Apéndice 9. Aplicación de biocidas.....	60
Apéndice 10. Medidas de protección suplementarias para agentes del grupo 2.....	62
Apéndice 11. Requerimientos de los laboratorios según su nivel de contención.....	63
Apéndice 12. Medidas y niveles de contención para las actividades en locales con animales .....	68
Apéndice 13. Agentes biológicos a gran escala .....	73
<b>IV. FUENTES DE INFORMACIÓN .....</b>	<b>75</b>
Bibliografía y otras fuentes de información	
Bibliografía para la ayuda de la clasificación de los agentes biológicos	
Algunas disposiciones legales autonómicas relacionadas con la gestión de residuos biocontaminantes	

## I. INTRODUCCIÓN

La presente Guía tiene por objeto facilitar la aplicación del Real Decreto 664/1997 de 12 mayo sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo. Este Real Decreto transpone al ordenamiento jurídico español la Directiva del Consejo 90/679/CEE de 26 de noviembre, posteriormente modificada por la Directiva del Consejo 93/88/CEE de 12 de octubre y adaptada al progreso técnico por la Directiva de la Comisión 95/30/CE de 30 de junio.

El presente documento constituye la Guía Técnica realizada por el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo para la evaluación y prevención de los riesgos derivados de la exposición a agentes biológicos durante el trabajo, conforme a lo encomendado a esta Institución, en su disposición final primera, por el citado Real Decreto 664/1997.

Aunque se refiere exclusivamente a dicho Real Decreto, es preciso tener en cuenta que éste se encuadra en la reglamentación general sobre la Seguridad y Salud en el Trabajo, constituida principalmente por la Ley 31/1995 de 8 de noviembre, de Prevención de Riesgos Laborales, y por el Real Decreto 39/1997, de 17 de enero, por el que se aprueba el Reglamento de los Servicios de Prevención.

Por tanto, junto a las obligaciones específicas relativas a la prevención de riesgos debidos a la exposición a agentes biológicos durante el trabajo, el empresario deberá asegurar también el cumplimiento de los preceptos de carácter general contenidos en la Ley o el Reglamento citados.

NOTA:

En los recuadros en color se incluye el texto del Real Decreto 664/1997.

## **II. DESARROLLO Y COMENTARIOS AL REAL DECRETO 664/1997, SOBRE LA PROTECCIÓN DE LOS TRABAJADORES CONTRA LOS RIESGOS RELACIONADOS CON LA EXPOSICIÓN A AGENTES BIOLÓGICOS DURANTE EL TRABAJO**

Con el fin de facilitar la utilización de la presente Guía se incluye a continuación el articulado del Real Decreto 664/1997, seguido de los comentarios sobre aquellos conceptos más relevantes que no se consideran suficientemente autoexplicativos. Asimismo se dan criterios técnicos necesarios para facilitar la evaluación y prevención de los riesgos para la seguridad y la salud de los trabajadores relativos a la exposición a agentes biológicos durante el trabajo.

Los apéndices que se citan en esta Guía son información complementaria sobre aspectos concretos, que deben ser tenidos en cuenta a la hora de aplicar e interpretar el articulado correspondiente.

### **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.**

La Ley 31/1995, de 8 de noviembre, de Prevención de Riesgos Laborales, determina el cuerpo básico de garantías y responsabilidades preciso, para establecer un adecuado nivel de protección de la salud de los trabajadores frente a los riesgos derivados de las condiciones de trabajo, en el marco de una política coherente, coordinada y eficaz. Según el Artículo 6 de la misma serán las normas reglamentarias las que irán fijando y concretando los aspectos más técnicos de las medidas preventivas.

Así son las normas de desarrollo reglamentario las que deban fijar las medidas mínimas que deben adoptarse para la adecuada protección de los trabajadores. Entre ellas se encuentran las destinadas a garantizar la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo.

En el mismo sentido hay que tener en cuenta que, en el ámbito de la Unión Europea, se han fijado, mediante las correspondientes Directivas, criterios de carácter general sobre las acciones en materia de seguridad y salud en los centros de trabajo, así como criterios específicos referidos a medidas de protección contra accidentes y situaciones de riesgo. Concretamente, la Directiva 90/679/CEE, de 26 de noviembre, sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo, establece las disposiciones específicas mínimas en este ámbito; esta Directiva fue posteriormente modificada por la Directiva 93/88/CEE, de 12 de octubre, y adaptada al progreso técnico por la Directiva 95/30/CE, de 30 de junio. Mediante el presente Real Decreto se procede a la transposición al Derecho español del contenido de las tres Directivas mencionadas.

En su virtud, de conformidad con el Artículo 6 de la Ley 31/1995, de 8 de noviembre, de Prevención de Riesgos Laborales, a propuesta de los Ministros de Trabajo y Asuntos Sociales y de Sanidad y Consumo, consultadas las organizaciones empresariales y sindicales más representativas, oída la Comisión Nacional de Seguridad y de Salud en el Trabajo, de acuerdo con el Consejo de Estado y previa deliberación del Consejo de Ministros en su reunión del día 9 de mayo de 1997.

Dispongo:

## CAPITULO I DISPOSICIONES GENERALES

### Artículo 1. Objeto y ámbito de aplicación

1. El presente Real Decreto tiene por objeto, en el marco de la Ley 31/1995, de 8 de noviembre, de Prevención de Riesgos Laborales, la protección de los trabajadores contra los riesgos para su salud y su seguridad derivados de la exposición a agentes biológicos durante el trabajo, así como la prevención de dichos riesgos.

2. Mediante el presente Real Decreto se establecen las disposiciones mínimas aplicables a las actividades en las que los trabajadores estén o puedan estar expuestos a agentes biológicos debido a la naturaleza de su actividad laboral.

Se entiende por exposición a agentes biológicos la presencia de éstos en el entorno laboral, pudiendo distinguirse, en general, tres grandes categorías de exposición a los mismos:

a) Exposiciones derivadas de una actividad laboral con intención deliberada de utilizar o manipular un agente biológico, que constituye el propósito principal del trabajo. Actividades de este tipo serían las desarrolladas con animales deliberadamente infectados o en los laboratorios de diagnóstico microbiológico, cuya actividad principal constituye el trabajar con agentes biológicos.

Otras actividades encuadradas en este grupo serían, por ejemplo, las relacionadas con las industrias de biotecnología: industrias farmacéuticas (para la obtención de antibióticos, enzimas, vacunas virales); industria alimentaria (cerveza, quesos, yogur); etc.

b) Exposición que surge de la actividad laboral, pero dicha actividad no implica la manipulación, ni el trabajo en contacto directo o el uso deliberado del agente biológico. En definitiva, en estos casos la exposición es incidental al propósito principal del trabajo. Ejemplos de estas actividades se recogen en el Anexo I del RD 664/1997.

c) Exposición que no se deriva de la propia actividad laboral, por ejemplo el caso de un trabajador que sufre una infección respiratoria contagiado por otro.

El RD 664/1997 no se aplicará a exposiciones de la categoría c) anteriormente citada, debiendo realizarse una evaluación adecuada y suficiente para las otras dos categorías, según se indica en el Artículo 4, aunque el alcance de la reducción de riesgos y el nivel de medidas de control aplicables pueden ser diferentes para una actividad de la categoría a) o para otra de la b).

3. Las disposiciones del Real Decreto 39/1997, de 17 de enero, por el que se aprueba el Reglamento de los Servicios de Prevención, se aplicarán plenamente al conjunto del ámbito contemplado en el apartado anterior, sin perjuicio de las disposiciones más rigurosas o específicas previstas en el presente Real Decreto.

4. El presente Real Decreto será aplicable sin perjuicio de lo dispuesto en la Ley 15/1994, de 3 de junio, por la que se establece el régimen jurídico de la utilización confinada, liberación voluntaria y comercialización de organismos modificados genéticamente, a fin de prevenir los riesgos para la salud humana y medio ambiente.

### Artículo 2. Definiciones.

A efectos del presente Real Decreto se entenderá por:

a) Agentes biológicos: microorganismos, con inclusión de los genéticamente modificados (**véase Apéndice 1 “Organismos Modificados Genéticamente”**), cultivos celulares y endoparásitos humanos, susceptibles de originar cualquier tipo de infección, alergia o toxicidad.

b) Microorganismo: toda entidad microbiológica, celular o no, capaz de reproducirse o transferir material genético.



c) Cultivo celular: el resultado del crecimiento “in vitro” de células obtenidas de organismos multicelulares (Véase Apéndice 2 “Riesgos derivados del trabajo con Cultivos Celulares”).

En la práctica esta definición contempla dos categorías en los contaminantes biológicos:

1. agentes biológicos vivos,
2. productos derivados de los mismos;

ya que ambos pueden generar una enfermedad como consecuencia de la exposición de los trabajadores a tales agentes. En definitiva el concepto de agente biológico incluye, pero no está limitado, a bacterias,

hongos, virus, rickettsias, clamidias, endoparásitos humanos, productos de recombinación, cultivos celulares humanos o de animales, y los agentes biológicos potencialmente infecciosos que estas células puedan contener, priones y otros agentes infecciosos.

Entre los productos derivados de los agentes biológicos y que, transmitidos fundamentalmente por vía aérea, pueden generar trastornos de tipo tóxico, alérgico o irritativo se incluyen: micotoxinas, endotoxinas, ergosterol, 1,3-glucanos.

### Artículo 3. Clasificación de los agentes biológicos.

1. A efectos de lo dispuesto en el presente Real Decreto, los agentes biológicos se clasifican, en función del riesgo de infección, en cuatro grupos:

a) Agente biológico del grupo 1: aquél que resulta poco probable que cause una enfermedad en el hombre.

b) Agente biológico del grupo 2: aquél que puede causar una enfermedad en el hombre y puede suponer un peligro para los trabajadores, siendo poco probable que se propague a la colectividad y existiendo generalmente profilaxis o tratamiento eficaz.

c) Agente biológico del grupo 3: aquél que puede causar una enfermedad grave en el hombre y presenta un serio peligro para los trabajadores, con riesgo de que se propague a la colectividad y existiendo generalmente una profilaxis o tratamiento eficaz.

d) Agente biológico del grupo 4: aquél que causando una enfermedad grave en el hombre supone un serio peligro para los trabajadores, con muchas probabilidades de que se propague a la colectividad y sin que exista generalmente una profilaxis o un tratamiento eficaz.

En la Tabla 1 se esquematizan las características de los distintos agentes biológicos para su clasificación dentro de un grupo de riesgo determinado.

**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 (GR-1) serían aquellos que, habitualmente, no están asociados con enfermedades en el hombre. El GR-2 lo constituyen agentes asociados con enfermedades en el hombre, que raramente son serias, y para las cuales existen habitualmente medidas preventivas o terapéuticas. El GR-3 lo componen agentes que están asociados con enfer-

medades graves o mortales, para las cuales son posibles intervenciones de tipo preventivo o terapéutico (alto riesgo individual pero bajo para la colectividad). El GR-4 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).

2. En el anexo II de este Real Decreto se presenta una lista de agentes biológicos, clasificados en los grupos 2, 3, o 4, siguiendo el criterio expuesto en el apartado anterior. Para ciertos agentes se proporcionan también informaciones adicionales de utilidad preventiva.

Para la correcta utilización de la citada lista, deberán tenerse en cuenta las notas introductorias contenidas en dicho anexo.

## CAPITULO II OBLIGACIONES DEL EMPRESARIO

### Artículo 4. Identificación y evaluación de riesgos.

1. De acuerdo con lo dispuesto en el Artículo 2 del Real Decreto 39/1997, de 17 de enero, por el que se aprueba el Reglamento de los Servicios de Prevención, identificados uno o más riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo, se procederá, para aquellos que no hayan podido evitarse, a evaluar los mismos determinando la naturaleza, el grado y duración de la exposición de los trabajadores.

Cuando se trate de trabajos que impliquen la exposición a varias categorías de agentes biológicos, los riesgos se evaluarán basándose en el peligro que supongan todos los agentes biológicos presentes.

La identificación y evaluación del riesgo por exposición a agentes biológicos conlleva una serie de estudios y actuaciones que se pueden agrupar en dos etapas sucesivas:

- Identificación teórica de los riesgos, lo que supone la recogida general de información científica.
- Evaluación de los puestos de trabajo con riesgo y de los trabajadores expuestos.

Dada la gran influencia de las características individuales del trabajador la evaluación de puestos de trabajo, como grupos "homogéneos", es problemática y no debería contemplarse en ningún caso.

Dentro de la primera etapa de la identificación teórica de los riesgos, se deberían incluir los puntos que mejor permitan la identificación de al menos, los citados a continuación:

- Identificación teórica de los agentes biológicos más probables, considerando sus fuentes de exposición, reservorios, información científica y posibles estudios epidemiológicos.

- El grado de virulencia, expresado como dosis infectiva mínima (DIM) que representa la cantidad más pequeña de agente biológico necesaria para provocar una infección, facilidad de propagación, gravedad de las infecciones así como eventuales tratamientos profilácticos y curativos.

Dado que en la clasificación de los agentes biológicos, recogida en el Anexo II, se ha establecido según estos criterios, debe tomarse como referencia. La adscripción de un agente biológico en un determinado grupo, establece una valoración del riesgo intrínseco del microorganismo.

Puesto que la clasificación de los agentes no ha tenido en cuenta más que el riesgo infeccioso, y la evaluación ha de tener en cuenta el efecto global,

se deben considerar también los posibles efectos inmuno-alérgicos y tóxicos de los agentes biológicos como riesgo adicional a los mismos.

- Conocimiento de los modos de transmisión: aerosoles, por contacto directo e indirecto, lesiones, vectores, huéspedes intermediarios,...

- Vías de entrada: respiratoria, digestiva, a través de la piel o mucosas, por heridas, parenteral,...

- Cantidad, volumen o concentración del agente en el material que se maneja.

- Datos epidemiológicos: presencia y grado de propagación del agente, frecuencia de infecciones, inmunización de la población y papel de los reservorios. Conocimiento de enfermedades que puedan ser contraídas como consecuencia de la actividad laboral, así como en concreto las enfermedades detectadas en el trabajo directamente relacionados con él, o la inclusión de dichas enfermedades en la lista de Enfermedades Profesionales (RD 1995/1978 de 12 de mayo por el que se aprueba el Cuadro de Enfermedades Profesionales en el Sistema de Seguridad Social), como son carbunco, tétanos, leptospirosis, brucelosis, tularemia, tuberculosis bovina, anquilostomiasis y anguilulosis y paludismo.

- Resistencia del agente biológico, supervivencia en las condiciones ambientales de trabajo (radiación ultravioleta, desecación,...).

- Posibilidad de presentación de cepas multirresistentes.

- Posibilidad de desinfección.

La segunda etapa sería la evaluación del puesto de trabajo y del trabajador expuesto. Esto implica un estudio preciso de dicho puesto que incluiría:

- Descripción del puesto de trabajo.

- Probabilidad de diseminación del material

infectado tanto en el proceso habitual, como si ocurre un accidente.

- Vías de penetración: a través de heridas, contacto por proyección de líquidos contaminados, inhalación de aerosoles,...

- Frecuencia de la exposición.

- Factores relativos a la organización y procedimientos de trabajo.

- Conocimiento de los posibles riesgos por parte del trabajador, según su formación inicial y la recibida sobre su puesto de trabajo.

- Posibilidad de establecimiento de medidas preventivas, así como del seguimiento de su aplicación.

- Posibilidad de evaluación de los niveles de exposición, en aquellos casos en que sea posible la medida o identificación del agente biológico en el puesto de trabajo (véase Apéndice 3 "Identificación y evaluación de agentes biológicos en el puesto de trabajo").

Para aquellas actividades que impliquen la intención deliberada de utilizar agentes biológicos, la evaluación de riesgos será relativamente simple, porque las características de los microorganismos utilizados son conocidas, los procedimientos de utilización están bien determinados, así como los riesgos de exposición. En el caso de procesos de biotecnología se une además el estricto seguimiento de las medidas preventivas, a fin de asegurar una buena calidad en el producto.

Cuando la exposición resulta de actividades en las que los microorganismos pueden estar presentes de forma incidental, la evaluación de riesgos será más compleja ya que algunos de los puntos contemplados anteriormente quedarán bajo la forma de probabilidades.

2. Esta evaluación deberá repetirse periódicamente y, en cualquier caso, cada vez que se produzca un cambio en las condiciones que pueda afectar a la exposición de los trabajadores a agentes biológicos.

Asimismo se procederá a una nueva evaluación del riesgo cuando se haya detectado en algún trabajador una infección o enfermedad que se sospeche que sea consecuencia de una exposición a agentes biológicos en el trabajo.

La evaluación deberá repetirse periódicamente, según criterio técnico, para comprobar si el plan y las medidas de prevención adoptadas en su momento han sido efectivas.

Cuando el médico encargado de la vigilancia de

la salud de los trabajadores detecte alguna alteración en la salud como consecuencia directa de la exposición a agentes biológicos, se deberá proceder a una reevaluación de riesgos de los puestos de trabajo implicados.

3. La evaluación mencionada en el apartado anterior se efectuará teniendo en cuenta toda la información disponible y, en particular:

a) La naturaleza de los agentes biológicos a los que estén o puedan estar expuestos los trabajadores y el grupo a que pertenecen, de acuerdo con la tabla y criterios de clasificación contenidos en el anexo II. Si un agente no consta en la tabla, el empresario, previa consulta a los representantes de los trabajadores, deberá estimar su riesgo de infección teniendo en cuenta las definiciones previstas en el primer apartado del Artículo 3 del presente Real Decreto, a efectos de asimilarlo provisionalmente a los incluidos en uno de los cuatro grupos previstos en el mismo. En caso de duda entre dos grupos deberá considerarse en el de peligrosidad superior.

Cada agente biológico que pueda dar lugar a una exposición relacionada con una actividad laboral debe estar necesariamente incluido en un grupo de riesgo, de acuerdo con los criterios de clasificación contemplados en el Artículo 3. La adscripción de cada agente biológico a un grupo es fundamental ya que establece directamente una valoración del riesgo intrínseco del microorga-

nismo, por lo que, en el caso de que el mismo no se encuentre incluido en el listado del Anexo II, deberá adscribirse provisionalmente en uno de los cuatro grupos previstos en el mismo.

En el Apartado IV “Bibliografía” se citan las referencias más habituales que recogen las características de los agentes biológicos y que ayudarán a su adscripción provisional.

b) Las recomendaciones de las autoridades sanitarias sobre la conveniencia de controlar el agente biológico a fin de proteger la salud de los trabajadores que estén o puedan estar expuestos a dicho agente en razón de su trabajo.

c) La información sobre las enfermedades susceptibles de ser contraídas por los trabajadores como resultado de su actividad profesional.

Debe consultarse el cuadro legal de enfermedades profesionales (RD 1995/1978, de 12 de mayo) y tener en cuenta también si en la zona o país

donde se desarrolla el trabajo es endémica respecto a patologías específicas, lo que debe ser tenido en cuenta como riesgo adicional.

d) Los efectos potenciales, tanto alérgicos como tóxicos, que puedan derivarse de la actividad profesional de los trabajadores.

La capacidad de un agente biológico de dar origen a reacciones tóxicas o de actuar como sensibi-

lizante respiratorio se ofrece como información adicional en la columna “Notas” del Anexo II.

e) El conocimiento de una enfermedad que se haya detectado en un trabajador y que esté directamente ligada a su trabajo.

f) El riesgo adicional para aquellos trabajadores especialmente sensibles en función de sus características personales o estado biológico conocido, debido a circunstancias tales como patologías previas, medicación, trastornos inmunitarios, embarazo o lactancia.

Se considerará el riesgo adicional de trabajadoras especialmente sensibles, como serían las trabajadoras embarazadas o en período de lactancia (ver Apéndice 4 “Trabajadoras embarazadas y en período de lactancia”).

Deberán tenerse en cuenta todas aquellas condiciones que puedan predisponer al trabajador a padecer una enfermedad infecciosa, como por ejemplo:

- Inmunocomprometidos: neoplasias, neutropenias, terapia con esteroides o inmunosupresora

- Algunas enfermedades de la piel  
- Enfermedades hemolíticas  
- Asplenias  
- Antecedentes de enfermedad pulmonar obstructiva crónica

Como ejemplo de influencia de patologías previas, el virus de la hepatitis D es patógeno en trabajadores sólo en presencia de infecciones simultáneas o secundarias causadas por el virus de la hepatitis B. La vacunación contra la hepatitis B

podría proteger a los trabajadores contra el virus de la hepatitis D.

En definitiva, el procedimiento de evaluación de riesgos por exposición a agentes biológicos no difiere del habitualmente utilizado en la evaluación de cualquier otro riesgo laboral. En este caso, el *nivel de consecuencia* vendrá dado fundamentalmente por el grupo de riesgo en el que el agente biológico haya sido clasificado, y la *probabilidad* de que se materialice el daño vendrá definida en función de la posibilidad

de exposición, condicionada a su vez por la presencia de los agentes biológicos, segura o probable si hay intención deliberada de manipularlos o sólo posible presencia para actividades que no utilicen dichos agentes biológicos en el trabajo, en los que habrá que contemplar también el tiempo dedicado a las tareas de riesgo y si existen medidas de control.

La valoración del riesgo permitirá establecer las medidas de contención que reduzcan la exposición y en su caso priorizar la acción preventiva.

4. Si los resultados de la evaluación muestran que la exposición o la posible exposición se refiere a un agente biológico del grupo 1 que no presente un riesgo conocido para la salud de los trabajadores, no resultarán de aplicación los Artículos 5 a 15 de este Real Decreto. No obstante, se observará lo dispuesto en el apartado 1 de la observación preliminar del anexo V.

Cuando el posible riesgo derive de la presencia de agentes biológicos asimilados al grupo I, se aplicarán medidas de correcta seguridad e higiene profesional. Como actuaciones generales estará prohibido comer, beber, fumar y almacenar alimentos u otros productos de consumo humano en los locales de trabajo, salvo en lugares específicamente preparados para ello.

El trabajador se lavará las manos después del

contacto con animales o materiales y siempre antes de abandonar el puesto de trabajo.

Está recomendada la utilización de batas o uniformes para prevenir la contaminación o suciedad de las prendas de calle.

El empresario debería comprobar periódicamente que no se han modificado las condiciones de exposición y que, por lo tanto, la evaluación de riesgos realizada sigue siendo válida.

5. Si los resultados de la evaluación revelan que la actividad no implica la intención deliberada de manipular agentes biológicos o de utilizarlos en el trabajo pero puede provocar la exposición de los trabajadores a dichos agentes, se aplicarán las disposiciones de los Artículos 5 al 13 de este Real Decreto, salvo que los resultados de la evaluación lo hiciesen innecesario.

Para aquellas actividades en las que el agente biológico no es en sí mismo el objetivo del trabajo, como las recogidas en el Anexo I, se aplicarán las disposiciones de los Artículos 5 al 13. En algunos casos la puesta en práctica de estas disposiciones puede ser innecesaria o sólo parcial en función de la naturaleza del riesgo y, por tanto, del resultado de la evaluación específicamente realizada.

Si por el contrario la evaluación indica que puede producirse la exposición de los trabajadores a agentes biológicos, como consecuencia de la intención deliberada de manipulación de los mismos y, por tanto, presentar un riesgo para su salud, se aplicarán todas las disposiciones recogidas en los Artículos del RD 664/1997. (Ver gráfico en página siguiente).

6. El anexo I de este Real Decreto contiene una lista indicativa de actividades en las que podría resultar de aplicación lo dispuesto en el apartado anterior.

Los laboratorios de diagnóstico microbiológico quedan excluidos de esta lista indicativa de actividades,

ya que esta actividad laboral está incluida entre las de intención deliberada de manipular agentes biológicos.

