

NTP 585: Prevención del riesgo biológico en el laboratorio: trabajo con bacterias

Prevention du risque biologique au laboratoire: Travail avec des bactéries
Biological risk prevention in the laboratory: Work with bacterium

Redactoras:

Rosa M^a Alonso Espadalé Lda. en Ciencias Biológicas

Angelina Constans Aubert Ingeniero Técnico Químico

CENTRO NACIONAL DE CONDICIONES DE TRABAJO

*Esta Nota Técnica de Prevención contiene información específica relativa al trabajo con bacterias en el laboratorio. Se describen algunas de las especies bacterianas que pueden resultar patógenas para el personal expuesto así como las recomendaciones de seguridad biológica. Con ella se cierra la serie de NTP sobre la Prevención del riesgo biológico en el laboratorio **NTP 520** (Trabajo con virus), **NTP 539** (Trabajo con hongos) y **NTP 545** (Trabajo con parásitos).*

Introducción

La mayoría de las especies bacterianas desempeñan actividades esenciales en la naturaleza y muchas están asociadas a las plantas o a los animales mediante relaciones estables y beneficiosas; sin embargo, existen otras especies que pueden ser patógenas para el ser humano.

Los laboratorios, por su propia naturaleza, son áreas donde se manipulan muestras biológicas potencialmente peligrosas y donde existe una mayor probabilidad de contagio. Los estudios sobre infecciones adquiridas por el personal de laboratorio han puesto de manifiesto la importancia no sólo de las que se producen de forma accidental sino de las que se deben a la manipulación diaria de muestras potencialmente peligrosas. En este sentido interesa establecer procedimientos de seguridad específicos para cada agente biológico a fin de minimizar la exposición y garantizar un ambiente de trabajo seguro.

El **Real Decreto 664/1997**, sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos, establece para el trabajo con microorganismos, así como para aquellas actividades que implican la manipulación de animales vertebrados infectados tanto de forma natural como deliberadamente, cuatro niveles de contención o de seguridad biológica. Los niveles de contención se describen en la **NTP 468** (Trabajo con animales de experimentación), por lo que aquí únicamente se muestra el nivel de

contención que corresponde a cada agente dentro del grupo bacterias y afines (ver **tabla 1**).

Además, en cualquier caso, deben aplicarse también las medidas generales de seguridad relativas a la higiene personal, al trabajo seguro y las buenas prácticas frente al riesgo biológico (y también, obviamente, frente a otros riesgos característicos del laboratorio), utilizando en cada caso los equipos de protección adecuados (véase la **NTP 376** Exposición a agentes biológicos: Seguridad y buenas prácticas de laboratorio).

Características generales de las bacterias

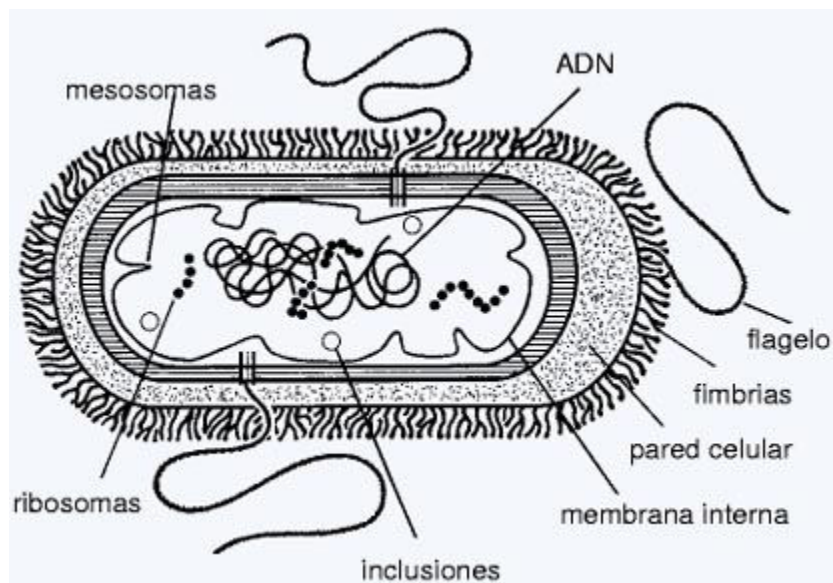
Se distinguen dos tipos básicos de células en función de su organización interna: células procariotas y células eucariotas. En la célula procariota, a diferencia de la eucariota, la región nuclear no está rodeada por una membrana, consta de una única molécula de ácido desoxirribonucleico (DNA) y su división no es mitótica. Las bacterias constituyen un grupo numeroso y heterogéneo dentro de los procariotas (**figura 1**).

