



---

## Notas sobre Bioseguridad

---

### Principales agentes microbianos reportados como causantes potenciales de infecciones de laboratorio (I)

Rosandra Mazzali de Ilja

---

**Resumen:** El nivel 4 de bioseguridad para manejo de animales de experimentación debe utilizarse para trabajar con microorganismos exóticos de alta peligrosidad, capaces de producir infecciones graves y hasta mortales en el personal, transmitidos por aerosol y agentes relacionados con riesgos de transmisión desconocida. Para todas las actividades a este nivel se requieren combinación de prácticas especiales, equipos de seguridad y requisitos de las instalaciones del Nivel 4 para manejo de animales de experimentación.

### Biosecurity level 4 (II) Animal Biosecurity

**Abstract:** Animal biosecurity level 4 should be applied to work with exotic agents of highly hazardous, able to produce serious and mortal infectious diseases in the laboratory personnel, with high risk of aerosol transmitted infections and unknown transmission. For all the activities at this level, combination of special practices, safety equipment, animal facilities and animal practices applicable to work on animals infected with agents assigned to corresponding biosecurity level 4 are required

A título ilustrativo de lo descrito en capítulos previos, mencionaremos brevemente los más relevantes agentes responsables de las principales contaminaciones a las cuales pudiera estar sometido el personal que presta sus servicios en laboratorios microbiológicos. Los mismos corresponden a los diferentes grupos taxonómicos en los cuales se han clasificado los agentes microbianos: PARASITOS, HONGOS, BACTERIAS, MYCOPLASMAS, RICKETTSIAS, CHLAMIDIAS Y VIRUS, estos últimos reunidos en dos grandes grupos el de los arbovirus y el resto. En vista de lo amplio del tema trataremos en esta primera parte solo los parásitos, hongos y bacteria, el resto lo evaluaremos en el próximo número.

#### Parasitos

Dentro de este gran grupo podemos encontrar nemátodos, protozoarios, tremátodos y céstodos, todos ellos de origen humano. Para el manejo de estos potenciales con-

taminantes se recomienda el empleo de las prácticas del nivel 2 de bioseguridad.

#### a. Nemátodos

Infecciones asociadas con *Ascaris* spp., *Strongyloides* spp. y *Enterobius* spp., han sido ampliamente reportadas. Uno de los episodios más frecuentes lo representan las reacciones alérgicas a los componentes antigénicos de los nemátodos, particularmente los provenientes de los aerosoles de los antígenos de *Ascaris*, en individuos sensibilizados. Infecciones accidentales, asociadas con animales de laboratorio, incluyendo artrópodos, no han sido reportadas, en cambio se ha comprobado que las larvas infecciosas, provenientes de primates, constituyen un riesgo potencial tanto para los animales de laboratorio, como para el personal que se encarga de su cuidado.

Las larvas y los huevos presentes en muestras de heces frescas de huéspedes infectados no son infecciosas de inmediato sino al cabo de días o semanas. En cambio en el caso de la *Trichinella* tanto el tejido fresco como el digeri-

do, puede contener larvas que suelen contaminar si son ingeridas. Tanto la ingestión de huevos como la penetración de larvas a través de la piel, constituyen las principales fuentes de infección, tanto por parte del operador como de los animales bajo su cuidado. Las filarias que infectan algunos artrópodos también son agentes de alto riesgo para este tipo de personal.

## b. Protozoarios

Dentro de este grupo de parásitos se han reportado una gran variedad de contaminaciones asociadas a infecciones de laboratorio, entre ellos: *Toxoplasma* spp., *Plasmodium* spp., *Trypanosoma* spp., *Entamoeba* spp., *Coccidia* spp., *Giardia* spp., *Leishmania* spp., *Sarcocystis* spp., y *Cryptosporidia* spp. Los estadios infecciosos de estos parásitos pueden estar presentes, tanto en sangre como en heces, exudados, o artrópodos infectados, pudiendo transmitirse por: ingestión, penetración por la piel a través de heridas o de microabrasiones, inoculación parenteral accidental (IPA) o por vectores. Cuando se manipulan cultivos de *Naegleria fowleri*, *Leishmania* spp., *T. cruzi*, tejido homogeneizados o muestras de sangre que contienen hemoflagelados, las vías de riesgos mas frecuentes son los aerosoles o exposición a través de goticas o salpicaduras de las membranas de ojos, nariz y boca.