#### **Artículo 5. Sustitución de agentes biológicos.**

Teniendo en cuenta la información técnica y científica disponible, el empresario, cuando la naturaleza de la actividad lo permita, evitará la utilización de agentes biológicos peligrosos mediante su

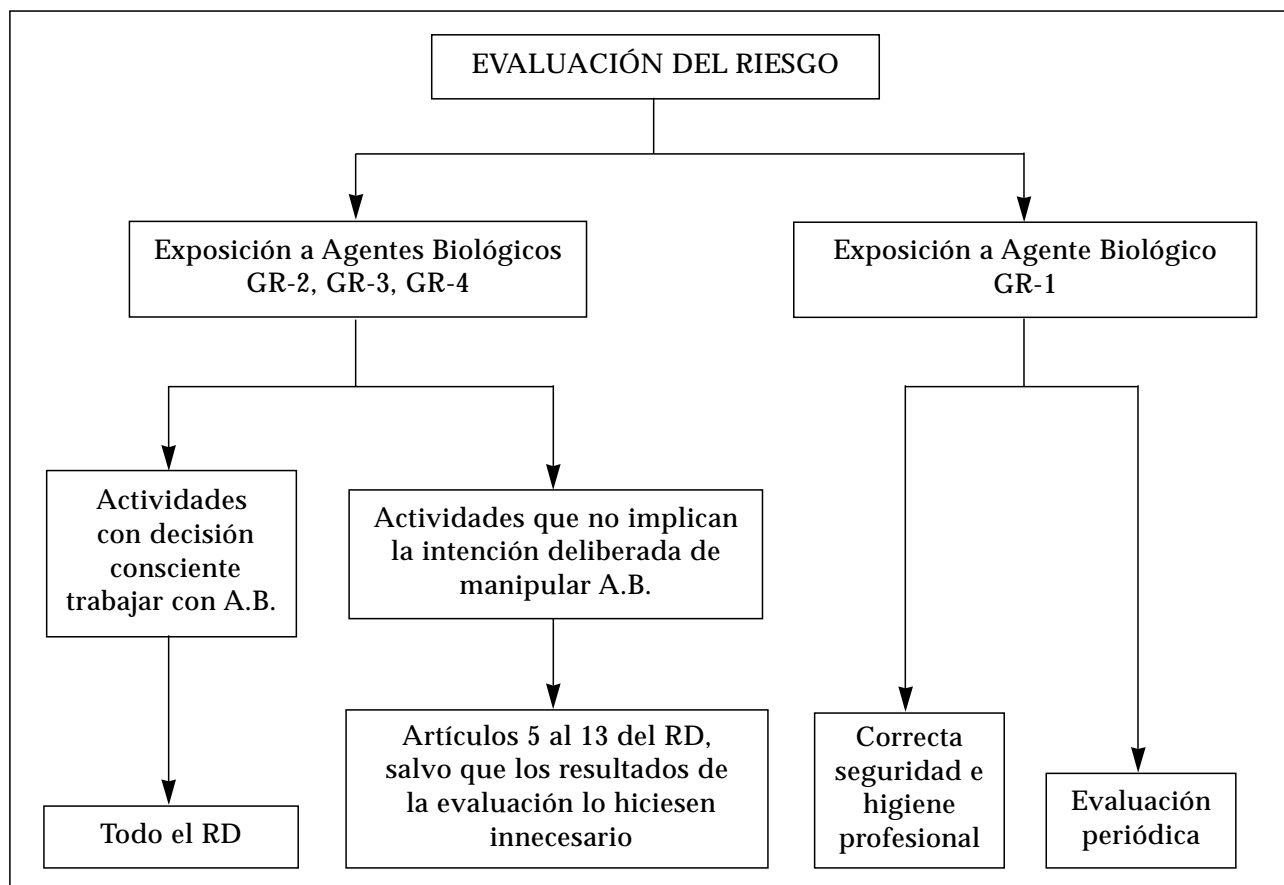
sustitución por otros agentes que, en función de las condiciones de utilización, no sean peligrosos para la seguridad o salud de los trabajadores, o lo sean en menor grado.

En el caso de que en la actividad laboral no sea razonablemente posible evitar la exposición a los agentes biológicos, se procurará que los agentes implicados en dicha actividad sean lo menos nocivos que permita la naturaleza de la misma.

A menudo no habrá opción de cambio o sustitución

de los agentes biológicos, especialmente cuando la naturaleza de dicha exposición sea incidental, sin embargo esta posibilidad siempre debe ser contemplada. Aplicaciones de este artículo pueden realizarse en el ámbito de la docencia y de algunos tipos de investigación.

### ACTUACIÓN DEL EMPRESARIO FRENTE A LA EVALUACIÓN DEL RIESGO



#### Artículo 6. Reducción de los riesgos.

1. Si los resultados de la evaluación a que se refiere el Artículo 4 pusieran de manifiesto un riesgo para la seguridad o la salud de los trabajadores por exposición a agentes biológicos, deberá evitarse dicha exposición. Cuando ello no resulte factible por motivos técnicos habida cuenta de la actividad desarrollada, se reducirá el riesgo de exposición al nivel más bajo posible para garantizar adecuadamente la seguridad y la salud de los trabajadores afectados, en particular por medio de las siguientes medidas:

a) Establecimiento de procedimientos de trabajo adecuados y utilización de medidas técnicas apropiadas para evitar o minimizar la liberación de agentes biológicos en el lugar de trabajo.



Al ser la vía aérea primordial en la propagación de los agentes biológicos, se deben establecer procedimientos de trabajo que minimicen la formación de bioaerosoles utilizando en su caso cabinas de seguridad biológica, como barrera de contención primaria y método de elección para la extracción localizada de bioaerosoles peligrosos y, por tanto, exigida

su utilización. Entre las operaciones consideradas como de especial riesgo por ser generadoras de bioaerosoles pueden citarse: pipeteo, apertura de recipientes, flameado de asas, agitación, trituración, -centrifugación de muestras biológicas, inoculación intranasal en animales, recolección de tejidos infectados, disgregaciones ultrasónicas,...

b) Reducción, al mínimo posible, del número de trabajadores que estén o puedan estar expuestos.

c) Adopción de medidas seguras para la recepción, manipulación y transporte de los agentes biológicos dentro del lugar de trabajo.

Véase Apéndice 5 “Recogida, manipulación y transporte de contaminantes biológicos”.

d) Adopción de medidas de protección colectiva o, en su defecto, de protección individual, cuando la exposición no pueda evitarse por otros medios.

La adopción de las medidas de protección frente a los riesgos biológicos no difiere conceptualmente de la aplicada por el Higienista Industrial a la hora de seleccionar los diferentes métodos para reducir la exposición a los contaminantes químicos o físicos considerando, para cada caso, los elementos que integran el proceso:

1. Foco emisor del contaminante, tomando acciones que impidan su emisión.

2. Medio de propagación del contaminante, tomando acciones para evitarla.

3. Receptor del contaminante, a fin de evitar los posibles efectos patógenos sobre el trabajador.

Las actuaciones referidas en los dos primeros apartados corresponderán a la protección colectiva que deben primar sobre las del apartado 3 que constituirán las medidas de protección individual.

En este caso por foco o fuente de contaminación se entiende tanto el agente biológico como el proceso o tarea que pueda liberarlo. La cadena epidemiológica puede interrumpirse tanto por la acción directa sobre el agente infeccioso, los reservorios o los medios de supervivencia. Entre las medidas de protección que se pueden tomar a este nivel y que tienden a impedir la liberación del agente biológico destacarían:

- Sustitución de los agentes biológicos (Artículo 5).
- Confinamiento de los agentes biológicos, obligatorio en el caso de utilización deliberada de los mismos, utilizando las medidas de contención

adecuadas (véase Artículo 15) en función del grupo de riesgo en que el agente biológico haya sido clasificado. En este caso la prevención se inicia en la fase de diseño.

- Aplicación de procedimientos de trabajo que permitan el encerramiento o aislamiento de operaciones potencialmente peligrosas.

- Extracción localizada, que consigue reducir las concentraciones de contaminantes antes de difundirse en el medio de propagación. Implica la utilización de cabinas de seguridad biológica. (Respecto a las recomendaciones para la selección de las mismas, el uso, el mantenimiento y la ubicación en el lugar de trabajo debe consultarse: “Cabinas de Seguridad Biológica” en la monografía Prevención de Riesgos Biológicos en el Laboratorio publicada por el INSHT).

- La desinfección de los locales, vehículos de transporte, ropa, equipos de protección,... que debe realizarse siguiendo un protocolo que asegure la acción específica y eficaz sobre los agentes biológicos.

- Desinsectación y desratización, que tienden a eliminar los vectores, como transportadores de la enfermedad. La realización de estas operaciones, puede ocasionar problemas de salud a los ocupantes de los lugares de trabajo, por lo que dichas operaciones han de efectuarse según procedimientos seguros, detallados en el Apéndice 9 “Aplicación de Biocidas”.

- Limpieza adecuada, que conduce en muchos casos a una disminución de los niveles de contaminación.

Cuando las medidas de actuación sobre el foco del agente biológico son imposibles o insuficientes se actuará sobre el medio de difusión, limitando tanto su permanencia en el área de trabajo como su salida al ambiente externo.

Las actuaciones preventivas se plantearán ya en la fase de diseño, así como el mantenimiento de los locales:

- Prever un sistema adecuado de ventilación de instalaciones (laboratorios, animalarios, procesos de biotecnología,...), que aseguren la renovación del aire existente con la correspondiente dilución y evacuación de los contaminantes, manteniendo una adecuada situación de las corrientes de aire en el sentido de que este circule siempre del lugar menos contaminado al más contaminado, manteniendo en depresión las zonas más contaminadas (Artículos 14 y 15).

- Construir suelos y paredes con materiales fáciles de limpiar y descontaminar, con superficies no porosas ni rugosas y sin que formen ángulos vivos.

- Colocación de instalaciones sanitarias correctas: lavajos, antisépticos para la piel, material para el secado de manos de un solo uso.

- Equipamiento en instalaciones, que aseguren el mantenimiento por separado de la ropa de tra-

bajo, equipos de protección y ropas de calle,... (Artículo 7.3).

Las medidas de protección a nivel individual se basan fundamentalmente en los equipos individuales de protección. Su elección corresponderá a dos criterios: seguridad, es decir, protección adecuada al riesgo específico, y confort. Esta doble preocupación ha de ser tenida en cuenta por el prevencionista, ya que de no considerarse el segundo aspecto (mascarillas, gafas, etc.), no serán utilizados. Los EPI deben ajustarse a lo dispuesto en el Real Decreto 773/1997 de 30 de mayo sobre «Disposiciones mínimas de seguridad y salud relativas a la utilización por los trabajadores de equipos de protección individual», cuya interpretación y aplicación se ha desarrollado en la correspondiente Guía Técnica “Equipos de protección individual”, publicada por el INSHT.

Los equipos de protección individual (guantes, botas impermeables, gafas adaptables al rostro, mascarillas,...) serán utilizadas para tareas concretas y operaciones puntuales, que habrán de determinarse en la evaluación de los riesgos en cada puesto de trabajo.

e) Utilización de medios seguros para la recogida, almacenamiento y evacuación de residuos por los trabajadores, incluido el uso de recipientes seguros e identificables, previo tratamiento adecuado si fuese necesario.

La gestión de los residuos biocontaminantes es objeto de legislación específica por parte de Comunidades Autónomas, Ayuntamientos y otros organismos públicos que describen procedimientos de segregación, clasificación, características de los envases de recogida para cada tipo de residuo y su identificación, almacenamiento intermedio, circuito de transporte interior de los residuos y, en su caso, la recogida y el transporte extracentro para su posterior tratamiento y/o destino final.

A nivel nacional la norma fundamental es la Ley 10/1998 de Residuos (BOE nº 96 de 22 de abril).

Las distintas legislaciones autonómicas sobre el tratamiento de residuos biocontaminados se encuentran en el Apartado IV “Bibliografía”. El INSALUD ha editado asimismo un Manual de Gestión Interna para residuos de centros sanitarios.

En las distintas legislaciones autonómicas se

resalta, entre las obligaciones del productor de residuos, que las distintas operaciones de recogida, separación, envasado y evacuación sean realizadas correctamente y en condiciones de seguridad para los trabajadores.

Entre ellas, y además de la información específica, se contempla la necesidad de vacunación contra el tétanos y la hepatitis B, y la utilización de elementos de protección de barrera específicos para cada caso: guantes, que serán de tipo industrial si el personal manipula los residuos; mascarillas, si es posible la formación de aerosoles; gafas panorámicas con protección de boca o gafas sin mascarilla, si se prevén salpicaduras.

Se establece la necesidad de vigilancia médica específica así como el registro de los accidentes e incidentes, y en su caso designación de un responsable del desarrollo del plan de gestión de residuos.

f). Utilización de medidas de higiene que eviten o dificulten la dispersión del agente biológico fuera de lugar de trabajo.



g) Utilización de una señal de peligro biológico como la indicada en el anexo III de este Real Decreto, así como de otras señales de advertencia pertinentes.

El empresario deberá informar adecuadamente a los trabajadores para que éstos reconozcan la señal de peligro biológico y su significado. Así, si está colocada, por ejemplo en una puerta o en un contenedor de residuos, indicaría que la zona donde se entra o el material depositado

pueden dar lugar a enfermedades infecciosas. La señal será de forma triangular, con el pictograma negro sobre fondo amarillo o amarillo-anaranjado, con bordes negros. El fondo coloreado deberá cubrir, como mínimo, el 50% de la superficie de la señal.

h) Establecimiento de planes para hacer frente a accidentes de los que puedan derivarse exposiciones a agentes biológicos.

i) Verificación, cuando sea necesaria y técnicamente posible, de la presencia de los agentes biológicos utilizados en el trabajo fuera del confinamiento físico primario.

Donde se cuente con la técnica adecuada, y la información obtenida pueda ser utilizada para la protección de la salud de los trabajadores, debe llevarse a cabo la verificación de la presencia de un agente fuera del confinamiento físico primario.

La integridad de los sistemas de procesos industriales (filtros, sellos, juntas de tubería,...) pueden evaluarse verificando la presencia ambiental de agentes biológicos.

La toma de muestras se realizará según las indicaciones del Apéndice 3 “Identificación y evaluación de agentes biológicos en los lugares de trabajo”. Siempre que sea posible, dicha verificación deberá hacerse utilizando microorganismos sustitutos inofensivos, cuya liberación en las condiciones de verificación simulen la liberación de los microorganismos en el proceso de trabajo (Artíc. 5).

2. La evaluación de riesgos a que se refiere el Artículo 4 deberá identificar a aquellos trabajadores para los que pueda ser necesario aplicar medidas especiales de protección.

En la elección de los equipos de protección individual debe considerarse el grupo de trabajadores con sensibilización al látex, gomas y derivados como de especial riesgo ante la posibilidad de aparición de dermatitis alérgicas e irritativas por con-

tacto así como reacciones alérgicas, por lo que es necesario en estos casos el empleo de sustitutos del látex. Más información sobre trabajadores con especial riesgo se recoge en el Apéndice 4 “Trabajadoras embarazadas y en período de lactancia”.

## **Artículo 7. Medidas higiénicas.**

1. En todas las actividades en las que exista riesgo para la salud o seguridad de los trabajadores como consecuencia del trabajo con agentes biológicos, el empresario deberá adoptar las medidas necesarias para:

a) Prohibir que los trabajadores coman, beban o fumen en las zonas de trabajo en las que exista dicho riesgo.

b) Proveer a los trabajadores de prendas de protección apropiadas o de otro tipo de prendas especiales adecuadas.

c) Disponer de retretes y cuartos de aseo apropiados y adecuados para uso de los trabajadores, que incluyan productos para la limpieza ocular y antisépticos para la piel.

d) Disponer de un lugar determinado para el almacenamiento adecuado de los equipos de protección y verificar que se limpian y se comprueba su buen funcionamiento, si fuera posible con

anterioridad y, en todo caso, después de cada utilización, reparando o sustituyendo los equipos defectuosos antes de un nuevo uso.

e) Especificar los procedimientos de obtención, manipulación y procesamiento de muestras de origen humano o animal.

2. Los trabajadores dispondrán, dentro de la jornada laboral, de diez minutos para su aseo personal antes de la comida y otros diez minutos antes de abandonar el trabajo.

3. Al salir de la zona de trabajo, el trabajador deberá quitarse las ropas de trabajo y los equipos de protección personal que puedan estar contaminados por agentes biológicos y deberá guardarlos en lugares que no contengan otras prendas.

El RD 773/97 de 30 de mayo sobre “Disposiciones mínimas de seguridad y salud relativas a la utilización por los trabajadores de equipos de protección individual”, excluye de la definición de «equipo de protección individual» la ropa de trabajo habitual y los uniformes que no estén específicamente destinados a proteger la salud o integridad física del trabajador. No obstante, la coherencia preventiva reco-

mienda, cuando pueda haber riesgo para la salud del trabajador, disponer de dos armarios o taquillas: una para el vestuario de calle y otra para el vestuario de trabajo.

En el caso de trabajos que impliquen prácticas especiales como animalarios o laboratorios las exigencias son más estrictas, como recoge el Artículo 15.

4. El empresario se responsabilizará del lavado, descontaminación y, en caso necesario, destrucción de la ropa de trabajo y los equipos de protección a que se refiere el apartado anterior, quedando rigurosamente prohibido que los trabajadores se lleven los mismos a su domicilio para tal fin. Cuando contratase tales operaciones con empresas idóneas al efecto, estará obligado a asegurar que la ropa y los equipos se envíen en recipientes cerrados y etiquetados con las advertencias precisas.

5. De acuerdo con el apartado 5 del Artículo 14 de la Ley de Prevención de Riesgos Laborales, el coste de las medidas relativas a la seguridad y la salud en el trabajo establecidas por el presente Real Decreto no deberá recaer, en modo alguno, sobre los trabajadores.

## **Artículo 8. Vigilancia de la salud de los trabajadores.**

1. El empresario garantizará una vigilancia adecuada y específica de la salud de los trabajadores en relación con los riesgos por exposición a agentes biológicos, realizada por personal sanitario competente, según determinen las autoridades sanitarias en las pautas y protocolos que se elaboren, de conformidad con lo dispuesto en el apartado 3 del Artículo 37 del Real Decreto 39/1997, de 17 de enero, por el que se aprueba el Reglamento de los Servicios de Prevención.

La vigilancia de la salud de los trabajadores queda establecida en la Ley 31/1995 sobre Prevención de Riesgos Laborales, la cual determina la obligación de las empresas de desarrollar una política de vigilancia de la salud de los trabajadores mediante la prevención de riesgos derivados de su trabajo.

En este caso la vigilancia de la salud se aplicará no sólo a aquellos trabajadores cuya tarea implique una manipulación intencionada de los agentes

biológicos, sino también a aquellos cuya exposición sea incidental a dichos agentes. Los trabajadores tienen derecho a ser informados de los resultados obtenidos.

La vigilancia de la salud será llevada a cabo por el personal sanitario competente, es decir, por un especialista en Medicina del Trabajo (o diplomado en Medicina de Empresa), sin perjuicio de la participación de otros profesionales sanitarios con formación y capacidad técnica

acreditada, integrados todos ellos en el Servicio de Prevención.

La vigilancia de la salud deberá realizarse siempre en términos de confidencialidad, respetando siempre el derecho a la intimidad y la dignidad de la persona del trabajador en lo que se refiere a su estado de salud.

A los resultados de los exámenes de salud sólo tendrán acceso el propio trabajador, el personal médico y las autoridades sanitarias que lleven a cabo la vigilancia, sin que se pueda facilitar al empresario o a otras personas, salvo consentimiento expreso del trabajador.

El empresario y/o responsables de prevención de la empresa podrá recibir la información de las conclusiones que se deriven de los exámenes de salud con vistas a establecer o introducir mejoras para la eliminación o disminución de los riesgos inherentes a la actividad laboral que se trate.

El Ministerio de Sanidad, en las condiciones que establece el apartado 3 del Artículo 37 del RD 39/1997, de 17 de enero (Reglamento de los Servicios de Prevención), establecerá el contenido y la periodicidad de aplicación de los protocolos médicos específicos aplicables al trabajador en función del riesgo biológico a que esté expuesto el mismo.

Dicha vigilancia deberá ofrecerse a los trabajadores en las siguientes ocasiones:

a) Antes de la exposición.

El primer reconocimiento se realizará antes de que el trabajador inicie su actividad profesional con el agente biológico en cuestión.

Los objetivos de este primer examen, donde se establece el primer contacto con el personal sanitario, y una vez evaluados los riesgos biológicos específicos a los que va a estar expuesto el trabajador, serían:

1. Determinar si el sujeto padece algún tipo de enfermedad previa infecciosa o un déficit inmunológico que le pueda predisponer a la infección, así como si el trabajador padece algún tipo de sensibilidad alérgica a los agentes a los que va a estar expuesto.

2. Determinar el estado de inmunización del trabajador frente a los microorganismos a los que va a estar expuesto (test de screening).

b) A intervalos regulares en lo sucesivo, con la periodicidad que los conocimientos médicos aconsejen, considerando el agente biológico, el tipo de exposición y la existencia de pruebas eficaces de detección precoz.

Dentro de los programas de vigilancia sanitaria, y a intervalos regulares, se ofrecerá al trabajador la posibilidad de realizar test de screening y serología con objeto de detectar su estado inmunitario frente a los riesgos biológicos específicos.

Como ejemplos más característicos:

- Test de screening de infección por virus de hepatitis B (VHB) (determinación de antígeno de Australia HB<sub>s</sub>Ag, Anticuerpo de superficie HB<sub>s</sub>AC y Antígeno Core HB<sub>c</sub>AC).

- Test de screening de infección por virus de hepatitis C (VHC) (determinación de VHCAc).

- Test de screening de infección por virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) (determinación de ACS VIH).

- Test de screening de tuberculosis (técnica del Mantoux).

- Determinación de anticuerpos anti-rubeola,

- anticitomegalovirus, antihepatitis A, antiparotiditis, antivariola, antibrucella, entre otros.

El intervalo entre determinaciones va a depender tanto del agente biológico como de las características de la actividad profesional con relación a frecuencia de exposición y medidas de protección utilizadas, es decir, la periodicidad será ajustada al nivel de riesgo que tenga el trabajador.

Por ejemplo, actualmente no se recomienda realizar en la tuberculosis periódicamente el Mantoux si no existen factores claros de riesgo, no considerándose como tales el trabajo con micobacterias si se tienen las adecuadas medidas de protección y no se ha producido ningún accidente.

Esta periodicidad podrá variar en función de las características individuales de la persona (edad, inmunosupresión, embarazo, etc.).

c) Cuando sea necesario por haberse detectado en algún trabajador, con exposición similar, una infección o enfermedad que pueda deberse a la exposición a agentes biológicos.

Según el Artículo 4.2 del RD 664/1997 esta circunstancia conlleva la reevaluación de riesgos de estos puestos de trabajo.

2. Los trabajadores podrán solicitar la revisión de los resultados de la vigilancia de su salud.

3. Cuando exista riesgo por exposición a agentes biológicos para los que haya vacunas eficaces, éstas deberán ponerse a disposición de los trabajadores, informándoles de las ventajas e inconvenientes de la vacunación. Cuando los empresarios ofrezcan las vacunas deberán tener en cuenta las recomendaciones prácticas contenidas en el anexo VI de este Real Decreto.

Lo dispuesto en el párrafo anterior será también de aplicación en relación con otras medidas de preexposición eficaz que permitan realizar una adecuada prevención primaria.

El ofrecimiento al trabajador de la medida correspondiente, y su aceptación de la misma, deberán constar por escrito.

La inmunización activa frente a las enfermedades infecciosas ha demostrado ser, junto con las medidas generales de prevención, uno de los principales medios para proteger a los trabajadores.

Si se revela que existe riesgo para la salud y seguridad de los trabajadores debido a su exposición a agentes biológicos, para los cuales exista una vacuna con eficacia demostrada, el empresario está obligado a ofrecer dicha vacunación a todos los trabajadores (véase Anexo VI). La existencia de una vacuna eficaz disponible no exime al empresario de adoptar el resto de medidas preventivas.

Los trabajadores deben ser informados sobre los beneficios, ventajas e inconvenientes, tanto de la vacunación como de la no-vacunación. Los costes de la misma deben ser sufragados completamente por la empresa.

Una vez administrada la primera dosis de vacuna, el empleado debe recibir un carnet de vacunación que certifique que ha recibido dicha dosis. También deben fijarse fechas para futuras

dosis. Esta información debe introducirse en los registros del centro de trabajo y en el carnet de vacunación del empleado.

El Servicio de Prevención debe tener previstas las medidas preventivas oportunas que adoptará con aquellos trabajadores que están recibiendo la vacunación, así como las medidas a adoptar para los que no desarrollen inmunidad.

El ofrecimiento al trabajador de las medidas de prevención primaria, incluida la vacunación así como la aceptación o no de las mismas, tiene que hacerse constar por escrito.

De forma general, los tipos de vacunas más recomendadas en los trabajadores expuestos a agentes biológicos, bien por la gravedad o bien por la prevalencia de la infección a que puedan dar lugar dichos agentes, son:

- Hepatitis A
- Hepatitis B
- Tétanos
- Difteria
- Varicela
- Sarampión
- Parotiditis

4. El Médico encargado de la vigilancia de la salud de los trabajadores deberá estar familiarizado, en la medida de lo posible, con las condiciones o las circunstancias de exposición de cada uno de los trabajadores. En cualquier caso, podrá proponer medidas individuales de prevención o de protección para cada trabajador en particular.

El médico encargado de la vigilancia de la salud deberá conocer las condiciones de exposición de cada trabajador individualmente.

La evaluación individual es la única forma de

asegurarse de que los trabajadores expuestos reciban la prevención o protección adecuada, ya que la definición de riesgo por grupo de ocupaciones no es una manera eficaz de controlar la infección.