En la estructura celular procariota típica de una bacteria se pueden distinguir, en general, las siguientes partes:

1. Pared celular: Estructura relativamente rígida que rodea externamente a la membrana citoplasmática, que confiere la forma a la célula y la protege de un entorno osmótico hostil. Aunque existen bacterias patógenas que carecen de pared celular como por ejemplo el género *Mycoplasma*, la presencia de la pared celular es un factor determinante del poder patógeno bacteriano. En las bacterias Gram negativas las endotoxinas se localizan en la pared celular.
2. Membrana citoplasmática: Es la barrera esencial de permeabilidad que separa el interior del exterior de la célula.
3. Ribosomas: Son pequeñas partículas compuestas de ácido ribonucleico (RNA) y proteínas. Constituyen la parte fundamental de la maquinaria implicada en la síntesis proteica.
4. Inclusiones: Son acúmulos de materiales de reserva como carbono, nitrógeno, azufre o fósforo y se forman cuando estos compuestos se encuentran en exceso en el medio ambiente, con el fin de poder ser utilizados en situaciones de carencia.
5. Zona nuclear: Las células procariotas no poseen un verdadero núcleo. La función del núcleo la realiza una única molécula de DNA.
6. Flagelos: Estructuras formadas por una única proteína tubular enrollada responsable del desplazamiento de las bacterias. Estas estructuras están presentes en la mayoría de las bacterias.
7. Fimbrias y pili: Son estructuras muy semejantes a los flagelos, pero que no participan en la movilidad. En el caso de las fimbrias no se conoce con certeza su función, pero parece ser que favorecen, en algunas bacterias patógenas, su fijación a las superficies y tejidos animales. Los pili participan en el proceso de conjugación de los procariotas y contribuyen igualmente a la fijación de algunas bacterias patógenas en los tejidos humanos.

8. Cápsulas y capas mucosas (glicocáliz): Es el material polisacárido que se extiende alrededor de la célula, cuya composición química puede variar en las diferentes especies y, en función de ésta, puede ser grueso o delgado, rígido o flexible. El glicocáliz interviene en la fijación de ciertos microorganismos patógenos a sus hospedadores.
9. Endosporas: Estado de reposo derivado de situaciones medioambientales producidas por algunas bacterias Gram positivas. Son resistentes al calor, a los agentes químicos, incluidos los desinfectantes, a la desecación, a la radiación. Pueden permanecer en estado latente durante períodos de tiempo muy largos y cuando las condiciones se tornan favorables, volver a la forma funcional normal.

FIGURA 1
Estructura de la célula bacteriana



Existen una serie de criterios que se utilizan habitualmente en microbiología a fin de caracterizar las diferentes especies bacterianas. El conocimiento de esta información es fundamental a la hora de diseñar procedimientos de seguridad biológica aplicables de forma específica a cada germen:

1. Morfología celular: Es muy variable, pudiendo ser de forma esférica u ovoide (cocos), cilíndrica (bacilos), espiral (espirilos), de coma (vibrio), de sacacorchos (espiroquetas) y filamentosa. La morfología permite agrupar y facilitar su identificación.
2. Tinción de Gram: Es la tinción diferencial más útil en un laboratorio de microbiología para identificar a una bacteria. Dependiendo del resultado de la tinción las bacterias se dividen en dos grupos: Gram positivas (color púrpura) y Gram negativas (color rojo). La distinción entre estos dos grupos se basa en las diferencias de composición química que presentan sus paredes celulares y en la presencia de la membrana externa (las Gram positiva carecen de membrana externa).
3. Producción de toxinas: Es uno de los mecanismos de patogenicidad que poseen algunas bacterias. Se pueden distinguir:

- Exotoxinas: Son toxinas excretadas por algunas bacterias a lo largo de su crecimiento y que se liberan al medio extracelular, como por ejemplo la toxina tetánica que produce Clostridium tetani.
- Enterotoxinas: Son exotoxinas que actúan a nivel del intestino delgado como por ejemplo la que produce Escherichia coli.
- Endotoxinas: Las bacterias Gram negativo producen lipopolisacáridos como parte de la capa externa de su pared celular que, en determinadas condiciones, son tóxicos. Las especies conocidas que producen endotoxinas son Salmonella, Shigella y Escherichia coli.

TABLA 1

Lista del grupo bacterias y afines que se contemplan en el R. D. 664/1997 sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos

Agente biológico	Clasificación	Notas
Actinobacillus actinomycetemcomitans	2	
Actinomadura madurae	2	
Actinomadura pelletieri	2	
Actinomyces gerencseriae	2	
Actinomyces israelii	2	
Actinomyces pyogenes	2	
Actinomyces spp	2	
Arcanobacterium haemolyticum (Corynebacterium haemolyticum)	2	
Bacillus anthracis	3	
Bacteroides fragilis	2	
Bartonella bacilliformis	2	
Bartonella quintana (Rochalimea quintana)	2	
Bartonella (Rochalimea) spp	2	
Bordetella bronchiseptica	2	
Bordetella parapertussis	2	
Bordetella pertussis	2	V
Borrelia burgdorferi	2	
Borrelia duttonii	2	
Borrelia recurrentes	2	
Borrelia spp	2	
Brucella abortus	3	
Brucella canis	3	
Brucella melitensis	3	
Brucella suis	3	

Burkholderia mallei (Pseudomonas mallei)	3	
Burkholderia pseudomallei (Pseudomonas pseudomallei)	3	
Campylobacter fetus	2	
Campylobacter jejuni	2	
Campylobacter spp	2	
Cardiobacterium hominis	2	
Chlamydia pneumoniae	2	
Chlamydia trachomatis	2	
Chlamydia psittaci (cepas aviares)	3	
Chlamydia psittaci (cepas no aviares)	2	
Clostridium botulinum	2	T
Clostridium perfringens	2	
Clostridium tetani	2	T, V
Clostridium spp	2	
Corynebacterium diphtheriae	2	T, V
Corynebacterium minutissimum	2	
Corynebacterium pseudotuberculosis	2	
Corynebacterium spp	2	
Coxiella burnetii	3	
Edwardsiella tarda	2	
Ehrlichia sennetsu (Rickettsia sennetsu)	2	
Ehrlichia spp	2	
Eikenella corrodens	2	
Enterobacter aerogenes/cloacae	2	
Enterobacter spp	2	
Enterococcus spp	2	
Erysipelothrix rhusiopathiae	2	
Escherichia coli (excepto las cepas no patógenas)	2	
Escherichia coli, cepas verocitotóxicas (por ejemplo O157:H7 u O103)	3 (*)	T
Flavobacterium meningosepticum	2	
Fluoribacter bozemanae (Legionella)	2	
Francisella tularensis (tipo A)	3	
Francisella tularensis (tipo B)	2	
Fusobacterium necrophorum	2	
Gardnerella vaginalis	2	
Haemophilus ducreyi	2	
Haemophilus influenzae	2	
Haemophilus spp	2	
Helicobacter pylori	2	