## c. Tremátodos

Se han reportado contaminaciones asociadas al personal de laboratorio con: *Schistosoma* spp. y *Fasciola* spp., ninguna de ellas asociadas directamente al manejo de animales. Estadios infecciosos de cercarias y metacercarias de dichas especies han sido detectadas en aguas estancadas y en plantas acuáticas de acuarios de laboratorios que mantienen ciertos tipos de reptiles como huéspedes intermediarios del parásito. La principal vía de contaminación para el operador es la dérmica para las cercarias de *Schistosoma*, así como la ingesta de metacercarias.

## d. Céstodos

Aunque no se han reportados contaminaciones de laboratorio asociadas con los géneros y especies incluidas en este grupo, infecciones por *Echinococcus granulosus*, *Taenia solium* (*Cysticercus cellulosae*) e *Hymenolepis nana* pueden ocurrir por ingesta accidental de huevos, en el caso de las dos primeras. En relación con *H. nana*, por tratarse de un parásito cosmopolita, no requiere un huésped intermedio, siendo transmitido directamente por ingestión de heces provenientes tanto de humanos como de animales (roedores). Huevos infectantes pueden estar presentes en heces de perro y otros cánidos, en el caso de *E. granulosus*, o en heces humanas, para *T. solium*. Aunque los quistes del primero no son infecciosos para el humano, la ingestión de quistes que contengan larvas de *T.*

*solium* si lo son; igualmente los huevos de *H. nana* provenientes de heces del huésped, pueden ocasionar infecciones intestinales.

## Hongos

Los principales hongos responsables de accidentes de laboratorio son: *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*, *Sporothrix schenckii*; especies patógenas de los géneros: *Epidermophyton*, *Microsporum* y *Trichophyton*, así como una gran variedad de mohos: *Cladosporium* (*Xylohypha*) *trichoides*, *Cladosporium bantianum*, *Penicillium marnefei*, *Exophiala* (*Wangiella*) *dermatitidis*, *Fonsecaea pedrosoi* y *Dactylaria gallopava* (*Ochroconis gallopavum*). Aunque con varios de dichos mohos no se han reportado contaminaciones de laboratorio la gravedad que representa la adquisición de dichas infecciones es suficiente como para tomar medidas especiales de prevención. La ingestión de conidias provenientes de cultivos de mohos esporulados, así como su IPA en piel, constituyen un riesgo potencial para el personal del laboratorio. En general todos los hongos citados, pueden manipularse en nivel 2 de bioseguridad, a excepción de *H. capsulatum*, que debe serlo en nivel 3; también se recomienda éste en los laboratorios de producción de grandes volúmenes de cultivos de todos los mencionados hongos.

- a. *Blastomyces dermatitidis* Numerosos reportes involucran a esta especie con accidentes de laboratorio, particularmente por IPA con tejidos, cultivos (levaduras) y por inhalación de sus formas esporuladas (conidias).
- b. *Coccidioides immitis* Un hecho curioso en relación con este hongo es que un 90% de los casos reportados como accidentes de laboratorio, resultaron en enfermedades clínicas, mientras que la mitad de las infecciones adquiridas en forma natural son asintomáticas. Debido a su pequeño tamaño (2-5 milimicras), las artroconidias son dispersadas en aerosoles que fácilmente invaden las vías pulmonares del operador, no así las esférulas de 30-60 milimicras. Estas últimas pueden estar presentes tanto en muestras clínicas como en tejidos de animales, en cambio las artroconidias se hallan en cultivos levaduriformes y en especímenes de tierras ambientales.
- c. *Cryptococcus neoformans* Si bien son muy escasos los reportes al respecto, se han presentados casos de contaminaciones de laboratorio por pinchazos con objetos punzantes altamente contaminado con formas encapsuladas del hongo, pero que curiosamente no presentaron manifestaciones clínicas de infección ni local ni sistémica.
- d. *Histoplasma capsulatum* Numerosos reportes dan cuenta de accidentes por este hongo en laboratorios

tanto clínicos como de investigación, incluyendo tanto infecciones pulmonares, por manipulación de cultivos (levaduras), como locales por IPA, recolección y procesamiento de muestras de tierra provenientes de áreas endémicas, etc. El pequeño tamaño de sus conidias infecciosas (menos de 5 micras) son responsables de patologías intrapulmonares por inhalación. El estadio infeccioso (conidia) de este hongo dimórfico se encuentra presente tanto en cultivos como en tierras, mientras que las formas levaduriformes se hallan solo en especímenes clínicos (tejidos y fluidos), pudiendo ocasionar infecciones locales por IPA.