5. Deberá llevarse un historial médico individual de los trabajadores objeto de vigilancia sanitaria.

Se deberá llevar un historial médico individual en el que se recoja todo lo relativo a la vigilancia periódica del estado de salud, en función del riesgo derivado de la exposición a agentes biológicos, según lo establecido en los Artículos 22 y 23

de la Ley 31/1995 de 8 de noviembre sobre "Prevención de Riesgos Laborales".

La obligación de su conservación viene regulada por los Artículos 9.2, 9.3 y 11.5 del RD 664/1997

6. Se aconsejará e informará a los trabajadores en lo relativo a cualquier control médico que sea pertinente efectuar con posterioridad al cese de la exposición. En particular, resultará de aplicación a dichos trabajadores lo establecido en el párrafo e) del apartado 3 del Artículo 37 del Real Decreto 39/1997, de 17 de enero, por el que se aprueba el Reglamento de los Servicios de Prevención, en materia de vigilancia de la salud más allá de la finalización de la relación laboral.

En los casos en los que los riesgos inherentes al trabajo lo hagan necesario, los trabajadores tendrán derecho a vigilar periódicamente

su salud después de finalizada su relación laboral y esto se hará a través del Sistema Nacional de Salud.

#### **Artículo 9. Documentación.**

1. El empresario está obligado a disponer de:

a) La documentación sobre los resultados de la evaluación a que se refiere el Artículo 4 así como los criterios y procedimientos de evaluación y los métodos de medición, análisis o ensayo utilizados.

Deberá efectuar una nueva evaluación, que conllevará evidentemente nueva documentación:

a) Cuando se produzcan cambios en las condiciones de trabajo que puedan afectar a la

exposición de los trabajadores a agentes biológicos.

b) Cuando se detecte en algún trabajador infección o enfermedad que se sospeche provengan de la exposición a agentes biológicos durante el trabajo.

c) Periódicamente.

b) Una lista de los trabajadores expuestos en la empresa a agentes biológicos de los grupos 3 y 4, indicando el tipo de trabajo efectuado y el agente biológico al que hayan estado expuestos, así como un registro de las correspondientes exposiciones, accidentes e incidentes.

2. El empresario deberá adoptar las medidas necesarias para la conservación de un registro de los historiales médicos individuales previstos en el apartado 5 del Artículo 8 del presente Real Decreto, sin perjuicio de lo dispuesto en el Artículo 22 de la Ley de Prevención de Riesgos Laborales.

3. La lista de los trabajadores expuestos y los historiales médicos deberán conservarse durante un plazo mínimo de diez años después de finalizada la exposición; este plazo se ampliará hasta cuarenta años en caso de exposiciones que pudieran dar lugar a una infección en la que concurran alguna de las siguientes características:

a) Debida a agentes biológicos con capacidad conocida de provocar infecciones persistentes o latentes.

b) Que no sea diagnosticable con los conocimientos actuales, hasta la manifestación de la enfermedad muchos años después.

- c) Cuyo período de incubación, previo a la manifestación de la enfermedad, sea especialmente prolongado.
- d) Que dé lugar a una enfermedad con fases de recurrencia durante un tiempo prolongado, a pesar del tratamiento.
- e) Que pueda tener secuelas importantes a largo plazo.

Las patologías, con las características anteriores, están asociadas fundamentalmente con los agentes biológicos que aparecen con la notación "D", en el Anexo II del RD 664/1997.

4. La documentación a que se refiere el párrafo b) del apartado 1 será adicional a la que el empresario deberá elaborar de acuerdo con el Artículo 23 de la Ley de Prevención de Riesgos Laborales y estará sujeta al mismo régimen jurídico que ésta, en especial en lo que se refiere a su puesta a disposición de las autoridades laboral y sanitaria, y al acceso y confidencialidad de la información.

5. El tratamiento automatizado de datos personales sólo podrá realizarse en los términos previstos en la Ley Orgánica 5/1992, de 29 de octubre, de Regulación del Tratamiento Automatizado de los Datos de Carácter Personal.

#### **Artículo 10. Notificación a la autoridad laboral.**

1. La utilización, por primera vez, de agentes biológicos de los grupos 2, 3 ó 4 deberá notificarse con carácter previo a la autoridad laboral con una antelación mínima de treinta días al inicio de los trabajos.

La autoridad laboral competente, citada a lo largo del RD 664/1997, sería el correspondiente Departamento de Trabajo de la Comunidad Autónoma que tenga las competencias traspasadas; de no existir traspaso, sería el Ministerio de

Trabajo y Asuntos Sociales. Análogamente la autoridad sanitaria correspondería al Departamento de Sanidad de la Comunidad Autónoma que tenga las competencias traspasadas; de no existir traspaso, sería el Ministerio de Sanidad y Consumo.

Asimismo, se notificará, previamente, la utilización, por primera vez, de cualquier otro agente biológico del grupo 4, así como de cualquier nuevo agente biológico que haya sido asimilado provisionalmente por el empresario a los del grupo 3, de acuerdo con lo dispuesto en el párrafo a) del apartado 3 del Artículo 4.

2. No obstante, a los laboratorios que efectúen servicios de diagnóstico relacionados con agentes biológicos del grupo 4 se les exigirá únicamente la notificación inicial de tal propósito.

3. La notificación a que se refiere el presente Artículo incluirá:

- a) El nombre y la dirección de la empresa o centro de trabajo.
- b) El nombre y la formación de la persona o personas con responsabilidades en materia de prevención en la empresa.
- c) El resultado de la evaluación mencionada en el Artículo 4.
- d) La especie del agente biológico.
- e) Las medidas de prevención y protección previstas.

4. Se efectuará una nueva notificación siempre que se introduzcan cambios sustanciales en los procesos o procedimientos de trabajo cuyas repercusiones en las condiciones de seguridad y salud invaliden la notificación anterior.

En el Apéndice 6 “Notificación primer uso” se recogen situaciones específicas que ayudarán a la aplicación de este Artículo.

### **Artículo 11. Información a las autoridades competentes.**

1. El empresario tendrá a disposición de las autoridades laboral y sanitaria la documentación relativa a los resultados de la evaluación a que se refiere el Artículo 4 de este Real Decreto, incluyendo la naturaleza, grado y duración de la exposición, así como los criterios y procedimientos de evaluación y los métodos de medición, análisis o ensayo que hayan sido utilizados.

2. Cuando dicha evaluación ponga de manifiesto que existen riesgos para la seguridad o salud de los trabajadores, el empresario informará a las autoridades laboral o sanitaria que lo soliciten, sobre:

- a) Las actividades en las que los trabajadores hayan estado o podido estar expuestos a agentes biológicos.
- b) El número de trabajadores expuestos.
- c) El nombre y la formación de la persona o personas con responsabilidades en materia de prevención en la empresa.
- d) Las medidas de prevención y de protección adoptadas, incluyendo los procedimientos y métodos de trabajo.
- e) Un plan de emergencia para la protección de los trabajadores frente a una exposición a un agente biológico de los grupos 3 o 4, en caso de fallo de la contención física.

Véase Apéndice 7 “Plan de emergencia”.

La globalidad del punto 2 de este Artículo se entenderá básicamente aplicable en aquellas actividades con intención consciente de trabajar con agentes biológicos.

La información necesaria para cumplimentar este apartado corresponde, fundamentalmente, a lo contemplado en la elaboración del Manual de Bioseguridad, preconizado por la OMS.

3. El empresario informará inmediatamente a las autoridades laboral y sanitaria de cualquier accidente o incidente que haya podido provocar la liberación de cualquier agente biológico y que pueda causar una grave infección o enfermedad en el hombre.

Esta notificación deberá incluir siempre a los agentes de los grupos 3 o 4.

4. Se comunicarán a las autoridades laboral y sanitaria todos los casos de enfermedad o fallecimiento que se hayan identificado como resultantes de una exposición profesional a agentes biológicos.

5. La lista mencionada en el párrafo b) del apartado 1 del Artículo 9 y los historiales médicos a que se refiere el apartado 5 del Artículo 8 deberán remitirse a la autoridad laboral en caso de que la empresa cese en su actividad.

Los historiales médicos serán remitidos por la autoridad laboral a la sanitaria, quien los conservará, garantizándose, en todo caso, la confidencialidad de la información en ellos contenida. En ningún caso la autoridad laboral conservará copia de los citados historiales.

### **Artículo 12. Información y formación de los trabajadores.**

1. Sin perjuicio del Artículo 18 de la Ley de Prevención de Riesgos Laborales, el empresario adoptará las medidas adecuadas para que los trabajadores y los representantes de los trabajadores sean



informados sobre cualquier medida relativa a la seguridad y la salud que se adopte en cumplimiento del presente Real Decreto. Asimismo, el empresario tomará las medidas apropiadas para garantizar que los trabajadores y los representantes de los trabajadores reciban una formación suficiente y adecuada e información precisa basada en todos los datos disponibles, en particular en forma de instrucciones, en relación con:

- a) Los riesgos potenciales para la salud.
- b) Las precauciones que deberán tomar para prevenir la exposición.
- c) Las disposiciones en materia de higiene.
- d) La utilización y empleo de ropa y equipos de protección individual.
- e) Las medidas que deberán adoptar los trabajadores en el caso de incidentes y para la prevención de éstos.

2. Dicha formación deberá:

- a) Impartirse cuando el trabajador se incorpore a un trabajo que suponga un contacto con agentes biológicos.
- b) Adaptarse a la aparición de nuevos riesgos y a su evolución.
- c) Repetirse periódicamente si fuera necesario.

Por parte del empresario se debe proporcionar al trabajador la adecuada información, instrucción y entrenamiento sobre los riesgos biológicos que afecten a su puesto de trabajo o función, y de las medidas de protección o prevención aplicables a dichos riesgos.

Esta información no estará limitada a aquellos que trabajen directamente con los agentes biológi-

cos, sino que también irá dirigida a la plantilla auxiliar que podría estar expuesta (servicios de lavandería, de limpieza, mozos,...), que deben recibir instrucciones comprensibles y apropiadas a sus necesidades.

En ningún caso se deberá empezar a trabajar con agentes biológicos o material infeccioso, sin recibir la información o formación pertinente en este tema.

3. El empresario dará instrucciones escritas en el lugar de trabajo y, si procede, colocará avisos que contengan, como mínimo, el procedimiento que habrá de seguirse:

- a) En caso de accidente o incidente graves que impliquen la manipulación de un agente biológico.
- b) En caso de manipulación de un agente biológico del grupo 4.

4. Los trabajadores comunicarán inmediatamente cualquier accidente o incidente que implique la manipulación de un agente biológico a su superior jerárquico directo y a la persona o personas con responsabilidades en materia de prevención en la empresa.

5. El empresario informará inmediatamente a los trabajadores y a sus representantes de cualquier accidente o incidente que hubiese provocado la liberación de un agente biológico capaz de causar una grave infección o enfermedad en el hombre.

Además, el empresario informará, lo antes posible, a los trabajadores y a sus representantes de cualquier accidente o incidente grave, de su causa y de las medidas adoptadas, o que se vayan a adoptar, para remediar tal situación.

6. Los trabajadores tendrán acceso a la información contenida en la documentación a que se refiere el párrafo b) del apartado 1 del Artículo 9 cuando dicha información les concierna a ellos mismos.

Asimismo, los representantes de los trabajadores o, en su defecto, los propios trabajadores tendrán acceso a cualquier información colectiva anónima.

A petición de los representantes de los trabajadores o, en su defecto, de los propios trabajadores el empresario les suministrará la información prevista en los apartados 1 y 2 del Artículo 11.



**Artículo 13. Consulta y participación de los trabajadores.**

La consulta y participación de los trabajadores o sus representantes sobre las cuestiones a que se refiere este Real Decreto se realizarán de conformidad con lo dispuesto en el apartado 2 del Artículo 18 de la Ley de Prevención de Riesgos Laborales.

El empresario deberá consultar a los trabajadores o a sus representantes, y permitir su participación, en aquellas cuestiones que afecten directamente a la salud y seguridad en el trabajo.

### CAPITULO III DISPOSICIONES VARIAS

**Artículo 14. Establecimientos sanitarios y veterinarios distintos de los laboratorios de diagnóstico.**

1. Sin perjuicio de lo dispuesto en los capítulos anteriores del presente Real Decreto, en el caso de los establecimientos sanitarios y veterinarios distintos de los laboratorios de diagnóstico, la evaluación a que se refiere el Artículo 4 deberá tener especialmente en cuenta los riesgos inherentes a las actividades desarrolladas en los mismos y, particularmente, la incertidumbre acerca de la presencia de agentes biológicos en el organismo de pacientes humanos, de animales, o de materiales o muestras procedentes de éstos, y el peligro que tal presencia podría suponer.

En las instalaciones de atención sanitaria y veterinaria, la evaluación debe tener en cuenta la incertidumbre acerca de la presencia de agentes infecciosos en pacientes, animales o en los materiales y muestras procedentes de éstos.

Los riesgos deberán ser evaluados en cada una de las etapas que componen la manipulación; así, la realización de un estudio de malignidad de un tumor supondría: atención clínica, cirugía, biopsia y otras tomas de especímenes,

manipulación y transporte de los mismos, estudios de laboratorio y tratamiento y eliminación de residuos.

Por esta razón se aplicarán las denominadas “precauciones universales” (véase Apéndice 8 “Precauciones universales”), que implican mantener una actitud constante de autoprotección, con hábitos de trabajo seguro, aplicando el principio fundamental de que todas las muestras deben manipularse como si fueran infecciosas.

2. Se tomarán medidas apropiadas en dichos servicios para garantizar de modo adecuado la protección sanitaria y la seguridad de los trabajadores afectados.

Dichas medidas comprenderán en particular:

- a) La especificación de procedimientos apropiados de descontaminación y desinfección (...).

En el Apéndice 8 “Precauciones Universales” se listan los compuestos químicos habitualmente empleados como desinfectantes y sus caracterís-

ticas. Análogamente en el Apéndice 9 “Aplicación de Biocidas” se describen algunas características de los procedimientos de desinfección.

b) La aplicación de procedimientos que permitan manipular y eliminar sin riesgos los residuos contaminados.

3. En los servicios de aislamiento en que se encuentren pacientes o animales que estén o que se sospeche que estén contaminados por agentes biológicos de los grupos 3 ó 4 se seleccionarán medi-

das de contención de entre las que figuran en la columna A del anexo IV de este Real Decreto, con objeto de minimizar el riesgo de infección.

La selección de medidas entre las indicadas en la columna A se hará sobre la base de la evaluación del riesgo y, en particular, la naturaleza de la infección, la facilidad y el modo de transmisión del agente.

Respecto a las medidas de contención señaladas en la citada columna, es importante reseñar, en la medida nº 6, la necesidad de comprobar periódicamente la eficacia del sistema que mantiene la presión de la habitación o sala de aislamiento respecto a la atmósfera, entendiéndose por “atmósfera”

el aire exterior y/u otras partes del edificio donde estén ubicadas las salas de aislamiento. El empleo de gases trazadores, tipo hexafluoruro de azufre (F6S), permite comprobar la fiabilidad de la medida de contención.

Respecto a la nº 7, debe encuadrarse dentro de un sistema general de control de plagas, aplicable en locales de uso público y que contempla la desinfección, desinsectación y desratización (DDD). (Véase Apéndice 9 “Aplicación de Biocidas”).

#### **Artículo 15. Medidas especiales aplicables a los procedimientos industriales, a los laboratorios y a los locales para animales.**

1. Sin perjuicio de lo dispuesto en los capítulos anteriores del presente Real Decreto, en los laboratorios, incluidos los laboratorios de diagnóstico e investigación, y en los locales destinados a animales de laboratorio, deliberadamente contaminados por agentes biológicos de los grupos 2, 3 ó 4 o que sean o se sospeche que son portadores de estos agentes, se tomarán las medidas adecuadas de conformidad con lo dispuesto en los apartados siguientes:

a) Los laboratorios que emprendan trabajos que impliquen la manipulación de agentes biológicos de los grupos 2, 3 ó 4 con fines de investigación, desarrollo, enseñanza o diagnóstico deberán establecer medidas de contención de conformidad con el anexo IV de este Real Decreto, a fin de reducir al mínimo el riesgo de infección.

b) En función del resultado de la evaluación a que se refiere el Artículo 4, se deberán tomar medidas de conformidad con el anexo IV de este Real Decreto, después de que haya sido fijado el nivel de contención física requerido para los agentes biológicos en función del grado de riesgo.

Las actividades que supongan la manipulación de un agente biológico se ejecutarán:

1.º Únicamente en zonas de trabajo que correspondan por lo menos al nivel 2 de contención, para un agente biológico del grupo 2.

2.º Únicamente en zonas de trabajo que correspondan por lo menos al nivel 3 de contención, para un agente biológico del grupo 3.

3.º Únicamente en zonas de trabajo que correspondan por lo menos al nivel 4 de contención, para un agente biológico del grupo 4.

Esta adscripción fija del nivel de grupo de riesgo del agente biológico, con el mismo nivel de contención, tiene algunos casos particulares motivados por las características de los agentes biológicos.

En el Apéndice 10 “Medidas de protección suplementarias para agentes biológicos del grupo 2” se argumenta y recoge un listado de agentes biológicos clasificados en este grupo de riesgo, para los cuales se recomiendan unos niveles de contención superior.

Otros ejemplos donde se necesitarían medidas de contención superiores sería el trabajo con cepas multirresistentes a medicamentos tales como *Plasmodium falciparum* o *Mycobacterium tuberculosis*.

Para aquellos agentes biológicos que aparecen en el Anexo II con la notación “(\*)”, y en los cuales el riesgo de transmisión aérea es considerado bajo, es posible el uso de menor rigurosidad en la contención para algunas tareas con estos agentes,

salvo indicación en contrario de la autoridad sanitaria a la que se deberá informar previamente de tal circunstancia.

Así, en los laboratorios en los que se proceda al aislamiento primario e identificación del VIH, estas operaciones podrán realizarse con un nivel de confinamiento físico 2; el uso de cabinas de bioseguridad no es esencial. Para el resto de manipulaciones e investigaciones se necesitarían las exigencias físicas y operativas del nivel de contención 3.

Análogamente, el trabajo con parásitos del grupo de riesgo 3<sup>(\*)</sup> (*Plasmodium falciparum*, *Taenia solium*,...) no requiere el tratamiento del aire del laboratorio ni el uso de cabina de seguridad biológica. Sin embargo, se debe realizar una vigilancia estricta evitando lesiones con objetos punzantes y la contaminación de las superficies, incluyendo equipos de control, teléfonos, teclados de ordenador,... Se deberían eliminar, tanto como fuera posible, los objetos punzantes. Las lesiones en la piel

deberán cubrirse adecuadamente, lavándose las manos siempre que tenga lugar contaminación. Del mismo modo los guantes deben ser desinfectados o desechados antes de que con ellos se pueda contaminar cualquier objeto que vaya a ser manipulado por otros.

En resumen, para este tipo de agentes clasificados con 3<sup>(\*)</sup>, determinadas actividades se podrán efectuar con las exigencias físicas de un nivel de contención 2 y las exigencias operativas del nivel 3.

También pueden utilizarse a un nivel de contención inferior al que establece su nivel de grupo aquellos agentes con virulencia reducida, como serían cepas mutantes no patógenas (*E. coli* k12) y cepas de vacunas atenuadas (cepa BCG de la *M. Bovis*). En estos casos la rebaja en los niveles de contención vendrá determinada por el tipo de operación que se realice, el material que va a ser manejado, el grado potencial de exposición y la susceptibilidad del trabajador.

c) Los laboratorios que manipulen materiales con respecto a los cuales exista incertidumbre acerca de la presencia de agentes biológicos que puedan causar una enfermedad en el hombre, pero que no tengan como objetivo trabajar con ellos como tales, cultivándolos o concentrándolos, deberían adoptar, al menos, el nivel 2 de contención. Deberán utilizarse los niveles 3 y 4, cuando proceda, siempre que se sepa o sospeche que son necesarios, salvo cuando las líneas directrices establecidas por las autoridades sanitarias indiquen que, en algunos casos, conviene un nivel de contención menor.

En los Apéndices 11 y 12 “Requerimientos de los laboratorios según su nivel de contención” y “Medidas y niveles de contención para las actividades en locales con animales”, respectivamente, se especifican de forma detallada las características exigidas en este Artículo a los laboratorios y locales para animales.

Los laboratorios que manipulen materiales en los que existan razones para suponer que pueda haber agentes infecciosos, pero que no tengan intención de trabajar con ellos, deben adoptar un nivel de contención 2 como mínimo.

Análogamente, por ejemplo, si un laboratorio se dedica al screening de agentes biológicos que entran en el grupo 3, pero que habitualmente no están presentes (por ejemplo, el laboratorio de microbiología de una fábrica de alimentos que controla la presencia de *Salmonella* con la posibilidad de encontrar *Salmonella typhi*), debe trabajar al nivel 2, pero colocándose en el nivel superior

adecuado si se encuentra el agente y va a continuar trabajando con él.

En los laboratorios en los que no se trabaje deliberadamente con agentes biológicos, pero donde se conoce o sospecha la presencia de agentes que requieren los niveles de contención 3 o 4, deben utilizarse esos niveles de contención a menos que las orientaciones de las autoridades sanitarias dejen claro que es permisible un nivel inferior.

Estas orientaciones pueden indicar, por ejemplo, que en laboratorios de serología, hematología o laboratorios forenses, donde se manejan materiales susceptibles de estar contaminados por un virus concreto del grupo 3, se puede utilizar, no obstante un nivel de contención 2. En cualquier caso el empresario debe estar seguro del alcance y significado de las orientaciones antes de tomar la decisión de utilizar un nivel inferior de contención y, en caso de duda, consultar con la autoridad sanitaria.

2. Sin perjuicio de lo dispuesto en los capítulos anteriores del presente Real Decreto, en los procedimientos industriales que utilicen agentes biológicos de los grupos 2, 3 ó 4 deberán tomarse las medidas adecuadas de conformidad con lo dispuesto en los apartados siguientes:

a) Los principios en materia de contención expuestos en el segundo párrafo de el párrafo b) del apartado 1 deben aplicarse basándose en las medidas concretas y procedimientos adecuados que figuran en el anexo V de este Real Decreto.

b) En función del resultado de la evaluación del riesgo vinculado al empleo de agentes biológicos de los grupos 2, 3 ó 4, las autoridades laboral y sanitaria, en el ámbito de sus respectivas competencias, podrán decidir las medidas adecuadas que deberán aplicarse para el uso industrial de tales agentes biológicos.

c) Todas las actividades reguladas por el presente Artículo en las que no haya sido posible proceder a una evaluación concluyente de un agente biológico, pero de cuya utilización prevista parezca que puede derivarse un riesgo grave para la salud de los trabajadores, únicamente podrán realizarse en locales de trabajo cuyo nivel de contención corresponda, al menos, al nivel 3.

En el Apéndice 13 “El uso de los agentes biológicos a gran escala” se recogen algunas características que deben reunir los locales de trabajo para conseguir niveles de contención adecuados según el grupo de riesgo de los agentes biológicos manipulados.

**Disposición adicional única. Remisión de documentación e información a las autoridades sanitarias.**

Las autoridades laborales remitirán a las autoridades sanitarias copia de cuanta documentación e información reciban de las empresas de conformidad con lo dispuesto en los Artículos 9, 10 y 11 de este Real Decreto.

**Disposición transitoria única. Notificación a la autoridad laboral.**

Las empresas o centros de trabajo que en el momento de la entrada en vigor del presente Real Decreto utilicen agentes biológicos de los grupos 2, 3 ó 4 notificarán a la autoridad laboral tal utilización en el plazo de tres meses a partir de la entrada en vigor del presente Real Decreto.

**Disposición derogatoria única. Derogación normativa.**

Quedan derogadas cuantas disposiciones de igual o inferior rango se opongan a lo dispuesto en este Real Decreto y expresamente los Artículos 138 y 139 de la Ordenanza General de Seguridad e Higiene en el Trabajo aprobada por Orden de 9 de marzo de 1971, en lo relativo a los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo.

**Disposición final primera. Elaboración y actualización de la Guía Técnica de Riesgos.**

El Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, de acuerdo con lo dispuesto en el apartado 3 del Artículo 5 del Real Decreto 39/1997, de 17 de enero, por el que se aprueba el Reglamento de los Servicios de Prevención, elaborará y mantendrá actualizada una Guía Técnica, de carácter no vinculante, para la evaluación de los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo.

**Disposición final segunda. Facultades de aplicación y desarrollo.**

Se autoriza al Ministro de Trabajo y Asuntos Sociales, previo informe favorable del de Sanidad y Consumo, y previo informe de la Comisión Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo, a dictar cuantas disposiciones sean necesarias para la aplicación y desarrollo de este Real Decreto, así como para las adaptaciones de carácter estrictamente técnico de sus anexos en función del progreso técnico y de la evolución de las normativas o especificaciones internacionales o de los conocimientos en materia de agentes biológicos.