Klebsiella oxytoca	2	
Klebsiella pneumoniae	2	
Klebsiella spp	2	
Legionella pneumophila	2	
Legionella spp	2	
Leptospira interrogans (todos los serotipos)	2	
Listeria monocytogenes	2	
Listeria ivanovii	2	
Morganella morganii	2	
Mycobacterium africanum	3	V
Mycobacterium avium/intracellulare	2	
Mycobacterium bovis (excepto la cepa BCG)	3	V
Mycobacterium chelonae	2	
Mycobacterium fortuitum	2	
Mycobacterium kansasii	2	
Mycobacterium leprae	3	
Mycobacterium malmoense	2	
Mycobacterium marinum	2	
Mycobacterium microti	3 (*)	
Mycobacterium paratuberculosis	2	
Mycobacterium scrofulaceum	2	
Mycobacterium simiae	2	
Mycobacterium szulgai	2	
Mycobacterium tuberculosis	3	V
Mycobacterium ulcerans	3 (*)	
Mycobacterium xenopi	2	
Mycoplasma caviae	2	
Mycoplasma hominis	2	
Mycoplasma pneumoniae	2	
Neisseria gonorrhoeae	2	
Neisseria meningitidis	2	V
Nocardia asteroides	2	
Nocardia brasiliensis	2	
Nocardia farcinica	2	
Nocardia nova	2	
Nocardia otitidiscaviarum	2	
Pasteurella multocida	2	
Pasteurella spp	2	
Peptostreptococcus anaerobius	2	

Plesiomonas shigelloides	2	
Porphyromonas spp	2	
Prevotella spp	2	
Proteus mirabilis	2	
Proteus penneri	2	
Proteus vulgaris	2	
Providencia alcalifaciens	2	
Providencia rettgeri	2	
Providencia spp	2	
Pseudomonas aeruginosa	2	
Rhodococcus equi	2	
Rickettsia akari	3 (*)	
Rickettsia canada	3 (*)	
Rickettsia conorii	3	
Rickettsia montana	3 (*)	
Rickettsia typhi (Rickettsia mooseri)	3	
Rickettsia prowazekii	3	
Rickettsia rickettsii	3	
Rickettsia tsutsugamushi	3	
Rickettsia spp	2	
Salmonella arizonae	2	
Salmonella enteritidis	2	
Salmonella typhimurium	2	
Salmonella paratyphi A, B, C	2	V
Salmonella typhi	3 (*)	V
Salmonella (otras variedades serológicas)	2	
Serpulina spp	2	
Shigella boydii	2	
Shigella dysenteriae (tipo 1)	3 (*)	T
Shigella disenteriae, con excepción del tipo 1	2	
Shigella flexneri	2	
Shigella sonnei	2	
Staphylococcus aureus	2	
Streptobacillus moniliformis	2	
Streptococcus pneumoniae	2	
Streptococcus pyogenes	2	
Streptococcus suis	2	
Streptococcus spp	2	
Treponema carateum	2	

Treponema pallidum	2	
Treponema pertenue	2	
Treponema spp	2	
Vibrio cholerae (incluido El Tor)	2	
Vibrio parahaemolyticus	2	
Vibrio spp	2	
Yersinia enterocolitica	2	
Yersinia pestis	3	V
Yersinia pseudotuberculosis	2	
Yersinia spp	2	

T: producción de toxinas.

V: vacuna eficaz disponible.

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

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

Nota. La lista ha sido actualizada según la versión inglesa de la Directiva 2000/54/CE de 18 de setiembre de 2000 sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo.

Agentes bacterianos

En el **RD 664/1997** figura una exhaustiva lista de especies bacterianas las cuales es imposible tratar en este documento; las que se describen a continuación son algunas de las más representativas que pueden constituir un peligro para el personal que manipula muestras con dichos agentes.

En la descripción de cada agente se exponen las características morfológicas, los principales peligros que comporta la manipulación de estos gérmenes en el laboratorio y las precauciones recomendadas.

En cualquier caso, e independientemente del agente bacteriano manipulado, debe ser una práctica universal la utilización de bata y guantes, prácticas de higiene personal correctas y lavado frecuente de las manos, tal como ya se ha comentado.

Bacillus anthracis (carbunco)

Es un bacilo grande Gram positivo, inmóvil, aeróbico y productor de esporas. El germen, por sí mismo, es frágil, pero en forma de spora (endospora) es muy resistente a las variaciones de temperatura y a la desecación.

