

NTP 539: Prevención del riesgo biológico en el laboratorio: trabajo con hongos

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

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

Redactores:

M. Carme Martí Solé
Lda. en Farmacia

Rosa M. Alonso Espadalé
Lda. en Ciencias Biológicas

Angelina Constans Aubert
Ingeniero Técnico Químico

CENTRO NACIONAL DE CONDICIONES DE TRABAJO

En esta NTP se estudian diferentes especies fúngicas que pueden constituir un peligro para el personal del laboratorio. Se describen las infecciones asociadas a estos hongos así como las recomendaciones de bioseguridad que deben aplicarse. Se complementa con la NTP 520 (Prevención del Riesgo biológico en el laboratorio: Trabajo con virus) y contiene información específica y relativa al trabajo con hongos en el laboratorio.

Introducción

Los hongos fueron reconocidos como agentes causantes de enfermedad antes que las bacterias, debido a su mayor tamaño. Sin embargo, de todas las especies de hongos existentes, cuyo número se estima que oscila de 50.000 a 200.000, sólo se conocen alrededor de 100 capaces de causar enfermedades infecciosas (micosis) en el hombre.

Según el tipo de tejidos en que se localiza la infección las micosis se dividen en cuatro grupos:

- **Micosis generalizadas o profundas:** afectan fundamentalmente los órganos internos y las vísceras.
- **Micosis subcutáneas:** afectan la piel, tejido subcutáneo, fascias y huesos.
- **Micosis cutáneas:** afectan la epidermis, cabellos y uñas.
- **Micosis superficiales:** afectan sólo los cabellos y las capas más superficiales de las epidermis

Los hongos crecen en todos los climas de la Tierra, viven en medios acuáticos o en ambientes húmedos, pero también en ambientes relativamente secos. La única condición para el crecimiento de los hongos en la naturaleza es, pues, la presencia previa o simultánea de otros organismos. Los hongos pueden encontrarse prácticamente en todas partes, incluso en lugares en los que no se aprecian rastros de materiales nutritivos.

El Real Decreto 664/1997, sobre 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 de forma natural o deliberadamente, cuatro niveles de contención o de bioseguridad. Estos niveles de seguridad son equivalentes a los recomendados por organismos como el Center for Disease Control (CDC), Atlanta, USA, y se tratan ampliamente en la NTP 468 (Trabajo con animales de experimentación), por lo que en esta NTP únicamente se enumera el nivel de contención que corresponde a cada agente fúngico.

Al trabajar con estos microorganismos se aplicarán también las medidas generales de seguridad concernientes al trabajo seguro y las

buenas prácticas frente al riesgo biológico (y también obviamente frente a otros riesgos característicos del laboratorio), utilizando protecciones personales como guantes, mascarillas, protectores oculares y faciales y batas y ropa de trabajo en general, para prevenir la exposición. A este respecto, ver las NTP 376 y 432. Especial mención debe hacerse de las recomendaciones destinadas a evitar heridas y punciones (las agujas contaminadas no deben reencapsularse nunca y, una vez utilizadas, deben colocarse en un contenedor de residuos resistente a la perforación) y la formación de bioaerosoles.

Características de los hongos

Las características que se describen en este apartado corresponden básicamente a la reproducción asexual y sexual de los hongos. El interés de tratar este aspecto desde el punto de vista de la prevención del riesgo biológico en el laboratorio se debe a que muchas veces la infección ocurre por la inhalación o inoculación accidental de una de las formas reproductoras.

Los hongos se caracterizan por ser células eucariotas y heterótrofas (necesitan compuestos orgánicos como nutrientes) y pueden ser unicelulares o multicelulares.

Las levaduras son hongos unicelulares, de 2 a 4 μm , aproximadamente, que se reproducen por gemación. Los mohos son hongos pluricelulares y están formados por estructuras tubulares llamadas hifas. La ramificación y extensión de las hifas por la zona preapical forma una masa entrelazada, como algodonosa, de hifas secundarias y terciarias, que se conoce con el nombre de micelio. Existe un micelio vegetativo adosado a la superficie del sustrato (suelo, plantas, alimentos) y un micelio aéreo o reproductor, donde se forman las esporas (mecanismo de reproducción).

La reproducción de los hongos puede ser asexual, sexual o parasexual, si bien en muchos casos se comparten varios mecanismos.