**Disposición final tercera. Entrada en vigor.**

El presente Real Decreto entrará en vigor a los dos meses de su publicación en el "Boletín Oficial del Estado".

Dado en Madrid a 12 de mayo de 1997

JUAN CARLOS R.

El Vicepresidente Primero del Gobierno  
y Ministro de la Presidencia  
FRANCISCO ÁLVAREZ-CASCOS FERNÁNDEZ

ANEXO I

LISTA INDICATIVA DE ACTIVIDADES

1. Trabajos en centros de producción de alimentos.
2. Trabajos agrarios.
3. Actividades en las que existe contacto con animales o con productos de origen animal.
4. Trabajos de asistencia sanitaria, comprendidos los desarrollados en servicios de aislamiento y de anatomía patológica.
5. Trabajos en laboratorios clínicos, veterinarios, de diagnóstico y de investigación, con exclusión de los laboratorios de diagnóstico microbiológico.
6. Trabajos en unidades de eliminación de residuos.
7. Trabajos en instalaciones depuradoras de aguas residuales.

ANEXO II

CLASIFICACIÓN DE LOS AGENTES BIOLÓGICOS

1. En la tabla adjunta se presenta una lista de agentes biológicos, clasificados en los grupos 2, 3 ó 4, siguiendo el criterio expuesto en el Artículo 3.1 de este Real Decreto. Para determinados agentes se proporcionan indicaciones adicionales, utilizándose, a tal efecto, la siguiente simbología:

**A: posibles efectos alérgicos.**

Deberá ser considerada como un factor de riesgo adicional la capacidad de estos agentes biológicos de actuar como sensibilizantes res-

piratorios. Afectan fundamentalmente a los hongos y en menor proporción a los endoparásitos.

**D:** la lista de los trabajadores expuestos al agente debe conservarse durante más de diez años después de la última exposición.

Aparecen con esta notación complementaria los agentes biológicos que poseen algunas de las características recogidas en el Artículo 9, apartado 3, y por lo tanto la lista de los trabajadores expuestos a dichos agentes deberá conservarse durante 40 años, a contar desde la última exposición. Esta

notación sólo la llevan agentes biológicos clasificados dentro del apartado "virus".

En la exposición al resto de los agentes de los grupos 3 o 4 se deben guardar registros de los trabajadores durante al menos 10 años, desde la última exposición.

**T: producción de toxinas.**

Indica que el agente biológico puede potencialmente emitir toxinas y, por lo tanto, es susceptible de originar reacciones tóxicas, que deberán

ser consideradas como riesgo adicional al infeccioso. Sólo algunas bacterias presentan dicho riesgo.

**V: vacuna eficaz disponible.**

Indica la existencia de una vacuna efectiva que, como eficaz herramienta preventiva, deberá ser ofrecida por el empresario al trabajador que no sea

inmune a los agentes biológicos a los cuales está expuesto o va a exponerse. En el Anexo VI se recogen recomendaciones prácticas para la vacunación.

**(\*): normalmente no infeccioso a través del aire.**

Indica que el agente biológico, clasificado siempre en el grupo 3, no se transmite por vía aérea y por lo tanto este hecho debe ser tenido en cuenta tanto en la evaluación de riesgos como a la hora de planificar las medidas y niveles de contención, que no habrán de ser tan rigurosas como para los

agentes biológicos de este grupo que carezcan de esta notación complementaria, salvo indicación en contrario de la autoridad sanitaria a la que se debe informar, previamente, de tal circunstancia. En el Artículo 15, apartado 1 c) se amplía la información aquí reseñada.

**"spp":** otras especies del género, además de las explícitamente indicadas, pueden constituir un riesgo para la salud.

Dentro de la clasificación de agentes biológicos por género y especie pueden ocurrir 3 casos:

a) Aparece listado un género con más de una especie junto con la referencia general, spp. Se indican en este caso las especies prevalentes conocidas como patogénicas para el hombre, junto con la referencia general spp de que otras especies de este mismo género pueden también presentar

riesgo. Por ejemplo: *Campylobacter fetus*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter spp*.

b) Aparece en la clasificación sólo el género, por ejemplo: *Prevotella spp* indicaría que sólo tendrán que tenerse implícitamente en cuenta las especies patógenas para el hombre y, por lo tanto, las cepas y especies no patogénicas quedan excluidas.

c) Aparece listada una única especie, por ejemplo: *Rochalimaea quintana* indicaría que específicamente el agente biológico listado es el patógeno.

2. La clasificación de los agentes listados se ha realizado considerando sus posibles efectos sobre trabajadores sanos. No se han tenido en cuenta los efectos particulares que puedan tener en trabajadores cuya sensibilidad se vea afectada por causas tales como patología previa, medicación, trastornos inmunitarios, embarazo o lactancia.

Véase lo referido en el Artículo 4, apartado 3.

3. Para una correcta clasificación de los agentes, en base a la citada lista, deberá tenerse en cuenta que:

a) La no inclusión en la lista de un determinado agente no significa su implícita y automática clasificación en el grupo 1.

Si se conoce la identidad del agente biológico a que un trabajador está expuesto, pero no se encuentra listado en la clasificación recogida en el Anexo II, han de estudiarse sus características como agente infeccioso, según el Artículo 3, apartado 1, y sólo cuando se haya confirmado su carácter no infeccioso podrá ser clasificado en el grupo 1.

Puede observarse cómo, en la actualidad, no hay ningún agente biológico listado en el grupo 1 de riesgo. A este grupo pertenecerían, por ejemplo: *Escherichia coli* K 12 (cepas de seguridad para trabajos en ingeniería genética) y *Saccharomyces cerevisiae*, con un riesgo mínimo respecto a su carácter infeccioso. Es importante reseñar, no obstante, que a la hora de determinar las medidas apropiadas para pre-

venir el riesgo de este tipo de agentes deben tenerse en cuenta su posible acción tóxica o sensibilizante.

Por ejemplo: algunas especies de hongos, habitualmente no infecciosos, como *Penicillium* o los Termoactinomicetos, responsables del “pulmón del granjero”.

En esta misma línea, y antes de asumir que un agente no listado pertenece al grupo 1 de riesgo, se deberá verificar si ese nombre no es sinónimo de algún otro agente que sí aparece en la lista del Anexo II.

Esta lista está elaborada según la taxonomía más reciente, por lo que para aquellos agentes cuyos nombres pueden haber cambiado, en un pasado reciente, los nombres antiguos así como los sinónimos también están descritos.

b) En la lista no se han incluido los microorganismos genéticamente modificados, objeto de una reglamentación específica.

Véase Apéndice 1 “Organismos Genéticamente Modificados”

c) En el caso de los agentes para los que se indica tan solo el género deberán considerarse excluidas de la clasificación las especies y cepas no patógenas para el ser humano.

d) Todos los virus no incluidos en la lista que hayan sido aislados en seres humanos se considerarán clasificados como mínimo en el grupo 2, salvo cuando la autoridad sanitaria haya estimado que es innecesario.

4. Cuando una cepa esté atenuada o haya perdido genes de virulencia bien conocidos, no será necesariamente aplicable la contención requerida por la clasificación de su cepa madre. Por ejemplo, cuando dicha cepa vaya a utilizarse como producto o parte de un producto con fines profilácticos o terapéuticos.

Lo referente a niveles de contención se refleja más extensamente comentados en el Artículo 15.

5. Para los agentes biológicos normalmente no infecciosos a través del aire, señalados con un asterisco en la lista de agentes biológicos, podrá prescindirse de algunas medidas de contención destinadas a evitar su transmisión por vía aérea, salvo indicación en contrario de la autoridad sanitaria a la que se deberá informar previamente de tal circunstancia.



En este caso podrá permitirse, por la autoridad competente, el uso de menor rigurosidad en la contención nivel 3 para algún tipo de trabajo con

estos agentes. Una información más amplia se recoge en el Artículo 15.

6. Los imperativos en materia de contención que se derivan de la clasificación de los parásitos se aplicarán únicamente a las distintas etapas del ciclo del parásito que pueda ser infecciosas para las personas en el lugar de trabajo.

El principio de un nivel de contención apropiado al grupo de riesgo del agente se aplica a todos los agentes biológicos infecciosos; sin embargo, en el caso de los parásitos no es necesario aplicar algunas medidas de contención en las etapas no infecciosas del ciclo de vida de los mismos.

La siguiente relación incluye las modificaciones y actualizaciones introducidas por la Orden de 25 de marzo de 1998 (BOE nº 76 de 30/3/1998) y su posterior corrección de erratas en el BOE nº 90 de 15/4/1998.

Agente biológico	Clasificación	Notas	Agente biológico	Clasificación	Notas
<b>Bacterias y afines</b>			<i>Chlamydia psittaci</i> (cepas aviares).....	3	
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> ....	2		<i>Chlamydia psittaci</i> (cepas no aviares) ....	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) spp</i> .....	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>(*)</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	



EXPOSICIÓN A AGENTES BIOLÓGICOS

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

## EXPOSICIÓN A AGENTES BIOLÓGICOS

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>(*)</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>(*)</sup>	D
Bhanja.....	2		Hepatitis G.....	3 <sup>(*)</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>(*)</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		Encefalitis verno-estival rusa (a).....	3	V
Virus Seoul.....	3		Encefalitis de St Louis.....	3	
Virus Puumala.....	2		Virus Wesselsbron.....	3 <sup>(*)</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>(*)</sup>	V, D
<i>Flebovirus</i> :			Virus de la hepatitis D (Delta) (b).....	3 <sup>(*)</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 simiae (virus B).....	3	
<i>Caliciviridae</i>			Herpes simplex virus tipos 1 y 2.....	2	
Virus de la Hepatitis E.....	3 <sup>(*)</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

EXPOSICIÓN A AGENTES BIOLÓGICOS

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

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

EXPOSICIÓN A AGENTES BIOLÓGICOS

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 símico. 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 marneffeii</i> .....	2	A			
<i>Scedosporium apiospermum</i> ( <i>Pseudallescheria boydii</i> ) .....	2				
<i>Scedosporium prolificans</i> ( <i>inflatum</i> ) .....	2				

ANEXO III  
SEÑAL DE PELIGRO BIOLÓGICO



ANEXO IV  
INDICACIONES RELATIVAS A LAS MEDIDAS DE CONTENCIÓN Y A LOS NIVELES DE CONTENCIÓN

Observación preliminar: 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.

A. Medidas de contención	B. Niveles de contención		
	2	3	4
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 V

## INDICACIONES RELATIVAS A LAS MEDIDAS DE CONTENCIÓN Y A LOS NIVELES DE CONTENCIÓN PARA PROCESOS INDUSTRIALES

## OBSERVACIÓN PRELIMINAR

1. Agentes biológicos del grupo 1: Cuando se trabaje con agentes biológicos del grupo 1, comprendidas las vacunas de gérmenes vivos atenuados, se observarán los principios de correcta seguridad e higiene profesional.

2. Agentes biológicos de los grupos 2, 3 y 4: Puede resultar adecuado seleccionar y combinar, basándose en una evaluación del riesgo relacionado con cualquier proceso particular o parte de un proceso, requisitos de contención de las diferentes categorías que se expresan a continuación.

A. Medidas de contención	B. Niveles de contención		
	2	3	4
1. Los microorganismos viables deberán ser manipulados en un sistema que separe físicamente el proceso del medio ambiente.	Sí.	Sí.	Sí.
2. Deberán tratarse los gases de escape del sistema cerrado para:	Minimizar la liberación.	Impedir la liberación.	Impedir la liberación.
3. La toma de muestras, la adición de materiales a un sistema cerrado y la transferencia de organismos viables a otro sistema cerrado deberán realizarse de un modo que permita:	Minimizar la liberación.	Impedir la liberación.	Impedir la liberación.



EXPOSICIÓN A AGENTES BIOLÓGICOS

A. Medidas de contención	B. Niveles de contención		
	2	3	4
4. Los fuidos de grandes cultivos no deberán retirarse del sistema cerrado a menos que los microorganismos viables hayan sido:	Inactivados mediante medios de eficacia probada.	Inactivados mediante medios físicos o químicos de eficacia probada.	Inactivados mediante medios físicos o químicos de eficacia probada.
5. Los precintos deberán diseñarse con el fin de:	Minimizar la liberación.	Impedir la liberación.	Impedir la liberación.
6. Los sistemas cerrados deberán ubicarse en una zona controlada:	Facultativo.	Facultativo.	Sí, expresamente construida.
a) Deberán colocarse señales de peligro biológico.	Facultativo.	Sí.	Sí.
b) Sólo deberá permitirse el acceso al personal designado.	Facultativo.	Sí.	Sí, mediante esclusa de aire.
c) El personal deberá vestir indumentaria de protección.	Sí, ropa de trabajo.	Sí.	Cambiarse completamente.
d) Deberá dotarse al personal de instalaciones de descontaminación y lavado.	Sí.	Sí.	Sí.
e) Los trabajadores deberán ducharse antes de abandonar la zona controlada.	No.	Facultativo.	Sí.
f) Los efluentes de fregaderos y duchas deberán recogerse e inactivarse antes de su liberación.	No.	Facultativo.	Sí.
g) La zona controlada deberá ventilarse adecuadamente para reducir al mínimo la contaminación atmosférica.	Facultativo.	Facultativo.	Sí.
h) En la zona controlada deberá mantenerse una presión del aire negativa respecto a la atmósfera.	No.	Facultativo.	Sí.
i) Se deberá tratar con filtros «HEPA» el aire de entrada y salida de la zona controlada.	No.	Facultativo.	Sí.
j) Deberá diseñarse la zona controlada para impedir la fuga del contenido del sistema cerrado.	No.	Facultativo.	Sí.
k) Se deberá poder precintar la zona controlada para su fumigación.	No.	Facultativo.	Sí.
l) Tratamiento de efluentes antes de su vertido final.	Inactivados por medios de eficacia probada.	Inactivados por medios físicos o químicos de eficacia probada.	Inactivados por medios físicos o químicos de eficacia probada.

ANEXO VI  
RECOMENDACIONES PRÁCTICAS PARA LA VACUNACIÓN

1. Cuando la evaluación a que se refiere el artículo 4 demuestre la existencia de un riesgo para la seguridad y la salud de los trabajadores por exposición a agentes biológicos contra los que existan vacunas eficaces, el empresario deberá ofrecer dicha vacunación.

2. Deberá informarse a los trabajadores sobre las ventajas e inconvenientes tanto de la vacunación como de la no vacunación.

3. La vacunación ofrecida a los trabajadores no acarreará a éstos gasto alguno.

4. Podrá elaborarse un certificado de vacunación que se expedirá al trabajador referido y, cuando así se solicite, a las autoridades sanitarias.

5. Lo dispuesto en los apartados anteriores será de aplicación a las medidas a las que se refiere el segundo párrafo del apartado 3 del artículo 8.

### III. APÉNDICES

#### APÉNDICE 1: ORGANISMOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE

Para las actividades que impliquen la utilización de microorganismos modificados genéticamente (OMG), entendiéndose por tal cualquier microorganismo cuyo material genético ha sido modificado de una manera que no se produce de forma natural en la multiplicación o en la recombinación natural, deben clasificarse en función de los riesgos que presenten para la salud humana.

Esta evaluación de riesgos se hará siguiendo tanto la sistemática descrita en el RD 664/1997 como en la Directiva 98/81/CE de 26 de Octubre de 1997 (DOCE L 330 de 5/12/98), sin perjuicio de lo establecido por la Ley 15/1994 de 3 de Junio (BOE nº 133 de 4/6/94), por el que se establece el régimen jurídico de la utilización confinada, liberación voluntaria y comercialización de OMG, a fin de prevenir los riesgos para la salud humana y para el medio ambiente, así como el RD 951/1997 de 20 de Junio (BOE nº 150 de 24/6/97), por el que se aprueba el Reglamento General para el Desarrollo y Ejercicio de la Ley 15/1994.

Se incluyen aquellos microorganismos obtenidos por técnicas:

- De recombinación del ADN que utilizan sistemas de vectores contemplados en la recomendación del Consejo 82/472 CEE.

- Que supongan la incorporación directa en un microorganismo de material genético preparado fuera del organismo, incluyendo la microproyección, la macroinyección y la microencapsulación.

- De fusión de células o de hibridación en las que se forman células vivas con nuevas combinaciones de material genético hereditario, mediante la fusión de dos o más células utilizando métodos que no se dan naturalmente.

No se incluirán en el ámbito de aplicación de este RD las técnicas de mutagénesis, de fusión celular, fertilización in vitro, inducción poliploide así como la conjugación, transducción, transformaciones o cualquier otro proceso natural.

A partir de dicha evaluación las actividades quedarán clasificadas como de riesgo insignificante, bajo, moderado o alto, debiéndosele asignar un grado de confinamiento o nivel de contención adecuado a cada una.

En la citada Directiva 98/81/CE se recogen específicamente los requerimientos mínimos respecto a instalaciones, equipos, normas de trabajo y tratamiento de residuos para las actividades en laboratorios, invernaderos o semilleros y animalarios.



## APÉNDICE 2: 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 los 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 mycoplasmas, 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 con-

siderar 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 que 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 linfoideas, 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 alérgicos 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 indicó 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 (procesos 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.

### APÉNDICE 3:

## IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN DE AGENTES BIOLÓGICOS EN LOS LUGARES DE TRABAJO

La investigación de la exposición a agentes biológicos en el lugar de trabajo puede ser relativamente simple si se conoce la naturaleza de los mismos, o muy compleja en especial para aquellas actividades en las que la exposición a dichos agentes no se produce de forma intencionada como sería el caso de la agricultura, trabajos en unidades de eliminación de residuos, tratamiento de aguas residuales,...ya que pueden formarse mezclas complejas de diferentes microorganismos. En estos casos el procedimiento a seguir para la identificación de los mismos podría efectuarse utilizando el estudio de indicadores que, de forma gradual (de globales a individuales), pongan de manifiesto la exposición a agentes biológicos:

- Indicadores globales (IGL), por ejemplo: recuento total de bacterias u hongos/levaduras, viables o totales que, mediante determinaciones analíticas sencillas y poco costosas, dan idea de la carga microbiológica total, permitiendo en su caso la identificación de agentes biológicos.

- Indicadores de grupo (IGR), por ejemplo: endotoxinas, enterobacterias, actinomicetes, ... como grupos homogéneos de agentes biológicos y/o productos derivados de los mismos.

- Indicadores específicos (IES), para lugares de trabajo o tareas concretas está indicado el estudio de agentes biológicos o familias específicas directamente relacionadas con los ya citados lugares investigados.

- Indicadores individuales (IIN), para problemas específicos que se hayan encontrado en relación con agentes biológicos concretos puede establecerse, cuando ello sea posible, una investigación de especies individuales, por ejemplo *Pseudomonas aeruginosa*.

En la Tabla adjunta se recoge, a modo de ejemplo, un listado de las actividades laborales y los parámetros de medición a examinar.

El estudio de los posibles indicadores propuestos para la evaluación de los riesgos asociados a agentes biológicos implicará, como paso previo, una toma de muestra de los mismos bien para su determinación directa como bioaerosoles, bien como contaminantes superficiales o para la medida cuantitativa de productos, componentes o metabolitos de los agentes biológicos cuya concen-

tración sea representativa de la carga biológica global a valorar.

Se pueden tomar por lo tanto tres opciones para la medida de agentes biológicos:

- a) Métodos que van a poner de manifiesto el número total de agentes y/o el número de microorganismos cultivables, entendiendo como tales aquellos capaces de formar colonias en un medio de cultivo adecuado.

- b) Métodos que ponen de manifiesto la presencia de elementos celulares provenientes de los agentes biológicos como pueden ser, por ejemplo, las endotoxinas y glucanos.

- c) Métodos que cuantifican metabolitos tanto primarios (por ejemplo: ATP), como secundarios (por ejemplo: micotoxinas), que pueden servir de marcadores de la actividad vital de los agentes biológicos, o encontrarse en los bioaerosoles muestreados.

La limitación de la metodología propuesta está en que, en la actualidad, no se disponen de datos suficientes para establecer de forma fiable relaciones dosis-efecto/respuesta para los bioaerosoles, de modo similar al establecido para los agentes químicos, por lo que no es posible el establecimiento de valores límite ambientales que sirvan como criterio de referencia en la misma línea que para los agentes químicos (VLA, TLV). Para el caso de las endotoxinas sí hay valores de referencia orientativos.

A pesar de estas limitaciones consideramos de gran utilidad este tipo de estudios ya que, además de dar información sobre la naturaleza de los agentes biológicos (Anexo II), posibilitan el estudio de situaciones específicas o la comparación de éstas, por ejemplo antes y después de la aparición de quejas o patologías, comparación de dos sistemas de limpieza, efectividad de un desinfectante, repercusión de un cambio en el proceso productivo, repercusión de factores físicos, identificación de focos de contaminación, etc.

#### **a) Métodos para el muestreo de agentes biológicos cultivables y/o totales**

Están proyectados para determinar la fuente, cantidad e identificación de agentes biológicos transmitidos fundamentalmente por vía aérea. Están basados en la toma, recuperación y subsi-

ACTIVIDAD LABORAL	POSIBLES INDICADORES ESTUDIADOS
Plantas de clasificación de residuos sólidos/compostaje	IGL: Bacterias/hongos y levaduras Bacterias; IGR: Gram (+), Gram (-), Endotoxinas; Bacterias formadoras de esporas; Actinomycetes; IIN: Aspergillus fumigatus;
Plantas de tratamiento de aguas residuales	IGL: Bacterias; IGR: Bacterias Gram (+), Endotoxinas; IIN: Leptospira interrogans, E. Coli
Eliminación de residuos	IGL: Bacterias, Hongos; IGR: Bacterias (aerobias y anaerobias)
Biotecnología	IIN: Agentes biológicos específicos del proceso, p. ej.: - Productos farmacéuticos y biológicos: E. coli k-12 - Cephalosporium spp.; Streptomyces spp.; Cultivos celulares de ovario de hamster; - Penicillium crysogenum - Bebidas alcohólicas: Saccharomyces cerevisae; - S. Ovarium - Enzimas industriales: Bacillus licheniformis; Bacillus subtilis; A. oryzae; Mucor spp. - Rhizopus spp.; Clostridium spp. - Alimentos: Streptococcus termophilus; Lactobacillus bulgaricus; Penicillium roqueforti; - P. camembertii; Propionobacterium shermanii
Mantenimiento sistemas de acondicionamiento de aire/humidificadores/torres	IGL: Bacterias, Hongos; IGR: Actinomycetes, Pseudomonas, Endotoxinas; IIN: Legionella pneumophila; Gérmenes específicos (filtros);
Tratamiento de metales (fluidos de corte)	IGL: Bacterias; Hongos, Levaduras; IGR: Enterobacteriaceas; Endotoxinas; IES: Pseudomonas;
Descontaminación De suelos	IGR: Bacterias Gram (+) y Gram (-); IES: Pseudomonas, Nocardia spp.
Ventas al por mayor/almacenes	IGL: Hongos; IGR: Actinomycetes;
Industria forestal	IIN: Ag. Biológicos origen de patologías específicas p. ej.: - Amebiasis (Entamoeba histolyticum) - Leptospirosis (Leptospyra spp.) - Ornitosis (Chlamydia psitacci) - Tularemia (Franciscella tularensis) ...
Producción de alimentos	IGL: Bacterias; Hongos; Levaduras; IES: Staphylococcus spp.; Coliformes
Manipuladores de animales	IGL: Bacterias; Hongos/Levaduras; IIN: Patógenos causantes de enfermedades: Antrax; Brucelosis; Criptosporidosis; Ectima contagiosa; Erisipeloide; Hidatosis, Leptospirosis, Psitacosis; Rabia; Salmonelosis; Tinea capitis; Triquinosis; Tuberculosis; Tularemia
Cuidado de la salud	IGL: Bacterias; Hongos/Levaduras; IES: Gérmenes infecciosos: - Klebsiella spp.; Micobacterias; Legionella spp.,....
...	...

guiente cultivo de microorganismos. Estos métodos pueden ser clasificados de acuerdo con el procedimiento de toma de muestra o el manejo de la muestra tomada, e incluyen: gravitación, impactación, centrifugación, burbujeo y filtración.

- **Gravitación o impactación natural:** Es la forma más simple de toma de muestra de bioaerosoles, en la cual las partículas biológicas aerotransportadas son recogidas sobre una superficie adherente (agar en una placa Petri o recubriendo un portaobjetos, placas RODAC,...) por su capacidad de sedimentar por gravedad. Es un método económico, que no necesita equipos auxiliares, si bien ha de tenerse especial cuidado en donde se colocan dichas placas para evitar corrientes de aire. Las partículas de mayor tamaño pueden estar sobre-representadas. Este método no es cuantitativo, es decir, la muestra no se toma a partir de un volumen conocido de aire, por lo que las pruebas de intercomparación son dificultosas. Es un procedimiento útil para estudios iniciales y para la estimación aproximada de la carga microbiológica tanto desde el punto de vista cuantitativo como cualitativo, si se eligen adecuadamente los medios de cultivo.