La virulencia de este germen parece ser que va ligada a la cápsula, ya que las cepas no capsuladas no son virulentas. La acción antifagocitaria de la cápsula está reforzada por la excreción de toxinas.

El reservorio está constituido generalmente por animales herbívoros. Las bacterias se eliminan por la orina y las heces.

La enfermedad que produce es el carbunco que afecta al ganado, aunque también puede afectar al hombre de tres formas. La cutánea, que es la más frecuente, provoca la formación de una pústula maligna acompañada de fiebre. La pulmonar, así como la septicemia generalizada consecuencia del carbunco intestinal, son mucho más graves, pudiendo llegar a producir la muerte, aunque se producen de forma menos frecuente. No deben confundirse los términos carbunco y ántrax, ya que se trata de dos enfermedades con distinta etiología, aunque sean denominadas en inglés anthrax. El agente etiológico del carbunco es *Bacillus anthracis*, mientras que el del ántrax es *Staphylococcus aureus*.

- *Peligros en el laboratorio*

El agente se puede encontrar en la sangre y otros fluidos biológicos, en exudados de lesiones cutáneas, en la orina, en las heces y en diferentes productos producidos a partir de animales infectados de forma natural o experimental.

El principal peligro para el personal de laboratorio se produce por contacto directo e indirecto de la piel con cultivos y superficies contaminadas, inoculación parenteral (generalmente de forma accidental) y exposición a aerosoles infecciosos.

- *Precauciones recomendadas*

En general para las diferentes actividades de laboratorio que impliquen la manipulación de muestras potencialmente infecciosas se recomienda un nivel de contención 3. El laboratorio de experimentación animal, con animales potencialmente infectados, también deberá cumplir con las medidas asignadas al nivel de seguridad 3.

Además, los manuales de seguridad biológica de EEUU recomiendan medidas de seguridad adicionales para trabajar con este agente debido a su posible uso con fines de terrorismo biológico.

Clostridium tetani (tétanos)

Es un bacilo Gram positivo, anaerobio estricto, no capsulado, móvil y productor de esporas (endosporas) muy resistentes al calor, a la humedad, a la luz y a los antisépticos. Sintetiza una potente neurotoxina responsable de la enfermedad (tétanos). La toxina es termolábil e inactivable con el oxígeno del aire. Su hábitat es el suelo, especialmente la tierra de cultivo, así como el intestino del hombre y los animales.

- *Peligros en el laboratorio*

Los principales peligros para el personal de laboratorio son la inoculación parenteral y la ingestión de la toxina. Se desconoce si la toxina tetánica puede absorberse a través de las mucosas así como los peligros asociados a la exposición a sus aerosoles y gotículas.

- *Precauciones recomendadas*

Se recomienda un nivel de contención 2 para la manipulación de los cultivos o de la toxina.

- Para el personal de laboratorio el riesgo de contraer la enfermedad profesional es muy bajo, y la inmunización lo disminuye todavía más.

Escherichia coli (infecciones intestinales)

Es una bacteria entérica que se caracteriza fenotípicamente por ser un bacilo Gram negativo, no esporulado, aeróbico facultativo, oxidasa negativo con requerimientos nutritivos muy sencillos y relativamente resistente a los agentes externos. Es un microorganismo de elección para la investigación en ingeniería genética y biotecnológica.

Se reconocen dos tipos de cepas de E.coli: cepas patógenas que son capaces de adherirse a la superficie mucosa del intestino delgado y cepas no patógenas incapaces de adherirse al intestino delgado o producir enterotoxinas. El R.D. 664/1997 hace referencia únicamente a las cepas patógenas.