- e. *Sporothrix schenckii*. Este hongo ha sido responsable de un importante número de infecciones, tanto de piel como oculares, en personal de laboratorio, asociadas con: salpicaduras con cultivos, IPA, mordeduras de animales de experimentación, manejo de cultivos, necropsias, etc., sin embargo no se han reportado casos de infección pulmonar, pese a que ello sí ocurre como resultado de inhalación en forma natural.
- f. **Géneros:** *Epidermophyton*, *Microsporum* y *Trichophyton* Pese a que tanto la piel como los cabellos y las uñas de los humanos suelen infectarse fácilmente con estos hongos dermatofitos, el procesamiento de muestras clínicas provenientes de pacientes no constituye un riesgo de infección en el laboratorio. La mayoría de los casos reportados fueron adquiridos a través de contactos con animales de laboratorio, infectados natural o experimentalmente (ratones, conejos, acures, etc.), y en contadas ocasiones por manipulación de cultivos.
- g. **Mohos varios** Numerosas especies de hongos ambientales han sido responsables de infecciones serias en sujetos inmunocomprometidos, bien sea por inhalación o por IPA. Entre ellos podemos citar: *Cladosporium* (Xylohypha) *trichoides*, *Cladosporium bantianum*, *Penicillium marnefei*, *Exophiala* (Wangiella) *dermatitidis*, *Fonsecaea pedrosoi* y *Dactylaria gallopava* (Ochroconis gallopava). Aunque hay muy pocos reportes de accidentes de laboratorio con estos mohos, la gravedad de las infecciones adquiridas en forma natural es suficiente como para que se extremen las precauciones en el laboratorio, durante su manipulación. La inhalación y la IPA son riesgos potenciales a tomar en cuenta.

## Bacterias

Entre las principales bacterias descritas como responsables de accidentes de laboratorio, se encuentran las siguientes: *Bacillus anthracis*; *Bordetella pertussis*; numerosas especies del género *Brucella* (*B. abortus*, *B. canis*, *B. melitensis* y *B. suis*); *Campylobacter* (*C. jejuni* / *C. coli*, *C. fetus subespecie fetus*); *Clostridium* (*C. botulinum* y *C. tetani*); *Corynebacterium diptheria*; *Francisella tularensis*; *Leptospira interrogans* (todas sus serovariantes);

*Legionella pneumophila* y otros agentes similares; *Mycobacterium tuberculosis*, *M. leprae*, *M. bovis*, *M. spp.*; *Neisseria* (*N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis*); *Pseudomonas pseudomallei*; *Salmonella typhi* y otros serotipos; *Shigella* spp.; *Treponema pallidum*; *Vibrio cholerae*, *V. parahaemoliticus*; *Yersinia pestis*, etc.

Todos los agentes bacterianos citados se manipulan en laboratorios microbiológicos de nivel 2 de bioseguridad para fines diagnósticos, pero al tratarse de grandes volúmenes y altas concentraciones de cultivos, se recomienda el empleo del nivel 3.

- a. *Bacillus anthracis* Antes de finales de los años 50, fecha en la cual se introdujo la vacuna contra esta bacteria, fueron numerosos los casos de anthrax asociados con infecciones de laboratorio, principalmente en los de investigación. El agente puede estar presente tanto en: sangre como en lesiones de piel, LCR, líquido pleural, esputos y en escasos casos en orina y heces. Los principales riesgos relacionados con esta bacteria son: contacto directo o indirecto de piel sana o lesionada con cultivos o superficies contaminadas, IPA y con menor frecuencia por inhalación de aerosoles.
- b. *Bordetella pertussis* La mayoría de las infecciones adquiridas en el laboratorio (IAL) por esta bacteria no provienen del resultado de la manipulación de muestras clínicas o cultivos, sino de infecciones secundarias provenientes de laboratorios de investigación, donde se manejan grandes volúmenes de material infeccioso, en personal que frecuenta el área pero que no trabaja en ella. La *B. pertussis* puede estar presente en sangre o tejidos, por lo tanto la ruta de más riesgo es el contacto con aerosoles, que se generan durante la manipulación de cultivos o de suspensiones altamente concentradas de la bacteria.
- c. **Género *Brucella*** (*B. abortus*, *B. canis*, *B. melitensis*, *B. suis*). La brucelosis es la más frecuente contaminación bacteriana asociada a IAL, manifestando en algunos casos hipersensibilidad a sus antígenos y con menor frecuencia contagio a partir de animales infectados, bien sea de forma natural o experimental, así como de sus tejidos. El microorganismo puede estar presente en: sangre, LCR, semen y ocasionalmente en orina. El contagio suele presentarse por: muestras provenientes de animales, aerosoles, pipeteo bucal, IPA, salpicaduras en ojos, nariz y boca.
- d. **Género *Campylobacter*** (*C. jejuni* / *C. coli*, *C. fetus* subsp. *Fetus*). Si bien la gastroenteritis causada por *C. jejuni* / *C. coli* como IAL no es muy frecuente, debe prestarse sumo cuidado en el manejo de estas bacterias por su amplia diseminación en varias especies de animales, tanto domésticos como salvajes (pollos, mascotas, animales de granja y de laboratorio, así como una