- **Impactación:** El aire, aspirado por una bomba de vacío que forma parte del muestreador, pasa a través de un orificio y es dirigido a la superficie del medio de cultivo contenido en una placa adecuada. Las partículas con suficiente momento de inercia abandonan la corriente e impactan sobre la superficie. El orificio de entrada puede consistir en una rendija o en un cabezal con un elevado número de orificios de igual diámetro y el medio de recogida puede ser agar sobre una placa Petri, RODAC o un portaobjetos.

Muchos muestreadores emplean este método, algunos recogen las partículas sobre una superficie única, mientras otros las recogen por diferentes fracciones de tamaño (diámetro aerodinámico equivalente), en superficies sucesivas (impactación en cascada). Ejemplos de estos muestreadores por impactación incluyen los de rendija (Casella), impactadores de etapa simple (SAS), impactadores Andersen de 1, 2 y 6 etapas o placas (este último considerado como método de referencia), impactador en cascada de May que recoge fracciones sobre portaobjetos.

El caudal de aspiración varía en el rango de 10 a 180 L/min.

Una vez tomada la muestra, y según sea la naturaleza de los agentes biológicos a determinar, la placa se incuba a la temperatura adecuada, produciéndose el crecimiento de dichos agentes

mediante la formación de una colonia en el punto de impacto. Posteriormente se procede al recuento de dichas colonias y al cálculo de su número referido a un volumen fijo de aire de 1m<sup>3</sup>, a partir de las colonias encontradas en el volumen de aire muestreado, expresándose los resultados habitualmente como ufc/m<sup>3</sup> (unidades formadoras de colonias en un metro cúbico de aire).

La identificación específica del agente biológico supone habitualmente que se proceda a su resiembra, en medio idóneo, y la posterior aplicación de reacciones de identificación o estudios por morfología directa o tinciones específicas.

Una vez identificado el agente biológico se comprobará su inclusión entre los listados en el Anexo II, o en su caso se procederá a su clasificación provisional en cualquiera de los cuatro grupos reflejados en función del riesgo de infección.

- **Centrifugación:** Estos muestreadores de impactación utilizan la fuerza centrífuga para ayudar a la separación de las partículas de la corriente de aire de aspiración. Operan creando un remolino en el cual las partículas con suficiente inercia dejan la corriente de aire para impactar sobre la superficie (medio de cultivo) de recogida. En el RCS Biotest se recoge el aire contra una tira de plástico que soporta una fina capa del medio agar en el cual impactan las partículas aerotransportadas. Opera a un flujo de 40 L/min.

Todos los métodos descritos hasta ahora sólo dan información de los agentes biológicos cultivables, es decir, con capacidad de reproducirse. En un entorno laboral se está potencialmente sujeto a la exposición a microorganismos (cultivables, viables, no viables, que pueden producir también riesgos tóxicos o alérgicos; formas de supervivencia, como esporas), sus componentes biológicamente activos o productos derivados de dichos microorganismos. Interesa por lo tanto la posibilidad de utilizar métodos de muestreo más generales que permitan obtener una información más amplia.

Entre estos métodos que permiten la medida de agentes biológicos totales destacan los de burbujeo o impinger y de filtración.

- **Burbujeo o impinger:** El aire a muestrear pasa a través de un volumen conocido de líquido (suero salino, agua de peptona con agentes humectantes, medios líquidos...). Las partículas abandonan la corriente de aire por impactación en el líquido, quedando retenidas en el mismo. Posteriormente, y en el medio de cultivo adecuado, se transfiere una alícuota del líquido de captación, procediéndose

dose a su cultivo, recuento y en su caso a su identificación (viables o cultivables) <sup>(1)</sup>.

A otra alícuota se adiciona naranja de acridina y se filtra, procediéndose al recuento total (viables y no viables) por microscopía de epifluorescencia directamente sobre el filtro <sup>(2)</sup>.

La mayoría de los muestreadores están contruidos en vidrio, con una cámara simple de colección; por ejemplo, el AGI-30 opera a 12.5L/min. y el Mini-impinger a 1L/min.

- **Filtración:** El aire es aspirado a través de un medio de filtración en el cual las partículas se depositan. Su flujo es función del tipo de filtro, su tamaño y de la bomba de aspiración, oscilando habitualmente entre 1-500L/min. El tipo de filtro más utilizado es el de membrana de policarbonato ya que las partículas pueden ser removidas fácilmente de su superficie por agitación en líquidos adecuados, procediéndose a la posterior inoculación de la suspensión formada en los medios de cultivos específicos<sup>2</sup>.

Un procedimiento similar es aplicable a la cuantificación e identificación de agentes biológicos presentes en muestras de polvo. Un peso conocido del mismo se extrae adecuadamente por agitación vigorosa con suero salino conteniendo 0.01% de Tween 80. Posteriormente se inocula un volumen conocido en medios de cultivos específicos, procediéndose a su posterior recuento, expresado como ufc/g, y, en su caso, identificación.

Todos los procedimientos descritos están en fase de desarrollo y armonización a través del Comité Europeo de Normalización. El CEN/TC 137 WG 5 está desarrollando métodos normalizados para la toma de muestras, que se han plasmado en la prEN 13098 que recoge las reglas para la medida de microorganismos y endotoxinas en aire.

## Muestreo de superficies

Además del muestreo aéreo, puede también determinarse el número de agentes biológicos depositados en una superficie. Este tipo de muestreo es utilizado fundamentalmente en estudios de higiene alimentaria, pero tiene otras aplicaciones como, por ejemplo, comprobar la eficacia de los productos de desinfección o evaluar la presencia de agentes biológicos en el interior de los conductos de aire de un sistema de ventilación-climatización, industria de la piel y cuero.

La toma de muestras se hace fundamentalmente mediante el empleo de torundas o por contacto directo de la superficie a muestrear con una placa RODAC preparada con el medio de cultivo adecuado y su posterior incubación e identificación, en su caso.

## b) Métodos que ponen de manifiesto la presencia de elementos celulares

Estos métodos dan cuenta de elementos celulares de microorganismos tanto viables como no viables o desintegrados, constituyentes de su estructura celular que pueden menoscabar la salud del personal expuesto.

Entre estos elementos celulares cabe destacar las endotoxinas, glucanos y ergosterol.

- **Endotoxinas:** Son polisacáridos termoestables de alto peso molecular (LPS), formados por un componente lipídico característico, lípido A, unido covalentemente a un polisacárido. Las endotoxinas son componentes integrales de la membrana exterior de las bacterias Gram-negativas. La presencia de endotoxinas se relaciona con la posibilidad de reacciones tóxicas, procesos inflamatorios muy intensos, fiebre, bronquitis, ... Desde el punto de vista de enfermedades relacionadas con el trabajo sólo las endotoxinas aerotransportadas son relevantes. Se producen en el manejo de material orgánico. Los materiales contaminados por bacterias y las heces de animales son las fuentes principales de polvo que contribuirá a la liberación de endotoxinas.

La agricultura y las industrias relacionadas proporcionan las fuentes de exposición profesional más habituales: granjas de cerdos, pollos, vacas y caballos; industrias del algodón; procesamiento de la patata, caña azucarera, cerveza; mataderos de aves; tratamiento de aguas residuales, basuras y compostaje; sistema de humidificación de aire de edificios y procesos industriales con reciclaje de agua; emulsiones formadas en los fluidos de corte en metalurgia, ...

El grupo CEN/TC/WG 5 está en fase de normalización del método analítico para la cuantificación de endotoxinas. Se basa en la activación que las endotoxinas producen en una enzima de la coagulación presente en el lisado del amebocito del cangrejo *Limulus polyphemus* (método LAL).

<sup>1</sup> Bergey's Manual of Determination Bacteriology. Baltimore: Williams and Wilkins, 1994

<sup>2</sup> Palmagren, U.; Ström, G.; Blomquist, G.; Collection of airborne micro-organism on Nucleopore filters, estimation and Analysis-CAMNEA Method. J. Appl. Bacteriol. 61, 401-406 (1986)

Dicha enzima se hace actuar sobre un sustrato coloreado, midiéndose espectrofotométricamente la liberación de los productos formados.

En la actualidad se admite un límite máximo de exposición profesional a endotoxinas de 200 ng/m<sup>3</sup>.

Se han desarrollado métodos químicos alternativos para la medida de endotoxinas, basados en la determinación de LPS por cromatografía en fase gaseosa-espectrometría de masas <sup>(3)</sup>.

Análogamente se ha descrito la posibilidad de determinar el ácido murámico como marcador químico de péptido-glicanos, presentes fundamentalmente en la pared celular de bacterias Gram-positivas <sup>(4)</sup>.

- **Glucanos [(1→3)β-D Glucano]:** Es otro biomarcador de la contaminación fúngica en aire. Es un componente de la pared celular de todos los hongos filamentosos y se le considera como la posible causa de enfermedades respiratorias, especialmente enfermedades crónicas relacionadas con la exposición a polvos orgánicos.

El método analítico implica la toma de muestras de aire sobre filtros de acetato de celulosa <sup>(5)</sup> y posterior análisis utilizando el método del LAL<sup>(6)</sup> (Lisado del Amebocito del Limulus)

- **Ergosterol:** Es utilizado como un marcador químico en aire de la contaminación por hongos, al ser uno de los componentes químicos fundamentales de la membrana de los principales hongos saprofitos. Su determinación se lleva a cabo por métodos cromatográficos, previa extracción de los filtros de policarbonato en donde se toman las muestras ambientales <sup>(7)</sup>.

### c) Métodos de cuantificación de metabolitos

Otra alternativa para la medida de agentes biológicos es la cuantificación de sustancias procedentes de los mismos. Esto puede ser aplicable cuando haya un método fiable de toma de muestra y análisis y cuando la concentración de analito sea proporcional a la carga microbiológica. Entre estas opciones de medida se pueden contemplar los metabolitos pri-

marios, como por ejemplo el análisis del Adenosin trifosfato (ATP) que puede servir de marcador para los microorganismos o su actividad vital, y metabolitos secundarios como, por ejemplo, las micotoxinas que pueden encontrarse en los bioaerosoles.

- **Análisis de ATP:** El análisis de los niveles de ATP en las muestras es rápido e indicativo del metabolismo de la actividad microbiana. Existe una relación entre los niveles de ATP y el número de agentes microbianos, por lo que este método <sup>(8)</sup> es a menudo utilizado junto con el muestreo de superficies en la investigación de todos los problemas de higiene relacionados con la industria alimentaria.

- **Micotoxinas:** Son metabolitos secundarios de bajo peso molecular de origen fúngico, producidos en condiciones especiales de crecimiento en cosechas almacenadas y alimentos. Algunas micotoxinas pueden causar efectos sistémicos en especial en el hígado y el sistema nervioso.

Entre las micotoxinas más importantes destacan:

- Aflatoxinas, producidas por *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*.
- Ocratoxina A, producida por *Penicillium verrucosum* y *Aspergillus alutaceus* (*A. ochraceus*).
- Tricotocenos y Fuminosinas, producidas por *Fusarium* spp.

Se ha demostrado que las aflatoxinas y otras micotoxinas, por ejemplo, el ácido D-secalónico, pueden aerotransportarse en elevadas concentraciones en determinadas tareas como en el procesamiento de cacahuetes, pistacho y maíz causando efectos tóxicos y carcinogénicos.

Los métodos analíticos para su determinación utilizan bien técnicas cromatográficas <sup>(9)</sup> o bien líneas celulares para ensayar su citotoxicidad <sup>(10)</sup>.

En las tablas adjuntas se propone un esquema para la elección de método de muestreo así como un estudio comparativo de características, ventajas e inconvenientes de los métodos de muestreo ambiental más comunes.

<sup>3</sup> Walters, M. Milton, D. Larsson, L.: Airborne environmental endotoxin: A Cross-validation of sampling and analysis techniques. *Appl. Environ. Microbiol.* 60:996-1005 (1994).

<sup>4</sup> Fox, A.; Wright, L.; Fox, K.: Gas Chromatography-tandem Mass spectrometry for trace detection of muramic acid, a peptidoglycan chemical marker, in organic dust; *J. Microbiol. Meth.* 22:11-26 (1995).

<sup>5</sup> Rylander, R.; Person, K.: Airborne P-1,3-glucano may be related to symptoms in sick building. *Ind. Environ.* 1:263-267 (1992).

<sup>6</sup> Tamura, H.; Arimoto, Y.; Tanaka, S.: Automated kinetic assay for endotoxin and (1→3)β-D Glucan. *Clin. Chim. Acta* 226:109-112 (1994).

<sup>7</sup> Young, J.C.: Microwave-assisted extraction of the fungal metabolites ergosterol. *J. Agric. Food. Chem.* 43:2904-2910 (1995)

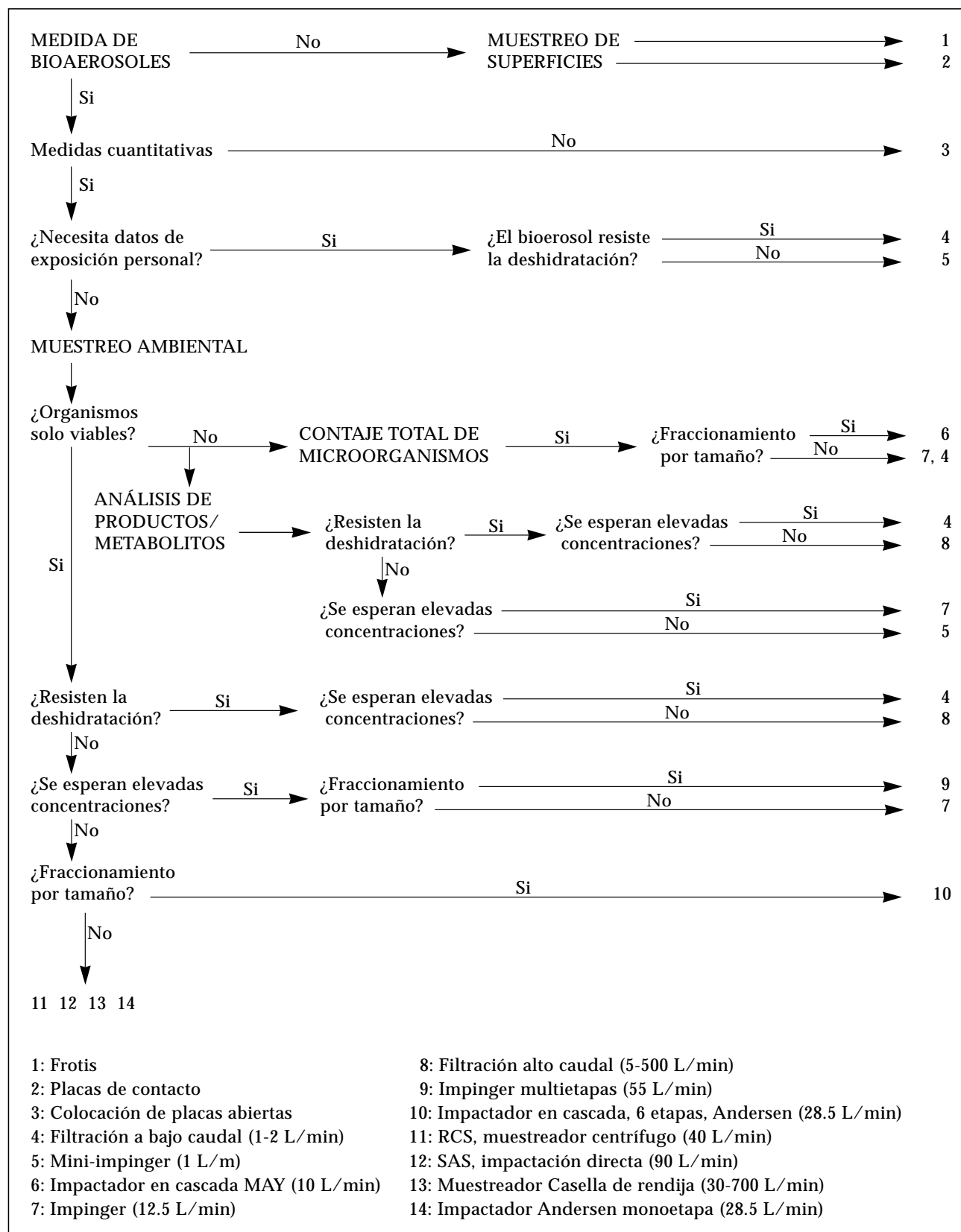
<sup>8</sup> Stanley, P. E.; McCarthy, B.J. and Smither, R. (Editores) *ATP Luminescence: Rapid Methods in Microbiology*. Blackwell Scientific Publications, London (1989).

<sup>9</sup> Miller, J.D.: Fungi and mycotoxin in grain: implication for stored products research. *J. Stored Products Research* 31:1-16 1995.

<sup>10</sup> Health Implication of fungi in indoor environments. Ed. RS Samson, B. Flannigan. Amsterdam: Elsevier 1994.



ESQUEMA PARA LA ELECCIÓN DEL MÉTODO DE MUESTREO



Algunos muestreadores se denominan por sus nombres comerciales sólo para ayudar a su identificación, sin que esto suponga su recomendación, o que no existan otros de análogas prestaciones.

## MUESTREO AMBIENTAL AGENTES BIOLÓGICOS

MÉTODO DE MUESTREO	PROCESO	VELOCIDAD Y TIEMPO DE MUESTREO (L/min)/min.	VENTAJAS	INCONVENIENTES
*IMPACTACIÓN SOBRE LÍQUIDO (AGI)	BURBUJEO DEL AIRE A TRAVÉS DE UN MEDIO LÍQUIDO	12,5/30	*ADECUADO PARA GRAN VARIEDAD DE MICROORGANISMOS *NO SATURACIÓN	*DISPERSIÓN DE ESPORAS *ESTERILIDAD *TRANSPORTE EN FRÍO
*IMPACTACIÓN SOBRE AGAR (ANDERSEN)	RECOGIDA DEL AIRE A TRAVÉS DE ORIFICIOS DE DIFERENTES TAMAÑOS EN PLACAS PETRI	28/1-5	*SEPARACIÓN POR TAMAÑO *PUEDE SER CALIBRADO *GRAN EFICIENCIA	*POCA MANEJABILIDAD *POCO ECONÓMICO
*IMPACTACIÓN EN AGAR (SAS)	RECOGIDA DEL AIRE A TRAVÉS DE ORIFICIOS EN PLACAS RODAC	90/0,5-3	*MANEJABILIDAD	*ESCASA EFICIENCIA
*IMPACTADOR CENTRÍFUGO (RCS)	RECOGIDA DEL AIRE EN TIRAS DE AGAR	40/0,5	_____	*EFICIENCIA DESCONOCIDA *NO CALIBRACIÓN *MEDIOS CULTIVOS LIMITADOS
*FILTRACIÓN EN MEMBRANA	RECOGIDA DEL AIRE EN FILTROS	1-2/15-60	MICROORGANISMOS TOTALES	*DESECACIÓN DE MICROORGANISMOS *PÉRDIDA DE VIABILIDAD
*SEDIMENTACIÓN EN PLACAS	PLACAS DE AGAR ABIERTAS COLOCADAS EN DIFERENTES LOCALIZACIONES	?	*FÁCIL DE UTILIZAR *ECONÓMICO	*DATOS NO COMPARABLES

## APÉNDICE 4: TRABAJADORAS EMBARAZADAS Y EN PERÍODO DE LACTANCIA

Las trabajadoras embarazadas o en período de lactancia, constituyen un grupo de riesgo especial frente a la acción de los agentes biológicos por el efecto directo que dichos agentes pueden ejercer sobre ellas o sobre el feto, por lo que esta circunstancia debe ser contemplada como un riesgo adicional por el empresario en su obligación de identificar y evaluar los mismos.

Se pueden contemplar al menos tres tipos de exposiciones específicas a agentes biológicos:

1. Trabajadoras con decisión consciente de manipular con agentes biológicos: microbiólogas identificando estos agentes, en control de procesos industriales de biotecnología, ...

2. Aquellas que, inevitable y conscientemente, están expuestas a agentes biológicos en su tarea diaria: enfermeras, etc.

3. Aquellas que tienen riesgo de contacto accidental: agentes de la ley con riesgo de infectarse a través de los fluidos corporales (hepatitis B, VIH), maestras de escuela (rubéola).

Para el estudio de la posible repercusión en la salud de la mujer trabajadora y el feto, los agentes biológicos pueden dividirse en dos grandes grupos:

- a) Rubivirus (virus de la rubéola) y *Toxoplasma gondii* (protozoo que originan la toxoplasmosis).
- b) Todo el resto de agentes biológicos, recogidos en el Anexo II.

La trabajadora embarazada no podrá verse obligada, en ningún caso, a realizar actividades que, de acuerdo con la evaluación, supongan el riesgo de una exposición a los agentes contemplados en el grupo a) anterior, salvo si existen pruebas de que dicha trabajadora está suficientemente protegida contra estos agentes por su estado de inmunización. Para determinar si la trabajadora es inmune o susceptible a la rubéola, la técnica de la inhibición de la hemoaglutinación es la habitualmente utilizada. Una adaptación de este test permite diferenciar entre anticuerpos IgG e IgM, e identificar infecciones recientes.

Frente a la rubéola se dispone de una vacuna eficaz, recomendándose la vacunación a las trabajadoras seronegativas, como maestras y personal sanitario de las áreas de pediatría, tocología,

transporte sanitario y en general a todo el personal femenino seronegativo en edad fértil.

El test de referencia serológico para la toxoplasmosis es la prueba de coloración de Sabin-Feldman, que es sensible y específico detectando anticuerpos IgG.

Hay otros agentes infecciosos, entre los recogidos en el Anexo II, que tienen un efecto más pronunciado y específico en la embarazada o en el feto. En la siguiente tabla se resumen alguna de estas especies y sus efectos más importantes:

AGENTES BIOLÓGICOS	EFFECTOS
<i>Campylobacter fetus</i>	Neumonía, bacteriemia, mortinato
<i>Treponema pallidum</i>	Sífilis congénita
Cytomegalovirus	Bajo peso fetal, sordera, mortinato
Herpes simplex virus	Ictericia, microcefalia
<i>Coccidioides immitis</i>	Coccidioidosis diseminada en la madre, nacimientos prematuros y mortinato

En definitiva y para guía en la investigación de la exposición, se pueden distinguir dos tipos de situaciones:

a) La exposición es predecible y controlada: el patógeno es conocido y pueden tomarse unas adecuadas medidas de contención y prevención, es el caso, v.gr., de los laboratorios de investigación en microbiología. Es posible en este caso evaluar si las condiciones de trabajo son o no adecuadas para la embarazada, teniendo en cuenta que ciertas medidas de prevención pueden ser incómodas o estresantes para ella.

b) Existe la posibilidad de exposición a agentes biológicos, pero dicha exposición es difícil de prever y/o el patógeno no esté identificado. Si ocurriera una exposición en una trabajadora embarazada, la evaluación, caso por caso, incluirá la determinación del estatus inmunológico (si ello es posible). Si la investigación concluye que la trabajadora embarazada no está inmunizada frente al posible patógeno(s) y que éste pertenece al grupo 2 de la clasificación de agentes biológicos, frente al que las medidas terapéuticas a tomar pueden tener un efecto fetotóxico, o que los patógenos pertenecen a los grupos 3 o 4, entonces la exposición no será permitida.

Respecto a los problemas relacionados con las trabajadoras en el período de lactancia, es frecuente la presentación de mastitis; no se ha encontrado una relación directa entre factores ambientales y mastitis lo que no excluye que se deban extremar las medidas higiénicas generales y específicas con fines preventivos.

Así, si la actividad laboral implica el contacto directo con materiales infecciosos (hospitales, laboratorios de microbiología, manejo de animales infectados,...), se debe tener un gran cuidado para evitar la contaminación de la piel y la ropa de la madre, tanto para prevenir la mastitis como las infecciones del recién nacido.

## APÉNDICE 5: RECOGIDA, MANIPULACIÓN Y TRANSPORTE DE CONTAMINANTES BIOLÓGICOS

### Recogida de las muestras

Los principales riesgos para el personal que toma muestras de sangre son la contaminación de las manos durante la extracción y los pinchazos y cortes provocados por las agujas y otros objetos afilados.

Algunas normas prácticas y procedimientos para reducir al mínimo esos accidentes son:

- Evitar que en las manos haya cortes, abrasiones u otras lesiones cutáneas que permitan una mejor penetración de agentes biológicos. En este caso es obligatorio el uso de guantes.

- Utilizar una buena técnica y un buen material para evitar la contaminación de las manos.

- Lavarse las manos con agua y jabón inmediatamente después de cualquier accidente de contaminación con sangre y una vez terminado el trabajo, incluso si se han utilizado guantes.