- *Peligros en el laboratorio*

Los principales peligros para el personal de laboratorio varían en función de la cepa que se manipula. Se pueden distinguir cuatro grupos principales de cepas capaces de producir potentes enterotoxinas:

1. E. coli enterohemorrágicas o verocitotóxicas (ECEH o ECVT). Las fuentes de contaminación en el laboratorio son los alimentos contaminados y las heces.
2. E. colienteroinvasiva (ECEI). Las fuentes de contaminación en el laboratorio son los alimentos contaminados, las heces, el agua y materiales contaminados.
3. E. coli enteropatógena (ECEP). La fuente de contaminación en el laboratorio son las heces.
4. E. coli enterotóxica (ECET). Las fuentes de contaminación en el laboratorio son los alimentos contaminados, las heces, el agua y materiales contaminados.

- *Precauciones recomendadas*

Los laboratorios de microbiología o de experimentación animal deben adoptar un nivel de contención 2 para la manipulación de cultivos o cualquier tipo de material po-tencialmente infeccioso. Nivel de

contención 3 para las cepas verocitotóxicas de *E. coli* como por ejemplo 0157: H7 u 0103 (nomenclatura que se utiliza para designar los diferentes serotipos).

Las medidas de higiene personal deben ser muy estrictas, ya que la principal vía de entrada es por ingestión.

Francisella tularensis (tularemia)

Es un bacilo Gram negativo, aeróbico, con requerimientos nutritivos específicos, necesita agar sangre enriquecido con cistina para su crecimiento.

En el **RD 664/1997** figuran los dos tipos de *F. tularensis*: tipo A (aislado de roedores y artrópodos; muy virulenta para el ratón y el hombre) y tipo B (aislado del agua y de animales marinos; poco virulenta para el ratón y el hombre).

- *Peligros en el laboratorio*

El principal peligro para el personal de laboratorio, lo constituye la manipulación de fluidos biológicos, secreciones y tejidos de animales infectados. El contacto directo de la piel o de las membranas mucosas con materiales infecciosos, la inoculación parenteral accidental, la ingestión y la exposición a aerosoles y gotículas infecciosas pueden producir la infección.

- *Precauciones recomendadas*

Los laboratorios de microbiología o de experimentación animal deben adoptar un nivel de contención 3 para aquellos trabajos que impliquen la manipulación de tipo A y un nivel de contención 2 para los de tipo B.

Los manuales de seguridad biológica de EEUU recomiendan medidas adicionales de seguridad para trabajar con este agente debido a su posible uso con fines de terrorismo biológico.

Mycobacterium spp

Las micobacterias incluyen un único género *Mycobacterium*, que comprende organismos bacilares, no esporulados y aeróbicos, que en algún momento de su crecimiento poseen la propiedad distintiva de la tinción ácidoalcohol resistente. No se tiñen directamente con la tinción de Gram debido al alto contenido de lípidos en la superficie de la célula micobacteriana, pero si se elimina la fracción lipóide, la célula que queda ya no es ácido-alcohol resistente, y se tiñe positivamente con la tinción de Gram. Son un grupo de gérmenes muy ubicuo que incluye desde saprofitos del agua y del suelo, hasta especies que son estrictamente patógenas para el hombre y otras para el hombre y los animales.

En la **tabla 1** figuran las especies de *Mycobacterium* que enumera el **RD 664/1997** y el nivel de contención establecido para cada una de ellas.

Existen especies de micobacterias diferentes de las que producen la lepra (*M. leprae*) y la tuberculosis en humanos (*M. tuberculosis*, *M. bovis* y *M. africanum*) y que también pueden ser patógenas para el ser humano y que reciben múltiples denominaciones como micobacterias no tuberculosas, paratuberculosas, oportunistas, anónimas, atípicas, etc; estas últimas en función de la enfermedad que producen se pueden dividir en tres categorías:

1. Enfermedades pulmonares parecidas a la tuberculosis: Generalmente producidas por *M. kansasii*, *M. avium* y con menor frecuencia *M. xenopi*, *M. malmoense*, *M. simiae* y *M. szulgai*.
2. Linfadenitis: Infección producida por *M. scrofulaceum*, *M. avium* y en menor frecuencia *M. fortuitum* y *M. kansasii*.
3. Ulceras de piel e infecciones de heridas del tejido blando: Producidas por *M. ulcerans*, *M. marinum*, *M. fortuitum* y *M. chelonae*.