gran variedad de aves salvajes), que pudieran constituir potenciales riesgos, tanto para el personal de laboratorio como para los que tienen a su cargo el cuidado de animales de experimentación. *C. fetus* subsp. *Fetus* puede además estar presente en: sangre, exudado de abscesos, tejidos y esputo, mientras que para *C. jejuni* la ingestión y la IPA constituyen el principal riesgo.

- e.** *Clostridium botulinum* El mayor riesgo durante la manipulación de esta bacteria lo constituye su toxina, siendo su ingestión o IPA las causas más frecuentes de accidentes en el laboratorio. No se consideran una importante fuente de riesgo ni las salpicaduras ni la producción de aerosoles. Para la prevención de este tipo de accidentes se recomienda la administración del toxoide tétano-difteria para adultos, a intervalos de 10 años, en todo el personal que labora en estas dependencias.
- f.** *Corynebacterium diphtheria* Las IAL por esta bacteria han sido ampliamente documentadas, tanto en laboratorios como en áreas de animales de experimentación; la misma puede estar presente en: exudados y secreciones de nariz, garganta (amígdalas), faringe, laringe, cortaduras y sangre. Es por ello que tanto la inhalación como la IPA, son las vías más frecuentes de contaminación.
- g.** *Francisella tularensis*. Ocupa el tercer lugar entre las causas más frecuentes asociadas a IAL, la mayoría de las veces en dependencias relacionadas con investigación, en menor grado con animales y sus ectoparásitos. Suele estar presente en las siguientes muestras: exudados de lesiones, secreciones respiratorias, LCR, sangre, orina, tejidos de animales y artrópodos. Sus vías de contagio son: contacto directo con piel y mucosas, IPA, ingestión, exposición a salpicaduras y aerosoles.
- h.** *Leptospira interrogans*. Su fuente de infección son los fluidos y tejidos provenientes de mamíferos infectados natural o experimentalmente, durante su manejo, cuidado o necropsias; la bacteria se presenta en muestras de: orina, sangre y tejidos infectados.
- i.** *Legionella pneumophila*. Se presume que la principal vía de contagio sea la de aerosoles o salpicaduras, durante la experimentación en animales; no se han reportado casos de diseminación de humano a humano. Se encuentra presente en: líquido pleural, tejidos, esputo, fuentes ambientales (torres de enfriamiento de agua, sobre todo de aires acondicionados).
- j.** *Mycobacterium leprae*. Se han reportado IAL tanto por IPA como por el uso de agujas contaminadas en la elaboración de tatuajes, no así por el manejo mismo de la bacteria a partir de especímenes, tanto de biopsias como las provenientes de animales y humanos. A pesar de haberse reportado su presencia en armadillos y primates, se considera como su principal reservorio al humano.
- k.** *Mycobacterium* spp. Es muy probable que algunas de las IAL (ej.: tuberculosis no pulmonar), sean debidas a estas especies, diferentes de *M. tuberculosis* y *M. bovis*. Se ha determinado que una gran variedad de micobacterias que son ubicuas en la naturaleza, está asociada a otras enfermedades, tanto en animales domésticos y salvajes, como en humanos; dichos microorganismos son infecciosos pero no contagiosos. Clínicamente esas patologías ocasionadas por dichos agentes atípicos, pueden clasificarse en 3 grandes grupos: las enfermedades pulmonares parecidas a tuberculosis (*M. kansasii*, *M. avium* complex, con menos frecuencia: *M. xenopi*, *M. malmoense*, *M. asiaticum*, *M. simiae* y *M. szulgai*); las linfadenitis (*M. scrofulaceum*, *M. avium* complex y con menos frecuencia: *M. fortuitum* y *M. kansasii*); por último úlceras de piel y de tejidos blandos (*M. ulcerans*, *M. marinum*, *M. fortuitum* y *M. chelonae*). Todo este grupo de Mycobacterias pueden hallarse en las siguientes muestras: esputos, exudados de lesiones, tejidos y muestras ambientales (suelos y aguas). Su contagio se lleva a cabo: mediante contacto directo de piel o mucosas con material infeccioso, ingestión, IPA con cultivos y muestras clínicas, así como por los aerosoles que se originan durante la manipulación de cultivos líquidos u homogeneizados de tejidos.
- l.** *Mycobacterium tuberculosis* y *M. bovis* Ambas especies han demostrado ser causas importantes de IAL de hasta 3 veces más que para el personal que no manipula estos agentes. La tasa de conversión anual de tuberculina en operadores que trabajan con primates es de aproximadamente 70: 10.000, comparados con menos de 3: 10.000 en población general. El bacilo se encuentra presente en: esputo, fluido gástrico, LCR, orina y lesiones de una gran variedad de tejidos; su vía de contagio más frecuente es a través de aerosoles.
- m.** *Neisseria gonorrhoeae* Hay varios reportes de IAL por contaminación con esta bacteria, la cual puede encontrarse en: conjuntiva, exudados uretrales y cervicales, líquido sinovial, orina, heces, y LCR. La contaminación puede ocurrir tanto por IPA como por contacto directo o indirecto del operador con material infeccioso.
- n.** *Neisseria meningitidis* Esta bacteria suele hallarse en: exudados faríngeos, LCR, sangre y saliva, por lo tanto las vías más frecuentes de riesgo son: IPA, exposición de mucosas, aerosoles e ingestión.
- o.** *Pseudomonas pseudomallei* Los escasos estudios reportados en relación a esta bacteria como responsable