- Utilizar la ropa adecuada. Una mancha de sangre resalta inmediatamente sobre una prenda blanca o verde.

- No reencapuchar las agujas ni desacoplarlas de la jeringa. Colocar ambas en un recipiente de plástico rígido imperforable.

- Sellar bien los recipientes de muestras. Si están manchados de sangre, limpiarlos con un desinfectante como, por ejemplo, solución de hipoclorito con 0,1% de cloro libre (1 g/L, 1000 ppm), o productos detergentes desinfectantes como Virkon®.

- Si se produce un pinchazo o un corte, lavarse la herida concienzudamente con agua y jabón. Favorecer la hemorragia.

- Toda contaminación de las manos u otra parte del cuerpo con sangre y todo pinchazo o corte se comunicarán al responsable de seguridad e higiene y al servicio médico (Art. 12.4).

- En las unidades de infecciosos, VHB o VIH positivos es conveniente utilizar agujas de seguridad.

- En trabajos de investigación en los que se emplee material de vidrio es preferible utilizar jeringas con ajuste de bayoneta para evitar que la aguja se separe de la jeringa o utilizar una jeringa con aguja incorporada.

Otras técnicas correctas en el laboratorio son:

- Llenar cuidadosamente la jeringa para evitar la formación de burbujas y espuma en el material que se va a inyectar.

- Evitar, si es posible, el empleo de jeringas para mezclar líquidos infecciosos.

- Si se extraen líquidos de viales a presión diferente de la atmosférica, envolver la aguja y el tapón del recipiente con un algodón empapado en un desinfectante apropiado antes de retirar la aguja del tapón de caucho del frasco.

- Expulsar el exceso de líquido y las burbujas de la jeringa, manteniéndola verticalmente en un algodón empapado en un desinfectante apropiado o en un frasquito lleno de algodón de rama estéril.

- Utilizar, si la peligrosidad lo indica, la cabina de seguridad biológica.

- Sujetar adecuadamente a los animales.

### Material de bioseguridad:

#### 1. Guantes:

Los guantes reducen el riesgo de contaminación de las manos con sangre, pero no evitan los pinchazos o cortes causados por agujas, otros instrumentos afilados o vidrio o plástico roto. Es importante recordar que el empleo de guantes tiene por objeto complementar, y no sustituir, una buena técnica de trabajo y unas prácticas apropiadas de control de infecciones, en particular el lavado correcto de las manos.

En relación con el uso de los guantes, se han de adoptar las siguientes precauciones generales:

- Proveerse de guantes para toda manipulación de material potencialmente peligroso.

- Desechar los guantes siempre que se piense que se han contaminado. Utilizar un par nuevo.

- Con las manos enguantadas no hay que tocarse los ojos, la nariz, las mucosas o la piel.

- No abandonar el lugar de trabajo, ni pasearse por el laboratorio con los guantes puestos.

- Lavarse las manos después de quitarse los guantes.

#### 2. Agujas:

Si se emplean sistemas tradicionales de jeringa y aguja, estos deben ser desechables y una vez utilizadas se eliminarán las dos sin separar, en un contenedor adecuado. No reencapuchar nunca la aguja. Al separar la aguja aumenta el riesgo de contaminación ya que la sangre residual que que-

daba en ésta puede salirse por gravedad y además el cono de la aguja y la punta de la jeringa pueden estar contaminadas, por la sangre o cualquier otro fluido biológico.

En el caso de utilizar agujas de sistemas de vacío, es fundamental su eliminación en un contenedor sin tocar la aguja ni reencapucharla. Especial cuidado se ha de tener con los sistemas de mariposa debido a la sangre que queda en la extensión de plástico.

En el caso de agujas de seguridad la única precaución es no tocar el extremo de la aguja en contacto con la jeringa en caso de utilizar sistemas de extracción convencionales.

### 3. Tubos:

La extracción de muestras mediante un sistema tradicional de aguja-jeringa y su posterior trasvase a los diferentes viales analíticos debe ser restringida.

Un sistema moderno de tratamiento de las muestras analíticas debería utilizar un sistema de tubos al vacío para mayor seguridad y comodidad tanto del profesional que realiza la extracción como de los que luego van a procesar la muestra.

### Transporte:

El transporte de muestras biológicas es un tema en el que se ha de tener especial cuidado ya que es un riesgo potencial de contaminación para el trabajador sanitario o postal que lleva la muestra, al público en general y al receptor de la misma.

Hay una serie de medidas básicas aceptadas internacionalmente y unas normas de sentido común que se deben respetar cuando la muestra biológica viaja desde un lugar en el que se genera hasta el lugar en el que se analiza, independientemente de que sea a nivel del propio edificio o sea de una parte a otra del mundo.

Se distinguen tres situaciones que merecen una especial atención: El transporte de la muestra dentro del propio hospital o de un punto de extracción periférico a un laboratorio de diagnóstico centralizado, la recepción y apertura del recipiente con muestras biológicas y el transporte de éstas como es el envío por correo.

### 1. Transporte interno:

Un sistema de transporte interno debe valorar desde el momento en que la muestra es extraída hasta que llega al laboratorio. Los tubos proceden-

tes de la extracción deben depositarse en gradillas preferiblemente de seguridad y no sueltos en una batea. En el cuarto de control se colocarán en una gradilla de seguridad que sea suficiente para todos ellos, situando dicha gradilla dentro de un contenedor de transporte que pueda retener fugas o derrames y asegure una protección adicional. El contenedor debe tener un asa que permita el transporte de las muestras biológicas a poca distancia del suelo. Preferiblemente se debe seleccionar la ruta de transporte que evite el contacto con el público, utilizando los ascensores y pasillos para uso médico.

En el caso de transporte por carretera desde los puntos de extracción periféricos al de tratamiento y análisis, se debe añadir que el contenedor obligatoriamente debe ser hermético de forma que impida toda fuga o derrame. Además, una vez cerrado y sellado el recipiente, debe limpiarse con desinfectante y secarse. El conductor del vehículo deberá ser consciente del material que transporta y será instruido sobre lo que ha de hacer en caso de accidente o derrame del contenido de los recipientes.

El contenedor irá identificado con la señal de peligro biológico o una etiqueta similar: Peligro de infección o muestra biológica.

### 2. Recepción y apertura:

Los puntos de recepción deben estar perfectamente identificados para el personal que transporta las muestras y serán el único punto donde se puedan entregar. De la misma manera es conveniente que el personal del servicio de recepción sepa con antelación la procedencia y el número de muestras que va a recibir, lo que asegura la posibilidad de evitar muestras perdidas o en paradero desconocido.

Si el punto de recepción es un laboratorio, se debe establecer un sistema de ventanilla que evite el acceso al interior del laboratorio.

La persona a cargo de la recepción debe estar entrenada en el sentido de que si existen dudas sobre lo que va dentro del contenedor en cuanto a su integridad, sea introducido dentro de una bolsa de plástico que proteja hasta la descontaminación o apertura en cabina de seguridad biológica.

Este riesgo se hace más patente en aquellas muestras que han sufrido transporte y con las que se ha de ser especialmente cuidadoso, teniendo siempre la precaución de desinfectar externamente el contenedor, previamente a su apertura.

### 3. Envíos por correo:

La manipulación, transporte y envío de muestras y agentes infecciosos entre laboratorios o instituciones utilizando el servicio a terceros está regulado por una serie de organismos para evitar o reducir el riesgo de exposición al público, personal de las líneas aéreas y marítimas, de la administración postal y de empresas de mensajería.

El envío se hará siguiendo las exigencias recogidas por el Artículo 21 del Convenio Postal Universal (BOE nº 303 de 27 de diciembre de 1966), así como las recomendaciones de la OMS.

Los embalajes destinados a las sustancias infecciosas y las muestras de diagnóstico constan de tres capas (según Figura 1):

1ª) Un recipiente primario estanco en el que se coloca la muestra [(a)]. Será de vidrio o de plástico de buena calidad. Debe permitir un cierre hermético que impida fugas. Los tapones de rosca (preferiblemente) o de corcho se sujetarán con alambre, cinta adhesiva u otro material seguro. El recipiente primario se envolverá en material absorbente (toallas de papel, algodón hidrófilo o guata de celulosa) en cantidad suficiente para absorber todo el líquido en caso de derrame [(c)].

2ª) Un recipiente secundario que ha de ser resistente y estanco [(b)]. En él se pueden poner varias muestras en sus recipientes primario. Se utilizará material de relleno para evitar daños por choques.

3ª) Una envoltura exterior para proteger el recipiente secundario de las influencias exteriores durante el transporte y de una posible manipulación. Será de un material lo suficientemente sólido como para que asegure la protección. A él irán adheridas las señas del destinatario y del remitente así como los adhesivos que exija el transportista sobre su contenido: etiqueta de sustancia infecciosa o de sustancias biológicas percederas [(d)].

En la parte exterior de este recipiente irá adherido un ejemplar del formulario de datos relativo a la muestra, así como cartas y demás material informativo que permitan identificarla o describirla. Los otros dos ejemplares son para el laboratorio receptor que lo recibirá con suficiente antelación por correo aéreo y para el expedidor. Esto permite que el receptor identifique adecuadamente la muestra, esté prevenido sobre su llegada y pueda tomar las disposiciones oportunas para que manipulación y examen se hagan en condiciones de seguridad.

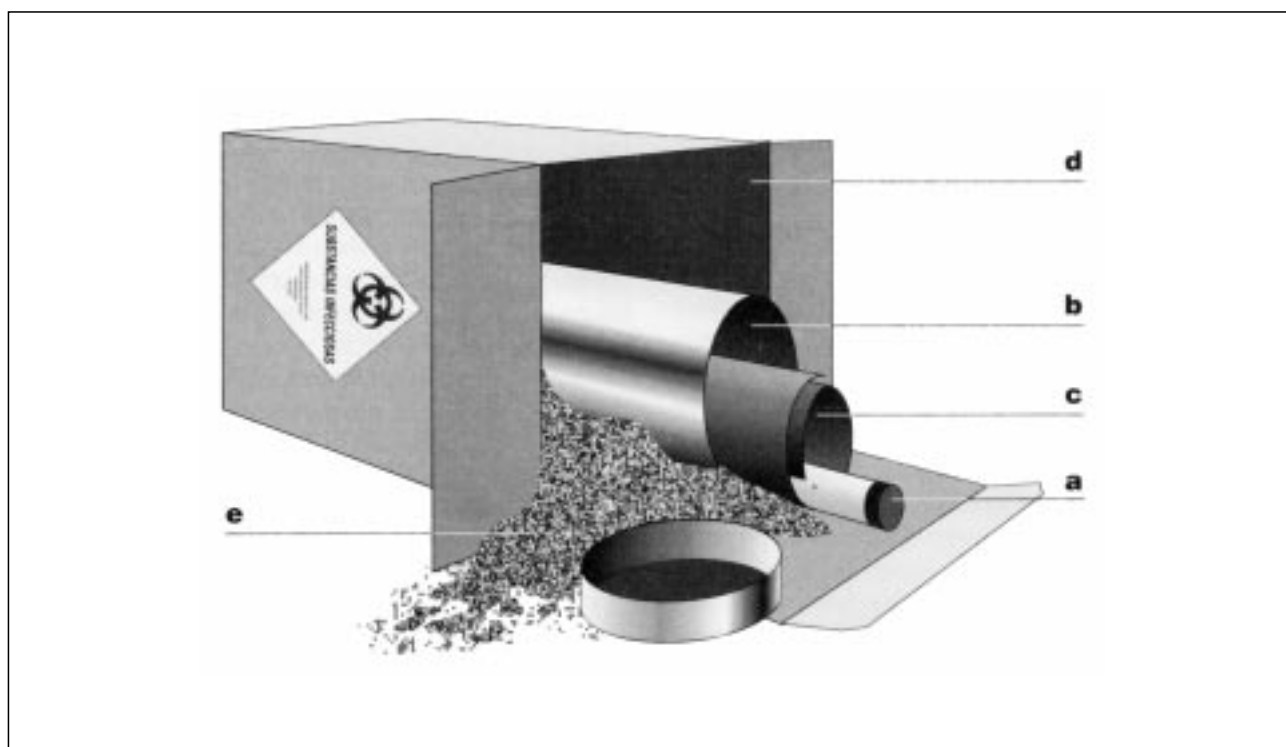


Figura 1 - Embalaje de material biológico peligroso.



## APÉNDICE 6: NOTIFICACIÓN DE PRIMER USO

La notificación será necesaria cuando la actividad se encuentre englobada entre las de intención deliberada de manipular o utilizar en el trabajo los agentes biológicos.

Clasificados los agentes, la notificación se hará referida al grupo al que el agente esté asignado, según el Anexo II. Es decir, se hará una notificación de grupo.

Cuando se trabaje con un nuevo agente y su clasificación lo encuadre dentro de alguno de los grupos ya notificados, no es necesario proceder a una nueva notificación. La excepción a lo anterior lo constituiría si el nuevo agente aparece listado en el grupo 4 o si, al no estar listado, el empresario lo asimila provisionalmente al grupo 3 (Art. 4, 3a), lo que supondrá la renotificación a la autoridad laboral.

Un laboratorio químico no necesitará notificar, aunque los ensayos y análisis que realice se lleven a cabo sobre muestras que con frecuencia contendrán algún agente infeccioso. Otros tipos de trabajo de diagnóstico y de investigación, por ejem-

plo en hematología, inmunología o química clínica, quedan asimismo excluidos del requerimiento de notificación al no haber intención de cultivar, almacenar o propagar los agentes biológicos, excepto si el material utilizado contiene o puede probablemente contener agentes del grupo 4.

Tampoco habrá necesidad de comunicar el trabajo realizado en las Unidades clínicas a pacientes infectados o el manejo de animales.

En la mayoría de los casos, por tanto, "primer uso" se aplicará fundamentalmente a las actividades realizadas en laboratorios de microbiología, virología, micología, parasitología, cultivos celulares y con organismos modificados genéticamente, trabajos con animales deliberadamente infectados y en las industrias donde cualquier agente de los grupos 2, 3 y 4 puedan ser utilizados.

En el caso especial de los laboratorios de diagnóstico que ya hayan notificado su intención de manipular algún agente biológico del grupo 4 no será necesario la renotificación al trabajar con un nuevo agente de este grupo.

## APÉNDICE 7: PLAN DE EMERGENCIA FRENTE A EXPOSICIONES A AGENTES BIOLÓGICOS

Se presenta un plan de emergencia tipo que ha de adaptarse según las circunstancias. Se deben prever procedimientos operativos que contemplan:

- Evaluación de riesgos biológicos.
- Medidas aplicables en caso de exposición accidental y descontaminación.
- Tratamiento médico de emergencia para las personas expuestas y lesionadas.
- Vigilancia médica de las personas expuestas.
- Identificación precisa de agentes biológicos ya sean tóxicos o infecciosos.
- Localización de zonas de riesgo elevado.
- Identificación del personal con riesgo.
- Identificación de recursos humanos y de sus responsabilidades: inspector de bioseguridad, personal de seguridad, servicios locales de salud, médicos, microbiólogos, veterinarios, epidemiólogos, servicio de bomberos y policía. Como inspector de bioseguridad se entiende al técnico de pre-

vención que conoce a fondo el tema de la bioseguridad. Puede realizar estas funciones el propio técnico de prevención de la empresa, cuando tenga conocimientos y formación específica para ello, o bien una persona distinta especialista en el tema. En este último caso deberá desarrollar su labor en estrecha colaboración con el técnico de prevención de la empresa, siempre dentro del marco del Servicio de Prevención.

- Lista de las instalaciones donde puedan recibir asistencia las personas expuestas.
- Transporte de personas expuestas.
- Lista de depositarios de suero inmune, vacunas, medicamentos necesarios, material y suministros especiales.
- Provisión y ubicación del material de emergencia: ropa de protección, desinfectantes, equipos de desinfección, ...
- El plan de actuación debe estar junto al protocolo científico de trabajo y ser conocido con realización, en su caso, de ejercicios de ensayo.

## APÉNDICE 8: PRECAUCIONES UNIVERSALES

Las denominadas “precauciones universales” constituyen la estrategia fundamental para la prevención del riesgo laboral para todos los microorganismos vehiculizados por la sangre.

Su principio básico es que la sangre y otros fluidos corporales deben considerarse potencialmente infecciosos.

Debe aceptarse que no existen pacientes de riesgo sino maniobras o procedimientos de riesgo, por lo que se han de adoptar precauciones utilizando las barreras protectoras adecuadas en todas las maniobras o procedimientos en los que exista la posibilidad de contacto con la sangre y/o fluidos corporales a través de la piel o las mucosas.

Es de especial importancia que:

- todo el personal esté informado de dichas precauciones,
- todo el personal conozca las razones por las que debe proceder de la manera indicada y
- se promueva el conocimiento y la utilización adecuados.

Se pueden distinguir las siguientes precauciones universales:

- a) Vacunación (inmunización activa).
- b) Normas de higiene personal.
- c) Elementos de protección de barrera.
- d) Cuidado con los objetos cortantes.
- e) Esterilización y desinfección correcta de instrumentales y superficies.

### 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.

Deberá vacunarse todo el personal que desarrolle su labor en ambientes que tengan contacto, tanto directo como indirecto, con la sangre u otros fluidos biológicos de otras personas infectadas (por ejemplo, la vacuna contra la Hepatitis B para el personal que desarrolle su labor en ambiente

hospitalario y que tenga contacto directo o indirecto con la sangre u otros fluidos de los pacientes).

### 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.
- Cuando existan lesiones que no se puedan cubrir, deberá evitarse el cuidado directo de los pacientes.
- 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 infeccioso. 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 la sangre o los fluidos corporales de los pacientes.

Dicho contacto puede producirse tanto de forma directa como durante la manipulación de instrumental o de materiales extraídos para fines diagnósticos como es el caso de la realización de procesos invasivos.

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

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

#### 1. Guantes:

El uso de guantes será obligatorio:

- Cuando el trabajador sanitario presente heridas no cicatrizadas o lesiones dérmicas exudativas o rezumantes, cortes, lesiones cutáneas, etc.

- Si maneja sangre, fluidos corporales contaminados con sangre, tejidos, etc.
- Al entrar en contacto con la piel no intacta o mucosas.
- Al manejar objetos, materiales o superficies contaminados con sangre,...
- Al realizar procesos invasivos.

## 2. Mascarillas y protección ocular:

- Se emplearán en aquellos casos en los que, por la índole del procedimiento a realizar, se prevea la producción de salpicaduras de sangre u otros fluidos corporales que afecten las mucosas de ojos, boca o nariz.

## 3. Batas:

- Las batas deberían utilizarse en las situaciones en las que pueda darse un contacto con la sangre u otros fluidos orgánicos, que puedan afectar las propias vestimentas del trabajador.

### 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.
- No encapsular agujas ni objetos cortantes ni punzantes ni someterlas a ninguna manipulación.
- 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.
- El personal sanitario que manipule objetos cortantes se responsabilizará de su eliminación.

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

#### Desinfección:

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) Las especies y el número de gérmenes 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 (RD 1078/1993, RD 363/1995 y RD 1893/1996), 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 microorganismos manipulados, se redactarán las instrucciones de desinfección en las que consten los desinfectantes y las diluciones a las que se deban emplear.

Hay que tener en cuenta que las fórmulas de los productos desinfectantes comerciales presentan grandes diferencias, por lo que es esencial seguir las indicaciones del fabricante.

En la tabla adjunta se presenta un listado de productos químicos empleados habitualmente como desinfectantes:

**BIOCIDAS - CARACTERÍSTICAS**

TIPO	CONC. UTILIZADAS	ACCIÓN	MECANISMO	VENTAJAS	INCONVENIENTES	EFFECTOS SOBRE HUMANOS
ALCOHOLES (etanol, isopropanol)	60-90%	B,F,V	DESNATURALIZACIÓN PROTEÍNAS	NO MANCHA NI IRRITA	INACTIVADO POR MATERIA ORGÁNICA; INFLAMABLE	... —
COMPUESTOS DE AMONIO CUATERNARIO	0,4-1,6%	B*,F,V*	INCREMENTOS PERMEABILIDAD CELULAR	BARATO	NO BACTERIAS GRAM (-); PUEDE ACTUAR COMO FUENTE DE N; INACTIVACIÓN MATERIA ORGÁNICA	IRRITANTE; TÓXICO
COMPUESTOS FENÓLICOS	0,4-0,5%	B,F,V,(T)	DESNATURALIZACIÓN PROTEÍNAS	BARATO	TÓXICO; CORROSIVO; PERMISO RESIDUOS	IRRITANTE TÓXICO; CORROSIVO
IODÓFOROS	75 ppm	B,F,V,T	IODACIÓN Y OXIDACIÓN DE PROTEÍNAS	ESTABLE; ACCIÓN RESIDUAL	CARO; INACTIVADOS POR MATERIA ORGÁNICA	IRRITANTE DE PIEL Y MUCOSAS
GLUTARAL-DEHIDO	2,0%	B,F,V,T,E	ENTRECruzAMIENTO DE PROTEÍNAS	NO CORROSIVO; INAFECTADO POR OTROS COMPUESTOS	VAPORES IRRITANTES; TÓXICO	TÓXICO; IRRITANTE
HIPOCLORITO	500 ppm (Cloro libre)	B,F,V,T	INACTIVACIÓN ENZIMÁTICA	BARATO	TÓXICO; CORROSIVO; INACTIVADO POR MATERIA ORGÁNICA	TÓXICO; CORROSIVO
PERÓXIDO DE HIDRÓGENO	3,0%	B,F,V,T,E	RADICALES LIBRES	ESTABLE	CORROSIVO; CARO	...

NOTAS: F: Fungicida; B: Bactericida; V: Virucida; T: Tuberculocida; E: Esporicida; \*: Efectividad limitada; ( ): No todas las formulaciones

**Esterilización:**

Con la esterilización se produce la destrucción de todos los gérmenes, 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:

**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.

Si no se dispone de autoclave, para instrumental de pequeño volumen, cabe recurrir a ebullición del agua, preferentemente conteniendo bicarbonato sódico, durante 30 minutos, o bien al empleo de una olla a presión al nivel máximo de presión de trabajo.

**Esterilización por calor seco:**

Debe mantenerse por dos horas a partir del momento en que el material ha llegado a los 170°C.

**Radiaciones ionizantes:**

Basan sus efectos en la capacidad de destrucción celular. Debido a su poder de penetración, la radiación  $\gamma$  es la empleada en la esterilización del material sanitario, sobre todo en el ámbito industrial.

La instalación de esterilización por rayos  $\gamma$  ha de cumplir unos requisitos especiales como instalación radiactiva, lo que limita totalmente su aplica-

ción en los laboratorios, a menos que estén dentro de una institución (por ejemplo, un hospital) que disponga de una instalación adecuada para ello.

**Esterilización con vapores químicos:**

Los agentes gaseosos, tales como el formaldehído o el óxido de etileno, tienen una actividad bactericida y esporicida en el intervalo de 30-80°C.

La esterilización, en este caso, se lleva a cabo en esterilizadores diseñados específicamente, que también se llaman autoclaves, y que permiten obtener las condiciones de presión, de temperatura y de humedad adecuadas. Funcionan de manera automática, por ciclos, e incluyen la evacuación de los fluidos.

**Esterilización por óxido de etileno:**

Este tipo de esterilización sólo debe aplicarse a aquel material que no pueda ser esterilizado al

vapor y debe llevarse a cabo por personal cualificado, informado de los riesgos que presenta su utilización, disponiendo de un protocolo de actuación bien establecido y, cuando el caso lo requiera, de los equipos de protección individual adecuados.

Los autoclaves de óxido de etileno deben ser de estanqueidad contrastada, a ser posible de doble puerta con extracción por encima de la de descarga y con aireación incorporada. Deben ubicarse en áreas aisladas, bien ventiladas y mantenidas a depresión con las adyacentes, procediéndose a un control ambiental periódico de la presencia en aire del compuesto.

Actualmente se están desarrollando sistemas denominados "de Plasma de baja temperatura" basados en el empleo de peróxido de hidrógeno y radiofrecuencias, como alternativa al empleo de óxido de etileno y formaldehído, considerados como compuestos peligrosos para la salud.

## APÉNDICE 9: APLICACIÓN DE BIOCIDAS

Dado que el control de plagas es un procedimiento importante en la reducción de riesgos por exposición a agentes biológicos, y que una inadecuada aplicación de las técnicas específicas para dicho control puede dar lugar a la aparición de serios problemas de salud de los trabajadores y ocupantes de los lugares tratados, es necesario el seguimiento de recomendaciones estrictas sobre dichos tratamientos:

- En relación con los usuarios que contraten los servicios de aplicadores de tratamientos de desinsectación/desinfección y desratización, habrán de tener en cuenta:

- Como criterio general, utilizar, si es posible, métodos físicos, mecánicos o biológicos antes que métodos químicos.