La reproducción asexual es el crecimiento a partir de un micelio pseudomicelio primitivo, sin conjugación nuclear ni reducción cromática. Se denomina estado imperfecto, mientras que los que poseen esporulación sexual se llaman hongos perfectos. La reproducción asexual puede ser de tres tipos: gemación, esporulación y fragmentación:

- **Gemación:** consiste en la formación de una yema en un punto de la célula madre; a medida que la nueva célula hija aumenta de tamaño, se separa de la madre y da lugar posteriormente a nuevas hijas por el mismo mecanismo.
- **Esporulación-germinación:** En ella se forman esporas que luego germinarán en un medio adecuado. Si se desarrollan directamente de la célula vegetativa, se llaman talosporas; en otros casos se desarrollan en estructuras especializadas que reciben diversos nombres, como: conidias, artrosporas, blastosporas, clamidosporas y esporangiosporas.
- **Fragmentación:** Las hifas pueden fragmentarse, y cada fragmento, tras crecimiento y regeneración, da una nueva colonia. Este mecanismo se usa en los subcultivos de laboratorio.

La reproducción sexual es la producción de esporas por fusión de dos núcleos haploides sexualmente distintos. No es frecuente en los hongos patógenos humanos, por lo que se denominaron hongos imperfectos. Hoy día, se van conociendo algunas formas sexuadas de aquéllos, lo que ha dado lugar a una reestructuración taxonómica. Por esto, muchos hongos patógenos poseen dos nombres, uno el nombre imperfecto que fue el primero descrito y otro el nombre perfecto. Así, *Cryptococcus neoformans* es el estado asexual de *Filobasidiella neoformans*. En esta Nota Técnica cuando alguno de los hongos descritos tenga estado perfecto el nombre de dicha forma aparecerá entre paréntesis al lado del nombre imperfecto. Los principales tipos de esporas sexuales son: Ascosporas, Zigosporas, y Oosporas.

La reproducción parasexual es un mecanismo raro, en el que las hifas se unen sin fusión nuclear posterior y da lugar a un heterocarión de núcleos haploides. En algunas ocasiones pueden conjugarse los núcleos y aparece un núcleo diploideheterozigótico. El hecho comprobado por primera vez en *Aspergillus nidulans* demuestra que la recombinación genética puede existir sin utilizar las células sexuales.

Agentes fúngicos

A continuación se describen los agentes fúngicos más representativos, causantes de micosis entre el personal de laboratorio que manipula muestras contaminadas con dichos agentes.

Blastomyces dermatitidis (Ajellomyces dermatitidis)

Las infecciones producidas por este hongo se manifiestan como una micosis granulomatosa, afectando principalmente los pulmones (forma aguda o crónica) o la piel. La infección pulmonar suele ocurrir después de una inhalación de conidios; generalmente se desarrolla una neumonía aunque se puede desarrollar también una blastomicosis pulmonar, que si no es tratada puede llevar a la muerte. Las lesiones cutáneas suelen estar producidas por inoculación accidental de un tejido infectado o de un cultivo conteniendo el hongo *B. dermatitidis* en fase levaduriforme; los granulomas aparecen normalmente en la cara y en la parte distal de los miembros. No se transmite directamente de una persona a otra, ni de un animal a un humano.

Principales focos de infección

La forma levadura puede estar presente en los tejidos de animales infectados y en las muestras clínicas; la forma micelial puede estar presente en los cultivos.

Peligros en el laboratorio

La inoculación parenteral (subcutánea) accidental de tejidos de animales infectados o de cultivos conteniendo la forma levadura puede causar granuloma local. Existe peligro de infección pulmonar por la exposición a aerosoles formados por conidios infecciosos procedentes de la forma miceliar.

Precauciones recomendadas

Nivel de contención 3 para la manipulación de cultivos, muestras clínicas, tejidos de animales y animales infectados.

Coccidioides immitis

El *Coccidioides immitis* produce una micosis generalizada que empieza por una infección respiratoria, con una primo infección asintomática o de tipo gripal; afección granulomatosa evolutiva a menudo fatal acompañada de lesiones pulmonares y de abscesos en todo el cuerpo.

Principales focos de infección

Las artrosporas infecciosas están presentes en los cultivos miceliar y en las muestras de tierra. Las esférulas, que son cuerpos esféricos de gruesas paredes que contienen en su interior endoesporas, se encuentran presentes en las muestras clínicas (esputos o lesiones dérmicas) y en los tejidos animales infectados.