de IAL, están asociados a exposición masiva a aerosoles y a contactos a través de la piel del operador.

- p.** *Salmonella*, todos los serotipos excepto *S. typhi*. La salmonellosis es una de las más documentadas IAL, ya que los reservorios primarios de la bacteria lo constituyen un amplio espectro de animales, tanto domésticos como selváticos (aves, mamíferos y reptiles). La misma se encuentra presente en: heces, orina, sangre, alimentos para animales y en varios materiales ambientales. Los principales riesgos en el laboratorio son la IPA y la ingestión; los animales natural o experimentalmente infectados, etc.
- q.** *Salmonella typhi* Se encuentra presente en: heces, sangre, bilis y orina; el humano es el único reservorio natural conocido. La IPA y la ingestión de la bacteria representan los riesgos primarios más importantes.
- r.** *Shigella* spp Esta bacteria es la responsable de decenas de caso de IAL en todo el mundo; aunque la mayoría de los brotes han ocurrido en lotes de primates cautivos, al humano se le considera el único reservorio de importancia. Adicionalmente tanto los acures, otros roedores y primates infectados experimentalmente, pueden convertirse en fuentes de riesgo. Esta bacteria se encuentra presente en: heces y muy escasamente en sangre de humanos y animales infectados; la IPA y la ingestión son las rutas primarias de riesgo.
- s.** *Treponema pallidum* Esta bacteria es una bien documentada causa de IAL para el personal que manipula o toma muestras clínicas de lesiones cutáneas de pacientes con sífilis. El humano es el único reservorio natural de este microorganismo, encontrándose en sangre circulante y lesiones cutáneas, tanto durante la sífilis primaria como secundaria. Hay sin embargo reportes que lo asocian con contaminaciones del operador durante la manipulación de suspensiones concentradas obtenidas de lesiones experimentalmente inducidas en animales de experimentación. Los principales riesgos en el laboratorio los constituyen: la IPA, contactos de piel erosionada o mucosas y muy probablemente por aerosoles.
- t.** *Vibrio cholerae* y *V. parahaemolyticus* Si bien los reportes de IAL (enteritis) causados por ambos vibrios son muy escasos, el hecho de que se encuentren en forma abundante en las heces, hace que constituyan alto riesgo tanto la IPA y la ingestión del agente.
- u.** *Yersinia pestis* Los reportes al respecto son escasos, pero tomando en cuenta que esta bacteria se encuentra presente en: líquido de los bubones, sangre, esputo, LCR, heces y orina de los humanos, la convierten en una potencial IAL, dependiendo de su forma clínica y

del estadio de la enfermedad. Los riesgos primarios de contagio son: contacto directo con los cultivos y especímenes tanto de humanos como de roedores, aerosoles, gotitas generadas durante su manipulación, IPA, ingestión y picaduras de insectos provenientes de roedores.

## Referencia

Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Sección 7: Agent Summary Statements. pp. 74-102. CDC-NIH, 1993.