No se conoce con exactitud de la transmisión patógena de estas micobacterias. Sin embargo sí se conocen las vías de entrada en el organismo que pueden ser la vía respiratoria (inhalación), penetración a través de las mucosas de la faringe, inoculación percutánea y en menor importancia por las vías conjuntiva y digestiva.

- *Peligros en el laboratorio*

Manipulación de muestras procedentes del suelo o muestras de agua contaminadas, tejidos, exudados de lesiones y esputos procedentes de enfermos. Debe prestarse especial atención en aquellas técnicas en que se generan aerosoles a fin de evitar la inhalación de los gérmenes asociados a enfermedades pulmonares.

- *Precauciones recomendadas*

Nivel de contención 2 para cualquier trabajo que implique la manipulación de estos agentes, excepto para *M. ulcerans* (nivel de contención 3) tanto en los laboratorios de microbiología como en los de experimentación animal.

M. tuberculosis y M. bovis (tuberculosis)

Son bacilos rectos o ligeramente incurvados, Gram positivo, aeróbicos y que en los productos patológicos pueden presentarse aislados o en agrupaciones de dos o tres elementos adoptando formas en L, V o N que recuerdan a las letras chinas.

La entrada en el organismo se produce por inhalación de aerosoles infecciosos, inoculación parenteral (de forma accidental), contacto directo de las mucosas y por ingestión de estos agentes.

A nivel mundial la tuberculosis es una enfermedad que produce más de tres millones de muertes al año. La incidencia de contraer la enfermedad profesional es elevada debido a que se puede contagiar la enfermedad

simplemente tosiendo sobre individuos no infectados. En este sentido la incidencia de la enfermedad entre el personal de laboratorio que manipula el agente *M. tuberculosis* es tres veces mayor frente a los que no trabajan con él.

- *Peligros en el laboratorio*

Las infecciones con *M. tuberculosis* y *M. bovis* constituyen un peligro probado para el personal de laboratorio, especialmente en la manipulación de las muestras que se emplean en el diagnóstico de la enfermedad como esputos, orina, aspirado gástrico o bronquial, líquido cefalorraquídeo y pleural, tejidos procedentes de animales infectados de forma natural o experimental, etc.

- *Precauciones recomendadas*

Nivel de contención 3 y prácticas higiénicas adecuadas para cualquier trabajo en el laboratorio que implique la manipulación de muestras biológicas potencialmente contaminadas con estos agentes. El laboratorio de experimentación animal también debe adoptar un nivel de contención 3, especialmente en los trabajos con primates (no homínidos) y con pequeños roedores infectados de forma natural o experimental.

Bibliografía

1. HOLT, J.G. (Editor in chief) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* Williams and Wilkins, Baltimore (USA), 1986
2. DAVIS, BERNARD D. *Tratado de Microbiología*, Salvat Editores, S.A., Barcelona, 1983
3. INSTITUTO NACIONAL DE SEGURIDAD E HIGIENE EN EL TRABAJO **Guía técnica para la evaluación y prevención de los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos**. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, Madrid, 2001
4. INSTITUTO NACIONAL DE SEGURIDAD E HIGIENE EN EL TRABAJO *Notas Técnicas de Prevención* (nº **376**, **447**, **468**, **571** y **572**) Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Barcelona 2001
5. MARTÍ SOLÉ, M.C. et al. *Prevención de Riesgos Biológicos en el Laboratorio* Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, Barcelona, 1997
6. PUMAROLA, A. et al. *Microbiología y parasitología médica* Salvat editores, S.A., Madrid, 1984
7. **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.
8. **Orden de 25 de marzo de 1998** por la que se adapta en función del progreso técnico el Real Decreto 664/1997, de 12 de mayo sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo.
9. **Real Decreto 1995/1978**, de 12 de mayo y posteriores modificaciones. Por el que se aprueba el cuadro de enfermedades profesionales en el sistema de la seguridad social.

10. **Directiva 2000/54/CE** de 18 de septiembre. Sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos. (consultar versión inglesa).