Peligros en el laboratorio

El peligro de infección en el laboratorio está muy documentado, ya que la contaminación accidental en el laboratorio es frecuente; ocupa el décimo lugar en la lista de las infecciones más frecuentemente adquiridas en el laboratorio.

Las esférulas parásitas no son generalmente infecciosas, ya que su gran tamaño, disminuye su transmisibilidad por vía aérea, pero la inoculación accidental de pus o de otras sustancias infectadas puede entrañar la formación de granulomas.

La inhalación de artrosporas contenidas en muestras de tierras y cultivos, es la causa principal de las enfermedades que se pueden dar en el trabajo en el laboratorio, las artrosporas se pueden encontrar en muestras de tierras, en cultivos miceliar o en la transformación de las esférulas procedentes de material de origen clínico.

Precauciones recomendadas

Nivel de contención 3 para la manipulación de cultivos de *C. immitis* y en la manipulación de tierra o de cualquier otro material susceptible de contener artrosporas infecciosas. Deben utilizarse los métodos y las precauciones adecuadas para disminuir en lo posible la formación de aerosoles infecciosos.

Cryptococcus neoformans (Filobasidiella neoformans)

A pesar de la ubicuidad y frecuente exposición a este microorganismo, son raras las infecciones, por lo que se sospecha que la resistencia del organismo humano es muy elevada. Hay una mayor incidencia de esta afección (criptococosis) entre los individuos inmunodeprimidos por estar recibiendo tratamiento que disminuyen sus defensas o en los que padecen enfermedades que favorecen las micosis.

Las manifestaciones clínicas de la infección por *Cryptococcus neoformans* son: infección pulmonar, meningitis, osteomielitis, fungemia, infección diseminada, endocarditis, infección de la piel, queratitis micótica, celulitis orbital, infección endoftálmica.

Principales focos de infección

Estas levaduras se encuentran en el suelo en forma no capsulada y son tan pequeñas que tras su inhalación consiguen llegar hasta los alvéolos pulmonares. También pueden encontrarse en otros materiales ambientales contaminados con excrementos secos de palomas y en tejidos y muestras clínicas (sangre, líquido céfalo-raquídeo) contaminados.

Peligros en el laboratorio

No se conocen casos de infección respiratoria ligada al laboratorio; sí existe un caso de corte con una hoja de bisturí contaminada por células de levaduras encapsuladas.

Presentan también un peligro la inoculación parenteral accidental de cultivos o de otro material infeccioso, la mordedura de ratón infectado para la experimentación y la manipulación de material ambiental infeccioso (excrementos de palomas).

Precauciones recomendadas

Nivel de contención 2 para la manipulación de material infeccioso o susceptible de serlo. Todos los trabajos con tierras u otros materiales ambientales susceptibles de contener células de levadura infecciosas deben efectuarse en cabinas de seguridad biológica.

Histoplasma capsulatum (Ajellomyces capsulatus)

Su patogenicidad se manifiesta con una micosis generalizada cuya gravedad es variable. La primera infección afecta a los pulmones; se presenta bajo cinco formas clínicas: asintomática, respiratoria aguda benigna, diseminada aguda, diseminada crónica y pulmonar crónica. Algunas de estas formas pueden ser fatales.

Principales focos de infección

La forma infecciosa (conidio) presente en los cultivos miceliales en esporulación y en la tierra de zonas endémicas; presente bajo la forma de levadura en los fluidos o los tejidos de animales infectados (su inoculación parenteral puede provocar una infección local).

Peligros en el laboratorio

Los peligros primarios en laboratorio pueden ocurrir por la inhalación de conidios infecciosos. Su pequeño tamaño (< 5 µm de diámetro) favorece la dispersión aérea y la retención intrapulmonar.

Existen referencias de infecciones adquiridas en los laboratorios de diagnóstico y de investigación, tales como: infección pulmonar producida por inhalación de conidios infecciosos, infección local por el pinchazo producido durante una autopsia e inoculación accidental con una aguja contaminada con un cultivo viable.

Precauciones recomendadas

Nivel de contención 3 para la manipulación de cultivos miceliales, de muestras de tierras o de cualquier material que contenga o sea sospechoso de contener conidios infecciosos.

Sporothrix schenckii

S. schenckii causa una micosis que afecta generalmente a la piel, comenzando por un nódulo y localizándose en un miembro; los ganglios linfáticos que drenan la región afectada se vuelven duros y forman una serie de nódulos que pueden ulcerarse. Artritis, neumonía y otras infecciones viscerales son raras. La mortalidad también es rara.