- Controlar que los tratamientos químicos se hagan con productos de la menor toxicidad posible. Está desaconsejado el tratamiento con mezclas de productos químicos, con principios activos diferentes.

- En cualquier caso los biocidas han de estar autorizados, y por tanto disponer de un número en el Registro de Plaguicidas, por la Dirección General de Salud Pública.

- Se evitará que se apliquen los biocidas en presencia de personas, respetando siempre los plazos de seguridad de los productos utilizados.

- Se comunicará, por escrito, al personal los lugares a tratar, horario de inicio y finalización de la aplicación. Se deben controlar dichos lugares, de manera que no pueda entrar nadie (especial atención al personal de limpieza y de mantenimiento). Se deben seguir las instrucciones del responsable de la aplicación a la hora de volver a entrar en los lugares tratados (ventilación previa, etc.).

- Llevar un registro numerado de los diversos tratamientos realizados en cada centro.

- En relación con la empresa aplicadora:

- Debe tener número de inscripción en el Registro de Empresas y Servicios Plaguicidas del Ministerio de Sanidad o Departamento de Sanidad de la Comunidad Autónoma.

- Debe disponer, por escrito, de un protocolo de trabajo que especifique tanto los riesgos que implica el uso de cada producto, como las medi-

das de prevención a seguir (plazos de seguridad, EPI, condiciones de aplicación, tratamiento en caso de intoxicación y antídotos, etc.).

- Garantizará la capacitación de su personal.

- Informará, por escrito, a los usuarios del lugar tratado, de las normas específicas a adoptar, en su caso, para la reocupación de dicho lugar.

Un caso particular lo constituiría la desinfección, en los laboratorios y animalarios, de las cabinas de bioseguridad por aplicación ambiental de desinfectantes (fumigación), como por ejemplo cuando se haya producido un vertido de material infeccioso o cuando el mantenimiento de dichos equipos e instalaciones lo requiera.

Esta fumigación ha de realizarse según un plan establecido, lo que implica la utilización de un método efectivo, con controles apropiados e información necesaria al personal afectado.

El fumigante más utilizado es el vapor de formaldehído, que actúa como un eficaz biocida. Hay diversos procedimientos para generar formaldehído, si bien el más común es por calentamiento controlado de la formalina. Las cabinas de seguridad biológica deben fumigarse siempre que se produzca el vertido de material infeccioso en ellas, antes del cambio de filtro o cuando se realicen trabajos de mantenimiento en las mismas. El fumigante se genera con la puerta cerrada y el extractor apagado para que se produzca la difusión pasiva del fumigante a través del filtro. Como alternativa se dejará en funcionamiento 15 segundos para asegurar la penetración en el filtro. Después de como mínimo 6 horas, o mejor toda la noche, se pone en funcionamiento el extractor permitiendo que el aire de la habitación entre en la cabina, ventilando de manera que nadie esté en las proximidades de la descarga exterior del aire.

Otra precaución a tomar, cuando se aplica formaldehído, es retirar todos los recipientes que contengan ácido clorhídrico así como otros desinfectantes y disolventes clorados, por la posibilidad de formación de compuestos carcinógenos volátiles.

Cuando lo que se fumiga es un laboratorio o animalario se debe examinar el área para comprobar que se ha cerrado adecuadamente y evitar la propagación del fumigante a otras partes del edificio. Los falsos techos presentan una especial dificultad cuando están conectados con otras salas cercanas.



El personal no deberá entrar en el área cuando el fumigante ha sido generado, excepto en el caso de emergencia extrema y utilizando equipos respiratorios que proporcionen aire de una fuente exterior.

La efectividad de la fumigación puede llevarse a cabo con discos de papel impregnados en una suspensión de *Bacillus subtilis*, colocados en varios puntos de la habitación, comprobándose la penetración del fumigante.

## APÉNDICE 10: MEDIDAS DE PROTECCIÓN SUPLEMENTARIAS PARA AGENTES DEL GRUPO 2

El trabajo con agentes biológicos del grupo 2 requiere que se manejen en laboratorios o instalaciones de, como mínimo, nivel de contención 2. En este sentido el trabajo con estos agentes se podría realizar directamente sobre el banco de pruebas o mesa de trabajo, teniendo cuidado de reducir al máximo la producción de aerosoles, recomendándose, para operaciones en que esta producción sea probable (agitación vigorosa, disrupciones con ultrasonidos,...), cabinas de bioseguridad o equipos similares.

Sin embargo, hay patógenos de este grupo que han sido la causa de serias infecciones como consecuencia de operaciones en apariencias tan simples como realizar suspensiones de serotipos o

simplemente abrir una centrífuga. Se sabe además que algunos agentes de este tipo son infectivos a través de mucosas aparentemente intactas o por contacto con la piel y con dosis infectivas bajas, por lo que parecen justificadas unas medidas de control adicionales a aquellas que generalmente se aplican para la mayoría de los agentes del grupo 2.

En el listado adjunto se recogen algunos agentes para los que sería recomendable un nivel de contención superior, y para los cuales los guantes deberían utilizarse necesariamente (notación "G") así como cabinas de bioseguridad, mínimo clase II, (notación "C") en cualquier tarea que pueda suponer formación de aerosoles.

### AGENTES BIOLÓGICOS, DEL GRUPO 2, QUE NECESITAN PROTECCIÓN SUPLEMENTARIA

AGENTE BIOLÓGICO	NOTAS
<i>Ancylostoma duodenale</i>	G
<i>Borrelia burgdorferi</i>	G
<i>Borrelia duttonii</i>	G
<i>Borrelia recurrentis</i>	G
<i>Chlamydia trachomatis</i>	C
<i>Clostridium botulinum</i>	C
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	G
<i>Cryptococcus neoformans</i>	C
<i>Legionella pneumophila</i>	C
<i>Leptospira interrogans</i> var. <i>Icterohaemorrhagiae</i> , <i>canicola</i> , <i>hebdomadis</i>	G
<i>Necator americanus</i>	G
<i>Neisseria meningitidis</i>	C
<b>Poxviridae:</b>	
- Buffalopox virus	G
- Cowpox virus	G
- Virus del nódulo de los ordeñadores	G
- <i>Molluscum contagiosum</i> virus	G
<i>Schistosoma haematobium</i>	G
<i>Schistosoma intercalatum</i>	G
<i>Schistosoma japonicum</i>	G
<i>Schistosoma mansoni</i>	G
<i>Schistosoma mekongi</i>	G
<i>Schistosoma</i> spp.	G
<i>Sporothrix schenckii</i>	G
<i>Streptobacillus moniliformis</i>	G
<i>Treponema carateum</i>	G
<i>Treponema pallidum</i>	G
<i>Treponema pertenuis</i>	G
<i>Treponema</i> spp.	G

## APÉNDICE 11: REQUERIMIENTOS DE LOS LABORATORIOS SEGÚN SU NIVEL DE CONTENCIÓN

Los laboratorios se clasifican en cuatro niveles de seguridad biológica que se estructuran siguiendo una combinación tanto de técnicas de laboratorio como de equipos de seguridad e instalaciones.

### Laboratorios de nivel de contención 1

No está directamente reflejado en el RD 664/1997 ya que el trabajo que se lleva a cabo en él no supone riesgo significativo de enfermedad para un trabajador sano. No obstante, las recomendaciones serían:

#### Prácticas de laboratorio

- El acceso al laboratorio estará limitado, a juicio del responsable del mismo, cuando los experimentos se hallen en marcha.
- Las superficies donde se trabaja deberían ser descontaminadas una vez al día y después del derramamiento de cualquier material infeccioso.
  - Está prohibido pipetear con la boca.
  - No está permitido comer, beber, fumar 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.

#### Prácticas especiales

- Los materiales contaminados se irán depositando en contenedores apropiados, que se podrán cerrar para su traslado.
- Debería existir un programa de desinsectación y desratización.

#### Equipo de seguridad

- Normalmente no es necesario.

#### Instalaciones

- El laboratorio estará diseñado de manera que su limpieza resulte cómoda y accesible.

- Las mesas serán impermeables y resistentes a ácidos, álcalis, disolventes orgánicos y al calor moderado.

- El mobiliario será robusto. Entre mesas, estanterías, armarios, cabinas y otros equipos deberá existir espacio suficiente para permitir la fácil limpieza del laboratorio.

- El laboratorio estará provisto de un lavabo donde lavarse las manos.

- Si el laboratorio dispusiera de ventanas que se pudieran abrir, éstas deberían llevar protección frente a la entrada de insectos.

### Laboratorios de nivel de contención 2

#### Prácticas de laboratorio

- El responsable de seguridad e higiene podrá limitar o restringir el acceso al laboratorio cuando el trabajo esté en marcha.
- Las superficies de trabajo se descontaminarán, al menos, una vez al día y siempre que se produzca un derramamiento de material infeccioso.
- Todos los residuos, tanto líquidos como sólidos, deberían descontaminarse antes de su eliminación.
  - Está prohibido pipetear con la boca.
  - No se permite comer, beber, fumar, tomar medicamentos o maquillarse en el laboratorio.
  - La comida se almacenará en armarios o refrigeradores destinados para tal fin, que se ubicarán 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.

#### Prácticas especiales

- Los materiales contaminados que han de ser descontaminados fuera del laboratorio se irán depositando en contenedores apropiados que podrán cerrarse al ser trasladados del laboratorio.

- El responsable de seguridad e higiene 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.

- Cuando los agentes infecciosos que se manejen requieran el empleo de medidas de seguridad adicionales (por ejemplo, estar vacunado), en la puerta de acceso al laboratorio deberá colocarse un cartel que lo indique claramente, junto con el símbolo de “peligro o riesgo biológico”.

- Se llevarán a cabo programas de desinsectación y desratización de la instalación.

- 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.

- En el lugar de trabajo no se permitirá la presencia de animales no relacionados con el trabajo en marcha.

- Se prestará especial atención para evitar la contaminación a través de la piel, por lo que es recomendable llevar guantes cuando se manipule material infeccioso.

- Todos los residuos del laboratorio deben ser descontaminados adecuadamente antes de su eliminación.

- Las agujas hipodérmicas y jeringuillas que se empleen para la inoculación parenteral o extracción de fluidos de los animales o de contenedores irán provista de diafragma.

- Será necesario prestar especial atención a la autoinoculación y a la creación de aerosoles. Las agujas y jeringuillas se desecharán en contenedores destinados a tal fin, que se descontaminarán en autoclave antes de su eliminación.

- Los derramamientos y otros accidentes que tengan como consecuencia la sobreexposición del personal a materiales infectados deberán ser comunicados al responsable de seguridad e higiene.

### **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.

### **Instalaciones**

- El laboratorio estará diseñado de manera que facilite al máximo su limpieza.

- Las mesas de trabajo serán impermeables y resistentes a ácidos, álcalis, disolventes orgánicos y al calor moderado.

- El mobiliario será robusto y el espacio entre mesas, armarios, estanterías, cabinas y otros equi-

pos será lo suficientemente amplio para permitir una limpieza correcta.

- Cada laboratorio contará con un lavabo para lavarse las manos.

- Si el laboratorio posee ventanas que se puedan abrir, éstas irán provistas de una rejilla que impida la entrada de insectos.

- Se dispondrá de un autoclave para descontaminar los residuos que genere el laboratorio.

- Es aconsejable la instalación de una ventanilla de observación o un dispositivo alternativo (por ejemplo, cámaras) en la zona de trabajo, de manera que puedan verse sus ocupantes, así como poner de manifiesto los accidentes e incidentes que puedan producirse.

### **Laboratorios de nivel de contención 3**

#### **Prácticas de laboratorio**

- El laboratorio debería encontrarse separado de toda actividad que se desarrolle en el mismo edificio.

- Las superficies de trabajo deben descontaminarse al menos una vez al día y después de cada derramamiento de material infectado.

- Todos los desechos líquidos y sólidos se descontaminarán antes de su eliminación.

- Está prohibido pipetear con la boca.

- En las zonas de trabajo no se puede comer, beber, fumar, tomar medicamentos o maquillarse.

- El personal debe lavarse las manos cada vez que maneje material o animales infectados y al abandonar el laboratorio.

- Se tomarán todas las medidas adecuadas para eliminar la producción de aerosoles.

#### **Prácticas especiales**

- Cuando se estén llevando a cabo ensayos, las puertas deben permanecer siempre cerradas.

- Los materiales contaminados que han de salir del laboratorio para su descontaminación se irán depositando en contenedores apropiados para tal fin, contenedores que se cerrarán al ser trasladados fuera del laboratorio.

- El responsable de seguridad e higiene del laboratorio será quien controle el acceso al mismo y quien restrinja, a su criterio, la entrada a personas cuya presencia sea requerida por razones ajenas al trabajo que se realiza (personal de mantenimiento, visitantes,...).

- Las personas con un alto riesgo de contraer infecciones o para las que éstas puedan resultar especialmente peligrosas tienen prohibida la entrada.

- Cuando en el laboratorio se encuentre material infeccioso o animales infectados, en todas las puertas de acceso al mismo se colocará el signo de “peligro biológico” junto con cualquier requisito especial que, para acceder al laboratorio, sea necesario (inmunizaciones, respiradores, etc.).

- Todas las actividades que estén relacionadas con la manipulación de materiales infecciosos serán realizadas en cabinas de bioseguridad adecuada o mediante el empleo de cualquier otro equipo sustitutorio.

- Las superficies de trabajo de las cabinas y otros equipos de seguridad se descontaminarán una vez que el trabajo con el material infectado haya concluido. Puede ser de utilidad el empleo de materiales desechables especiales para cubrir determinadas superficies.

- Se llevará a cabo un programa de desinsectación y desratización.

- Deberá llevarse ropa de uso exclusivo en el laboratorio y nunca la ropa de calle. Esta ropa de trabajo será descontaminada antes de ser lavada.

- Se tendrá especial cuidado en evitar la contaminación a través de la piel, por lo que es imprescindible el empleo de guantes cuando se manejen animales infectados o cuando sea imposible evitar el contacto con material infectado.

- En el laboratorio no se permite la presencia de plantas o animales no relacionados con el trabajo en marcha.

- Todo el material de deshecho debe ser descontaminado antes de su eliminación.

- Las tomas de vacío deberán estar protegidas con filtros HEPA y los sifones deberán descontaminarse.

- Las jeringuillas y agujas hipodérmicas, que se empleen para la inoculación parenteral y aspiración de fluidos de animales así como para la aspiración de contenedores, deberán ir provistas de diafragma. Es preferible el empleo de jeringuillas que lleven la aguja incorporada. Al manejar estos elementos se pondrá un cuidado especial en evitar la autoinoculación así como la producción de aerosoles. Las jeringuillas usadas se desecharán en envases apropiados que serán descontaminados en autoclave.

- Los derramamientos o accidentes que traigan como consecuencia una potencial exposición al material infectado deberán ser inmediatamente comunicados al responsable de seguridad e higiene.

- De todo el personal que trabaje en el laboratorio se deberá hacer una toma anual de sangre o con la periodicidad que lo requiera el tipo de trabajo que se realice.

- Se dispondrá de un Manual de Seguridad Biológica.

### **Equipo de seguridad**

- En todas las actividades que impliquen manejo de material infectado, con peligro de producción de aerosoles, se deberán emplear cabinas de flujo laminar u otros equipos de seguridad apropiados.

- El laboratorio deberá estar separado de las zonas donde no exista restricción a la entrada de personal. Para acceder al mismo desde los pasillos u otras zonas contiguas es conveniente el paso a través de una doble puerta. La separación del laboratorio del resto de instalaciones también puede efectuarse mediante salas, como vestuarios, que contengan duchas, esclusas,...

- Las superficies de paredes, suelos y techos deben ser impermeables y de fácil limpieza. Cualquier canalización o entrada de tuberías a través de cualquiera de estas superficies irá cubierta de manera que se pueda efectuar la descontaminación del laboratorio en las condiciones adecuadas.

- Las mesas serán impermeables y resistentes a ácidos, álcalis, disolventes orgánicos y al calor moderado.

- El mobiliario será robusto. Entre mesas, estanterías, armarios, cabinas y otros equipos deberá existir espacio suficiente para permitir la fácil limpieza del laboratorio.

- Cada laboratorio dispondrá de un lavabo para lavarse las manos. Este lavabo deberá ponerse en funcionamiento con un pedal, con el codo o automáticamente, y estará situado cerca de la puerta de salida del laboratorio.

- Las ventanas permanecerán siempre cerradas y selladas.

- Las puertas de acceso al laboratorio deberán ser de cierre automático.

- La entrada y salida del aire estará canalizado, de manera que el sistema cree una corriente de aire que haga que éste entre al laboratorio desde las zonas de acceso al interior, y que el aire de salida vaya directamente al exterior sin recircularse. El personal deberá verificar si la dirección del aire dentro del laboratorio es en todo momento la correcta. El aire de salida se filtrará mediante filtros HEPA antes de llegar al exterior.

- Es aconsejable la instalación de una ventanilla de observación o un dispositivo alternativo (por ejemplo, cámaras) en la zona de trabajo, de manera que puedan verse sus ocupantes, así como poner de manifiesto los accidentes e incidentes que puedan producirse.

## Laboratorios de nivel de contención 4

### Prácticas de laboratorio

- El laboratorio se encontrará separado de toda actividad que se desarrolle en el mismo edificio.
- Las superficies de trabajo deben descontaminarse al menos una vez al día e inmediatamente después de que exista derramamiento de material infectado.
- Está prohibido pipetear con la boca.
- En las zonas de trabajo no se permite comer, beber, fumar, tomar medicamentos o maquillarse.
- Se instaurarán los procedimientos adecuados para evitar al máximo la producción de aerosoles.

### Prácticas especiales

- Los materiales biológicos que tengan que salir del laboratorio o de las cabinas de Clase III lo harán en un contenedor irrompible, el cual irá a su vez en un segundo contenedor hermético y de fácil descontaminación. Para permitir la salida de este material, el segundo contenedor se pasará por un producto descontaminante.
- Ningún material, excepto el biológico que deba permanecer intacto, saldrá del laboratorio sin ser descontaminado en autoclave. El equipo o material que pueda resultar dañado por las condiciones de la esterilización se descontaminará de manera similar a como se hace con el biológico.
- Sólo las personas expresamente autorizadas para ello tendrán acceso al laboratorio. Las personas con alto riesgo de contraer infecciones o para las que éstas puedan ser particularmente peligrosas tienen prohibida la entrada. Por otro lado, la entrada al laboratorio estará limitada mediante medidas de seguridad adicionales.
- El personal que entra en el laboratorio sólo podrá salir a través de un vestuario con ducha; cada vez que abandone el laboratorio obligatoriamente deberá tomar una ducha.
- La ropa de calle se dejará en el vestuario y se la cambiará por otra de uso exclusivo para el laboratorio de nivel 4. Cuando se vaya a salir del laboratorio, esta ropa se introducirá en una caja hermética de transporte que se descontaminará antes de ser llevada al exterior.
- El símbolo universal de “peligro biológico” estará situado en la puerta de entrada. En los casos necesarios, se indicará además el tipo de agente biológico que se maneja, así como la identificación y modo de localización del responsable de seguridad e higiene, y también la necesidad de emplear determinados equipos de seguridad adicionales.

- El suministro de materiales se realizará a través de un autoclave de doble puerta, esclusa o cámara de descontaminación superficial.
- Se llevará a cabo un programa de desinsectación y desratización.
- Materiales tales como plantas, animales o ropa, no relacionados con el experimento, están totalmente prohibidos en el área de trabajo. Lo descrito anteriormente para otros niveles, en cuanto al uso de jeringuilla y agujas hipodérmicas, es aplicable en este caso, con la salvedad de que, siempre que la técnica lo permita, se preferirán cánulas a agujas.
- Se instalará una ventanilla de observación o un dispositivo alternativo (por ejemplo, cámaras) en la zona de trabajo, de manera que puedan verse sus ocupantes, así como poner de manifiesto los accidentes e incidentes que puedan producirse.

### Equipos de seguridad

- Todas las manipulaciones que se lleven a cabo en el laboratorio se efectuarán en cabinas de clase III o en cabinas de clase II en combinación con trajes autónomos de respiración asistida y presión positiva en el interior.

### Instalaciones

- Un laboratorio de máxima seguridad, P-4 o de nivel de contención 4, puede considerarse tanto una instalación independiente como parte de una zona claramente demarcada dentro del edificio general. Se requieren vestuario de entrada y de salida con duchas. Para aquellos materiales que no puedan pasar a través de los vestuarios, es imprescindible contar con un autoclave con doble puerta, o una esclusa o cámara de descontaminación superficial.
- Las paredes, techos y suelos estarán contruidos de manera que formen una “cámara” sellada que facilite la descontaminación y no permita la entrada de insectos o roedores. Las superficies internas de esta cámara serán resistentes a los productos químicos, de manera que sea posible la limpieza y descontaminación por la vía más conveniente para cada caso. Todas las conducciones que penetren en el laboratorio irán cubiertas. Todos los desagües estarán conectados directamente con el sistema de descontaminación de desechos. La salida del aire debe ser a través de un filtro HEPA.
- Se evitarán las juntas en las mesas de trabajo y sus superficies serán impermeables y resistente a ácidos, álcalis, disolventes orgánicos y al calor moderado.

- El mobiliario será robusto y simple y el espacio que deje con las paredes será el suficiente como para permitir una limpieza fácil y eficaz.

- Cerca de la puerta de salida se dispondrá de un lavabo automático o accionado por pedal o con el codo.

- Si existe un sistema centralizado de vacío debe serlo a través de filtros HEPA; otros servicios que se suministran al laboratorio, tanto de líquidos como de gases, estarán protegidos por un dispositivo que evite el reflujo.

- Las puertas de acceso serán de cierre automático y con posibilidad de ser cerradas con llave.

- Cualquier ventana que exista llevará cristal irrompible.

- Para pasar materiales dentro del laboratorio existirá un autoclave de doble puerta. La puerta que da a la parte exterior del laboratorio estará controlada automáticamente, de manera que sólo se pueda abrir cuando el ciclo de esterilización haya finalizado.

- Para los equipos que no puedan ser introducidos en el autoclave existirá un contenedor con líquido descontaminante o algún sistema similar.

- Los efluentes de las pilas de lavado, cabinas de seguridad, suelos y autoclaves se tratarán con calor antes de salir del laboratorio.

- La entrada y salida del aire estarán individualizadas del resto del edificio.

- El aire de salida se filtrará a través de un filtro HEPA, que se situará lo más cerca posible del laboratorio, con el fin de reducir al máximo la contaminación de las conducciones.

- Para este laboratorio se debe suministrar un traje especial, hecho de una sola pieza, con presión positiva en su interior y respiración asistida. Incluye alarmas y bombonas de oxígeno de emergencia. Para entrar a este laboratorio se hará a través de una esclusa. Antes de abandonar por completo la zona, el personal que lleve este tipo de traje tomará, para su descontaminación, una ducha química.



## APÉNDICE 12: MEDIDAS Y NIVELES DE CONTENCIÓN PARA LAS ACTIVIDADES EN LOCALES CON ANIMALES

El nivel de contención, a que se hace referencia en este Apéndice, será de utilidad para el trabajo con vertebrados a los que se les haya inoculado intencionadamente agentes biológicos de los grupos 1, 2, 3 o 4 o con material sospechoso de contener estos agentes.

El personal deberá recibir información suficiente así como entrenamiento e instrucciones para el trabajo seguro con estos animales.

Se deberá hacer hincapié en la protección frente a infecciones persistentes o latentes en las especies animales utilizadas.

El trabajo con animales implica el contacto con los dérmicos y excreciones de los mismos, de reconocida capacidad sensibilizante, por lo que este riesgo adicional al de infección debe ser contemplado.

Las indicaciones relativas a las medidas de contención para cada uno de los niveles se resumen en los apartados siguientes.

### Nivel de contención 1

- El acceso al animalario sería conveniente que estuviera restringido a personas autorizadas.
- El animalario debería ser fácil de limpiar.
- Se debería disponer de desinfectantes efectivos para su empleo inmediato.
- El animalario deberá estar adecuadamente ventilado.
- Todos los procedimientos operatorios deberían orientarse para minimizar la producción de aerosoles.
- Las ropas de protección personal y el calzado deberán ser utilizados en los animalarios y limpiado o cambiado al salir del mismo.
- El comer, mascar chicle, beber, fumar, tomar medicación, almacenar comida para el consumo humano y aplicarse cosméticos debería estar prohibido en el animalario.
- Pipetear con la boca debe estar prohibido.
- Debería haber una pila o lavabo para el lavado de manos.
- Las manos deberían descontaminarse inmediatamente cuando se sospeche su contaminación y siempre antes de dejar el animalario.
- Se debería disponer de un autoclave para la esterilización del material de desecho.
- Los materiales para su tratamiento en autoclave, para su incineración, así como las jaulas

para animales deberían ser transportados sin derrames.