Principales focos de infección

Muestras clínicas líquidas procedentes de la aspiración de lesiones, pus, exudados; muestras ambientales de suelo, vegetales.

Peligros en el laboratorio

La infección local de piel u ojos se puede producir por una salpicadura, rasguño o pinchazo con material infectado. También se puede producir por la mordedura de un animal de experimentación infectado; las infecciones locales igualmente pueden estar producidas por la manipulación de cultivos o autopsias de animales.

Precauciones recomendadas

Nivel de contención 2 para todos los trabajos de laboratorio que impliquen la manipulación tanto de material como animales infectados.

Especies patogénicas de los géneros *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum spp.* y *Trichophyton spp.*

Producen micosis cutáneas o tiñas en las regiones queratinizadas del cuerpo (piel, cabellos y uñas); la gravedad varía según el género y la especie del dermatofito. Generalmente se produce una descamación y hasta una pérdida de cabello, observándose a veces eritema, induración, crostas y supuración; las lesiones son a menudo circulares o anulares en razón de la cicatrización central.

Principales focos de infección

Piel, pelos y uñas de huéspedes humanos y animales.

Peligros en el laboratorio

Figura en la sexta posición de la lista de las infecciones más frecuentes adquiridas en el laboratorio; la mayor parte de los casos están relacionados con *T. mentagrophytes*. La mayor parte de las infecciones se han adquirido en el contacto con los animales de laboratorio infectados de forma natural o bien por fines de investigación. La infección raras veces se adquiere en el manejo de cultivos y material clínico.

Precauciones recomendadas

Nivel de contención 2 para todos los trabajos y experimentos con animales portadores de estos dermatofitos.

Mohos diversos

En este apartado se incluyen una serie de hongos que producen un tipo de infecciones más o menos graves. Estos agentes son: *Cladosporium trichoides*, *Cladosporium bantianum*, *Penicillium marneffeii*, *Exophiala dermatitidis*, *Fonsecaea pedrosoi* y *Dactylaria gallopavum* (*Ochroconis gallopavum*).

Producen un tipo de micosis crónica denominada cromoblastomicosis que se adquiere por la inoculación accidental de esporas, usualmente en las extremidades. La infección se caracteriza por el desarrollo de una pápula en el sitio de la inoculación que se extiende formando lesiones semejantes a verrugas o tumores. También se conoce la infección por inhalación de las esporas.

Principales focos de infección

Muestras medioambientales.

Peligros en el laboratorio

La inhalación de conidios procedentes de cultivos de mohos esporulados y la inoculación accidental debido a un pinchazo por inyección en la experimentación animal son, en teoría, los riesgos para el personal que trabaja en el laboratorio.

Precauciones recomendadas

Nivel de contención 2 en la manipulación de cultivos que contengan estos agentes y en su reproducción.

Consideraciones sobre seguridad en el laboratorio

Aunque el manejo de cultivos de hongos en el laboratorio implica ciertos riesgos, si se aplican las recomendaciones de bioseguridad comentadas en el apartado Introducción de esta Nota Técnica, así como el nivel de contención adecuado según el R.D. 664/1997 y se observan con cuidado las técnicas adecuadas, cabe esperar muy pocos problemas relacionados tanto con la contaminación del laboratorio como con la infección del personal.

Así mismo para evitar contaminaciones del medio ambiente y del personal que maneja los residuos generados en el laboratorio, los cultivos de hongos posiblemente patógenos deben ser sellados con cinta adhesiva y esterilizados en el autoclave o eliminarlos directamente como residuos grupo III en un recipiente adecuado para este tipo de residuos.

Bibliografía

(1) BAILEY, W. R.

Diagnóstico microbiológico.

7ª edición Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, 1989

(2) CARRASCO, L.

El virus del SIDA.

Editorial Hélixe, Madrid, 1996

(3) DAVIS, B. D.

Tratado de Microbiología

Salvat Editores, S.A., Barcelona, 1983

(4) INSTITUTO NACIONAL DE SEGURIDAD E HIGIENE EN EL TRABAJO.

Notas Técnicas de Prevención (nº 398, 429, 447)

Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Barcelona 1998

(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., Barcelona, 1985

(7) TURNBERG, W. L.

Biohazardous Waste

John Wiley & Sons, Inc., New York, 1996

(8) Real Decreto 664/1997 de 12.5 (Presid., BOE 24.5.1997). **Sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo.**

(9) 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**