- Las jaulas de los animales deberían ser descontaminadas después de su uso.
- Todo el material de desecho se eliminará de forma segura.
- El equipo de protección personal, incluyendo ropa de protección, debe ser:
  - Almacenado en un lugar definido
  - Chequeado y limpiado a intervalos regulares
  - Cuando esté defectuoso, se repara o reemplaza antes de usarlo.
- El equipo de protección personal que pueda estar contaminado debe ser:
  - Dejado en el área de trabajo al dejar ésta
  - Guardado separado de la ropa y el equipo contaminado
  - Descontaminado y limpiado y, si fuera necesario, destruido.

- Todos los accidentes e incidentes, incluidos mordeduras y arañazos, deberán ser comunicados a la persona responsable del trabajo.

### Nivel de contención 2

- El acceso al animalario debería estar limitado a las personas autorizadas.
- El animalario debe ser fácil de limpiar. Las superficies deberían ser impermeables al agua y resistentes a ácidos, álcalis, disolventes y desinfectantes. Este requisito será obligatorio para la mesa de trabajo y el banco de pruebas.
- Debe haber procedimientos especificados de desinfección.
- Se deberían adoptar medidas eficientes de control de vectores (por ejemplo, insectos y roedores).
- Donde sea necesario se debe facilitar el almacenaje seguro de agentes biológicos.
- En las actividades en las que se maneja material infectado, incluyendo animales, donde se puedan crear aerosoles es recomendable utilizar cabinas de seguridad biológica, aislador u otro medio de protección.
- Sería aconsejable disponer de incinerador para el tratamiento de animales muertos, que deberían

ser transportados al mismo en contenedores seguros.

- El equipo de protección personal, incluyendo ropa de protección, debe ser:

- Almacenado en un lugar definido
- Chequeado y limpiado a intervalos regulares
- Cuando esté defectuoso, se repara o reemplaza antes de usarlo.

- El equipo de protección personal que pueda estar contaminado debe ser:

- Dejado en el área de trabajo al dejar ésta
- Guardado separado de la ropa y el equipo contaminado
- Descontaminado y limpiado y, si fuera necesario, destruido.

- En el animalario deberá utilizarse ropa de protección y calzado adecuado que deberá quitarse a la salida del mismo.

- En todas las manipulaciones deberá intentarse minimizar la producción de aerosoles.

- La puerta del animalario deberá cerrarse cuando los animales infectados estén presentes.

- El comer, mascar chicle, beber, fumar, tomar medicación, almacenar comida para el consumo humano y aplicarse cosméticos debería estar prohibido en el animalario.

- En caso necesario, el proceso de pipeteado se hará utilizando procedimientos mecánicos.

- Las manos deberán descontaminarse inmediatamente cuando se sospeche su contaminación y siempre antes de abandonar el animalario.

- Se deberá contar con lavabos adecuados en el propio animalario.

- Todo el material de desecho, incluidos los lechos de las jaulas, deberían descontaminarse antes de su eliminación.

- Las jaulas ya utilizadas de los animales, antes de su reutilización, deberían ser tratadas adecuadamente (desinfección, fumigación o tratamiento por calor).

- Las superficies deberían ser desinfectadas después de su uso.

- Todos los accidentes e incidentes, incluidos mordeduras y arañazos, deberán ser comunicados y recogidos por la persona responsable del trabajo.

- Si en el suelo se instalan desagües, las trampillas deberían contener siempre agua. Estas trampillas deberían ser regularmente limpiadas y desinfectadas.

### Nivel de contención 3

- El animalario debería estar separado de otras actividades desarrolladas en el mismo edificio.

- El acceso al animalario debe estar limitado a las personas autorizadas.

- El animalario debe ser de fácil limpieza. La superficie de trabajo, suelo y paredes deben ser impermeables al agua y resistentes a ácidos, álcalis, disolventes, desinfectantes y temperaturas moderadas.

- El animalario debería mantenerse a una presión de aire negativa con respecto a la atmósfera. La extracción de aire se debe hacer a través de un filtro HEPA o equivalente. La atmósfera en este contexto debe considerarse como el aire externo y/u otras partes del edificio. El aire debería extraerse a través de conductos con filtros HEPA o por extracción localizada con un ventilador y un filtro HEPA situado en la pared o ventana. Los sistemas de ventilación deberían incorporar medidas para prevenir el flujo de aire invertido, intercalando en su caso sistemas suplementarios para prevenir la presurización positiva de la habitación en caso de fallo de los ventiladores de extracción.

- El animalario debe permitir su desinfección, según procedimientos de desinfección especificados. En la práctica puede ser necesario descontaminar por fumigación cuando, por ejemplo, hayan tenido lugar un vertido, al finalizar un experimento o cuando tengan lugar trabajos de mantenimiento. En el Apéndice 9 "Aplicación de biocidas" se detalla la problemática asociada con esta actuación.

- Es aconsejable la instalación de una ventanilla o dispositivo alternativo para observar a los ocupantes.

- Se deben tomar medidas de control contra los vectores (roedores e insectos).

- En los procedimientos que involucren el manejo de material infectivo incluyendo animales infectados, donde puedan crearse aerosoles, deben utilizarse cabinas de seguridad biológica u otro mecanismo de contención.

- El animalario tendrá su propio equipo, cuando sea razonablemente posible.

- El equipo de protección personal, incluyendo ropa de protección, debe ser:

- Almacenado en un lugar definido
- Chequeado y limpiado a intervalos regulares
- Cuando esté defectuoso, se repara o reemplaza antes de usarlo.

- El equipo de protección personal que pueda estar contaminado debe ser:

- Dejado en el área de trabajo al dejar ésta
- Guardado separado de la ropa y el equipo contaminado
- Descontaminado y limpiado y, si fuera necesario, destruido.

- Se debe tener acceso a un incinerador para la eliminación de cadáveres de animales.

- El animalario debería estar separado del paso general por una antesala con dos puertas.

- La antesala del animalario debería estar diseñada de manera que permita el almacenaje de la ropa de protección así como unas duchas.

- Deberá ponerse el signo o señal de riesgo biológico a la entrada del animalario indicando el nivel de trabajo. El animalario debe estar cerrado cuando el personal esté ausente.

- Los desagües instalados en el suelo deberán ir provistos de trampillas que deberán mantenerse llenas de agua y desinfectarse y limpiarse regularmente al final de cada experimentación.

- Los animales infectados con agentes del grupo 3, transmisibles por vía aérea, deberían ser albergados en cabinas de seguridad o en otras formas de contención primaria que se proveerán con filtros HEPA o equivalente. Si no es posible utilizar equipos de protección primaria, el personal debería usar equipo de alta protección respiratoria.

- Cuando los procedimientos de trabajo con material infectado den lugar a la producción de aerosoles, se debe usar una cabina de seguridad microbiológica u otro medio que ofrezca niveles equivalentes de protección.

- La ropa de protección, incluyendo calzado y guantes, ropa impermeable o de cualquier otro tipo suplementario, debe ser utilizada en el animalario y dejada al salir del mismo para su posterior desinfección o tratamiento en autoclave.

- Está prohibido pipetear con la boca; en caso de ser necesario, el proceso de pipeteado se hará utilizando procedimientos mecánicos.

- No se permite en el animalario comer, beber, fumar, tomar medicamentos o maquillarse, mascar chicle ni almacenar comida para el consumo humano.

- Es obligatorio el uso de guantes para la manipulación de material infeccioso. Las manos se deberán lavar antes de abandonar el animalario. Los guantes deberán lavarse o mejor, ser desechados antes de tocar con ellos otros objetos con los que puedan ponerse en contacto otras personas

no protegidas de forma similar, por ejemplo: el teléfono, el papel de trabajo, etc. El teclado de ordenador, u otros equipos de control, deberían protegerse con una cubierta flexible que pueda ser desinfectada.

- Deberá haber un lavabo que pueda accionarse sin necesidad de tocarlo con las manos. Estas deberán ser descontaminadas inmediatamente que se sospeche su contaminación, después de quitarse la ropa de protección y siempre que se deje el lugar de trabajo.

- Deberán establecerse medidas seguras para la recogida, el almacenaje y la eliminación del material contaminado.

- Se debe contar, en el lugar de trabajo, con un autoclave para la esterilización del material contaminado. El material para el autoclave y la incineración y la jaula de los animales deberían ser transportados sin derrames.

- Todo el material de deshecho, incluidos los materiales de camada, deberá ser tratado antes de su eliminación.

- Las jaulas ya utilizadas de los animales antes de su reutilización deberían ser tratadas adecuadamente (desinfección, fumigación o tratamiento por calor).

- Las superficies de trabajo deberían ser desinfectadas después de su uso y el lugar de trabajo desinfectado o fumigado al final de cada experimentación.

- El material infectivo, tomado del interior del animalario o sacado de él, debería ser transportado en contenedores sellados.

- Todos los accidentes e incidentes, incluyendo mordeduras y arañazos, deberían ser puestos en conocimiento del responsable de la prevención en el lugar de trabajo. Estos accidentes deberán ser incluidos en los historiales médicos contemplados en el Artículo 9.1.

#### Nivel de contención 4

- El animalario debe estar separado de cualquier otra actividad que se realice en el mismo edificio.

- El acceso debe estar restringido al personal autorizado, estableciéndose un procedimiento de cierre que restrinja dicho acceso a todas horas. La entrada debe ser a través de una esclusa.

- El animalario debe ser de fácil limpieza. Las superficies de trabajo, suelo y paredes deben ser impermeables al agua y resistentes a ácidos, álcalis, disolventes, desinfectantes y temperaturas moderadas.

- El animalario debe mantener una presión negativa con respecto a la atmósfera. El aire de entrada debe ser filtrado a través de un filtro HEPA y el extraído a través de un doble filtro HEPA o equivalente.

Se deberá mantener una presión negativa de al menos 70 Pascales (7 mm de agua) para el animalario y de 30 Pascales (3 mm de agua) en la esclusa con respecto a las zonas anejas a los locales.

Se deberá instalar un sistema de alarma para detectar fallos en la presión del aire y los manómetros deberían estar colocados de forma que puedan ser leídos desde fuera y dentro del laboratorio.

- El animalario debe permitir su desinfección.
- Debe ser instalada, en el área de trabajo, una ventanilla de observación o dispositivo alternativo que permita que los ocupantes puedan ser vistos.
- Se deben tener previstos procedimientos de desinfección específicos.
- Se deben tomar medidas para el control eficiente de los vectores.
- El animalario debe contar con equipo propio.
- Se debe contar con sistemas para el almacenamiento seguro de los agentes biológicos.
- El material infectado, incluidos los animales, se manejarán en cabina de seguridad clase III o en otro tipo de aislador en el cual el aire se descargue a través de un doble filtro HEPA.
- El incinerador para la destrucción de animales muertos debe estar ubicado en el mismo lugar de trabajo.
- El equipo de protección personal, incluyendo ropa de protección, debe ser:

- Almacenado en un lugar definido
- Chequeado y limpiado a intervalos regulares
- Cuando esté defectuoso, se repara o reemplaza antes de usarlo.

- El equipo de protección personal que pueda estar contaminado debe ser:

- Dejado en el área de trabajo al dejar ésta
- Guardado separado de la ropa y el equipo contaminado
- Descontaminado y limpiado y, si fuera necesario, destruido.

- El lado limpio de la esclusa de entrada debería estar separado del lado restringido mediante instalaciones, como vestuarios o duchas, y prefe-

riblemente por puertas con cerraduras dependientes. La parte exterior de la puerta debe estar etiquetada con la señal que indique la actividad y el trabajo en marcha.

- En general, el principio de contención primaria debe ser siempre aplicado. Por tanto los animales en este nivel de contención deberán ser manipulados dentro de cabinas de seguridad clase III o unidad de nivel equivalente de protección o, en su caso, alguna forma de encerramiento aislado en función de las características de las especies (tamaño y carácter) y de las operaciones a realizar, ya que algunas de ellas no podrán realizarse en sistemas cerrados. Como alternativas se podría proponer el uso de equipos de protección respiratoria de probada eficacia.

- Todo el aire extraído debe ser filtrado a través de dos filtros HEPA montados en serie antes de su descarga al aire exterior. Debe prevenirse la presurización positiva del habitáculo en caso de fallo del sistema de ventilación, incorporando medidas para prevenir la inversión del flujo del aire así como disponer de sistemas eléctricos de emergencia que puedan actuar en caso de fallo de la fuerza.

- Se debe contar con un autoclave de doble acceso, uno de ellos debe dar al laboratorio y otro al área limpia.

- El animalario debe permitir su desinfección, lo cual incluye la posibilidad de descontaminar por fumigación.

- El usuario deberá cambiar por completo la ropa antes de abandonar las instalaciones. La ropa deberá ser colocada, después del trabajo, en contenedores adecuados para su posterior tratamiento en autoclave. Se deberá tomar una ducha antes de salir del local.

- Todos los efluentes, incluyendo los de las duchas, deberán ser inactivados antes de su liberación.

- Deberá existir un programa para validar de forma continua la fiabilidad de los sistemas de control de la seguridad de las operaciones, por ejemplo: chequear los flujos de aire, la integridad de los filtros, los sensores e indicadores, en conjunción con el resto del servicio de mantenimiento de todos los equipos de seguridad de las instalaciones. Estas medidas, por ejemplo, incluirían el cuidadoso examen de los filtros HEPA y sus adaptadores a intervalos regulares y según la frecuencia de uso, por ejemplo, cada seis meses o anualmente.

- Todo material de deshecho deberá inactivarse (no infectivo) antes de ser retirado del animalario

y posteriormente se tratará en autoclave. Los materiales del lecho de las jaulas deberán ser incinerados.

Para el tratamiento de materiales que no puedan introducirse en el autoclave se debe contar con un desinfectante efectivo. El tanque o recipiente que lo contenga deberá precintarse durante la fumigación si se prevé que puede reaccionar con el fumigante para formar compuestos tóxicos.

- En cualquier momento durante el trabajo en la Unidad, debe haber una persona competente para asistir en los casos de emergencia.

- El equipo de protección respiratoria de alta eficiencia (dos o más unidades) debe colocarse en la zona limpia de la unidad del laboratorio para su utilización en los casos de emergencia.

- Debe haber un teléfono u otras medidas de comunicación entre el exterior y el interior de la Unidad.

- En caso de ser necesario, el proceso de pipeteado se realizará utilizando procedimientos mecánicos.

- No se permite en el animalario: comer, beber, fumar, tomar medicamentos o maquillarse, mas-

car chicle ni almacenar comida para el consumo humano.

- El material infectivo deberá almacenarse en el propio animalario. Cuando esto no sea posible, deberá ser transportado, bajo la supervisión directa del responsable de seguridad, en contenedores sellados los cuales habrán sido desinfectados externamente, a otra sala de nivel de contención 4.

- Los desagües instalados en el suelo deberán ir provistos de trampillas que estarán selladas hasta que se requiera su utilización. Los efluentes deberán ser tratados, para su inactivación, antes de su descarga al sistema de alcantarillado. Las trampillas y desagües deberán ser desinfectados y limpiados regularmente al final de cada experimentación.

- Todos los accidentes, incidentes, derrames y exposiciones accidentales a materiales infectivos deberán ser comunicados y registrados por el responsable de seguridad que deberá tomar las medidas especificadas en los procedimientos de trabajo, así como la inclusión en los historiales médicos contemplados en el Artículo 9.1.

## APÉNDICE 13: EL USO DE LOS AGENTES BIOLÓGICOS A GRAN ESCALA

Los posibles efectos para la salud, como consecuencia de la exposición a agentes biológicos derivados de su utilización en procesos industriales o a gran escala, han de ser tenidos en cuenta cuando se realice el diseño de la seguridad de la planta, edificio y sistemas de trabajo para el uso de tales agentes.

Actualmente, está superado el criterio cuantitativo en cuanto a la escala de producción, que separaba la pequeña/gran escala de producción en los 10 litros, y se definen según la intención de la actividad: trabajos que se lleven a cabo con vistas a la comercialización y venta de los productos serán considerados como de uso industrial o a gran escala; si la actividad es no comercial (investigación, desarrollo,...), será considerada como de “pequeña escala”, independientemente del volumen.

Fundamentalmente en nuestro país los procesos de biotecnología se concentran en el sector de producción de alimentos y bebidas que utilizan agentes clasificados en el grupo 1, raramente causan enfermedad infecciosa en el trabajador y sólo una pequeña parte del proceso industrial o farmacéutico utilizan agentes de los grupos 2, 3 y 4. Alguno de los agentes del grupo 1 pueden actuar como potentes sensibilizantes respiratorios, debiendo por tanto tomar precauciones adicionales.

Es importante no confundir el uso de medidas de contención desarrolladas para el seguimiento de las “buenas prácticas de fabricación” con las necesarias para el adecuado manejo, desde el punto de vista de salud y seguridad, de los agentes de los grupos 2, 3 y 4.

En este apéndice se reseñan los puntos fundamentales respecto a procedimientos de trabajo, contención primaria y secundaria y los métodos de protección personal.

### **Procedimientos de trabajo:**

Antes de iniciarse el trabajo, con producción a gran escala, el trabajador ha de recibir la oportuna información y formación que incluya el entrenamiento en trabajos de rutina y en situaciones de emergencia. Todas las operaciones se realizarán según procedimientos preestablecidos, con instrucciones escritas sobre las actuaciones ante accidentes o incidentes que puedan suponer un contacto con el agente biológico, incluido planes de emergencia. Donde sea posible, se debería implan-

tar un sistema de vigilancia para comprobar la eficacia de los sistemas de contención (Art. 6.1i).

### **Contención primaria:**

El fermentador o recipientes y contenedores equivalentes, dependiendo del tipo de industria, debe ser el primer elemento de contención primaria, por lo cual debe ser validado ante posibles vertidos.

Cuando el proceso requiera agitación del contenido del reactor, los agitadores constarán de un sistema de sellado único en los trabajos con agentes biológicos del grupo 2, o de doble sellado en caso de trabajos con los grupos 3 o 4.

Para el grupo 2 de agentes biológicos, se requiere minimizar posibles escapes de organismos viables, lo cual implica el empleo de ciclones superficiales, o tratamiento con hipoclorito o con controles de filtro.

Para los grupos 3 o 4 se requiere impedir la liberación, que suele conseguirse mediante la utilización de filtros HEPA.

La inoculación y la toma de muestras en los fermentadores se hará impidiendo la liberación de agentes biológicos si éstos son de los grupos 3 o 4, utilizando muestreadores provistos de válvulas tipo diafragma, pasando el gas desplazado a través de un filtro HEPA.

Se deben comprobar los transductores de presión y temperatura. Para los agentes del grupo 2 éstos podrán retirarse para realizar los ensayos con facilidad. En los grupos 3 o 4 éstos no podrán retirarse, recomendándose el duplicar los transductores como procedimiento de seguridad.

Los fluidos de grandes cultivos no deben ser retirados del medio sin que los organismos viables hayan sido desactivados. El método para eliminar el riesgo dependerá del tipo de producto, admitiendo para la desactivación el empleo de filtros de 0.22µm para los del grupo 2 o aplicación de altas temperaturas o biocidas efectivos para los grupos 3 o 4.

### **Contención secundaria: Sala de reactor-edificio**

- Todos los procesos que utilicen agentes biológicos de los grupos 2, 3 y 4 deben estar diseñados para minimizar (grupo 2) o prevenir (grupos 3 y 4) la liberación.

- El diseño debería ser de tal forma que la sala de fermentación actuase como contención secundaria y que el resto del equipo estuviera situado

dentro de un edificio hermético, equipado con ventilación adecuada. Cuando en dicho edificio se lleven a cabo otros procesos industriales, se debe tener especial cuidado en evitar la posible contaminación en caso de accidente. Para los agentes biológicos del grupo 2, se necesita asegurar unas 10 renovaciones/hora para conseguir el confort del personal. En el caso de áreas de procesos diseñados para utilizar agentes del grupo 3, la ventilación debería estar complementada con la instalación de filtros HEPA en las salidas del aire y a la entrada y salida cuando se manipulen agentes biológicos del grupo 4.

- El acceso a las áreas de trabajo debe estar restringido a aquellos trabajadores que tengan tareas específicas que realizar en el área. Cuando el riesgo proceda de un agente del grupo 4, la entrada se hará a través de esclusas de presión negativa.

- La señal de peligro biológico deberá estar presente en el lado externo de las puertas donde se manejen agentes de los grupos 3 y 4.

- En los lugares donde se manejen agentes del grupo 2, no hay necesidad específica de trabajar con presión negativa, pero sí donde se estén manejando agentes 3 y 4. La presión diferencial será de 10 a 70 Pascales.

- Se deberá contar con las instalaciones adecuadas para asegurar la limpieza y descontaminación del personal, de manera que los trabajadores deberían ducharse antes de salir de la zona de trabajo (obligatorio para agentes biológicos del grupo 4). Los efluentes de las duchas deberán inactivarse obligatoriamente, si el riesgo procede de agentes biológicos del grupo 4, utilizando filtros o biocidas.

- Las duchas de emergencia deberán estar previstas para todas las operaciones con los agentes biológicos de los grupos 3 y 4, y siempre que sea posible con las operaciones con agentes biológicos del grupo 2. En el caso de descontaminación por una emergencia, las prendas de protección personal contaminadas no deberían lavarse bajo la ducha, deberían ser separadas en el área de trabajo, introducidas en una bolsa, para posteriormente ser tratadas en autoclave o incineradas, mientras que el operario se introduce bajo la ducha.

- Todos los vertidos, incluyendo los procedentes de los laboratorios, duchas, lavabos y residuos, se deben recoger en una planta separada donde puedan ser inactivados por calor o biocidas antes de su descarga. La instalación de esta planta ha de ser de tal forma que la descarga accidental del sistema no sea posible (agentes biológicos de los grupos 3 y 4).

#### **Otras medidas de prevención:**

- Se debe proporcionar al personal que entra en las instalaciones equipos de protección personal específico, para las operaciones con los agentes biológicos de los grupos 2, 3 y 4.

- Comer, beber, fumar, tomar medicinas, almacenar alimentos o aplicarse cosméticos está prohibido en las áreas donde se manipulen agentes biológicos de los grupos 2, 3 y 4.

- En función del riesgo, la vacunación específica deberá ser ofrecida a aquellos trabajadores que no sean inmunes a los agentes biológicos a los cuales están o vayan a exponerse.

## IV. FUENTES DE INFORMACIÓN

### BIBLIOGRAFÍA Y OTRAS FUENTES DE INFORMACIÓN

- 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, Snealth, 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.
- Noble E. R.; Noble G. A. Parasitology: The biology of the animal parasites. 1989. (6<sup>th</sup> 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/biosafty/msds/index.html>.  
Base de datos de patógenos aerotransportados.  
<http://www.bio.psu.edu/People/Faculty/Whittan/apdbase/aplist.html>



**ALGUNAS DISPOSICIONES LEGALES AUTONÓMICAS RELACIONADAS CON LA GESTIÓN DE RESIDUOS BIOCONTAMINANTES**

<b>Comunidad</b>	<b>Normativa</b>	<b>Publicado en:</b>
Andalucía	Decreto 283/1995 de 21 de noviembre	BOJA9/12/1995
Aragón	Decreto 29/1995 de 21 de febrero	BOA 6/3/1995
Baleares	Decreto 139/1996 de 5 de julio	BOCAIB 20/07/1996
Cantabria	Decreto 22/1990 de 7 de mayo	BOC 25/5/1990
Castilla y León	Decreto 204/1994 de 15 de septiembre	BOC y L 21/9/1994
Cataluña	Decreto 71/1994 de 22 de febrero	DOGC 13/4/1994
Extremadura	Decreto 135/1996 de 3 de septiembre	DOE 14/9/1996
Galicia	Decreto 460/1997 de 21 de noviembre	DOGA 19/12/1997
La Rioja	Decreto 51/1993 de 11 de noviembre	BOR 16/11/1993
Madrid	Decreto 83/1999 de 3 de junio	BOCM 14/6/1999
Navarra	Decreto 181/1994 de 3 de octubre	BON 19/10/1994
Valencia	Decreto 240/1994 de 22 de noviembre	DOGV 5/12/1994
País Vasco	Decreto 313/1996 de 24 de diciembre	BOPV 21/1/1997

Para cualquier observación o sugerencia en relación con esta Guía  
puede dirigirse al

**Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo**

Centro Nacional de Nuevas Tecnologías.

C/ Torrelaguna, 73 - 28027 MADRID

Tfn. 91 403 70 00 Fax 91 326 28 86

Correo electrónico [cntinsht@mtas.es](mailto:cntinsht@mtas.es)



MINISTERIO  
DE TRABAJO  
Y ASUNTOS SOCIALES



INSTITUTO NACIONAL  
DE SEGURIDAD E HIGIENE  
EN EL TRABAJO

ISBN: 84-7495-577-5  
D.L.M. 14250/01  
N.I.P.O.: 211-01-009-5