



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N°3 – FEBRERO DE 2008

“ESTRUCTURA DE UN LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA”

AUTORIA ROSARIO ALORS CORREDERAS
TEMÁTICA MICROBIOLOGÍA
ETAPA FORMACION PROFESIONAL

Resumen

A continuación se aborda la estructura típica de un laboratorio, así como los distintos controles de calidad que deben realizarse en las muestras, aparatos, medios de cultivo,...

Palabras clave

Control de calidad, medios de cultivo

ESTRUCTURA DE UN LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA.

Está en función del tamaño y de la cantidad de trabajo que en él se realice. Está dividido en secciones y éstas pueden estar individualizadas o bien todas juntas.

Secciones del Laboratorio de Microbiología:

- Sección de toma de muestras: se toman las muestras a pacientes ambulatorios; allí se almacena el material necesario para la toma, que deberá ser revisado y repuesto periódicamente.
- Recepción y registro de muestras (independientemente del lugar donde se hayan recogido las muestras).
 - Registro y asignación de un número o código.
 - Primera evaluación de las muestras: las muestras, dependiendo del análisis que se vaya a realizar, deben cumplir una serie de requisitos y características fijadas en el laboratorio. Se deben rechazar las que no cumplan ese criterio pues es posible que los resultados no sean correctos.
- Sección de siembra de muestras
 - Procesamiento inicial
 - Siembra (en el medio de cultivo más adecuado)
 - Tinción (en colorantes ácidos o básicos)
 - Técnicas especiales



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N°3 – FEBRERO DE 2008

- Esquemas claros del procesamiento rutinario y procedimientos especiales: no son iguales de un Laboratorio a otro. Dependerá de la experiencia del profesional, entre otras cosas.
- Sección de medios de cultivo
 - Preparación y lavado del material.
 - Esterilización (tanto de los medios de cultivo como de los productos de desecho).
 - En seco (generalmente para material de vidrio)
 - En autoclave “121°C/1 atm” (productos contaminados antes de desechar)
- Área de almacén de productos y reactivos.
- Sección de Bacteriología.
 - Se interpretan cultivos, tinciones y otras técnicas, realizando identificación y pruebas de sensibilidad (se refiere a qué tipo de antibiótico es sensible el microorganismo).
 - Técnicas de diagnóstico rápido para la detección de Antígenos/Anticuerpos directamente en las muestras:
 - Urocultivos (muestra = orina).
 - Coprocultivos y parásitos (muestra = heces).
 - Exudados y anaeróbios (muestras = secreciones)
 - Hemocultivos (muestra = sangre)
- Sección de Micobacterias. Debería estar aislada del resto del laboratorio con el fin de evitar la contaminación del resto del personal
 - Identificación y aislamiento de micobacterias (Ej. Tuberculosis).
- Sección de Micología.
 - Estudio de infecciones producidas por hongos:
 - Unicelulares (levaduras)
 - Filamentosos (Mohos)
- Sección de antibióticos.
- Sección de Serología o Inmunomicrobiología.
- Otras secciones: Virología y Biología Molecular.

NORMAS GENERALES DEL LABORATORIO.

NORMAS:

- Calidad en las técnicas y en los resultados
- Seguridad e higiene en el trabajo

NIVELES DE SEGURIDAD BIOLÓGICAS según: las técnicas, los equipos de seguridad y la estructura del Laboratorio.

NIVEL 1- Laboratorios de enseñanza: Microorganismos no patógenos y oportunistas (se refiere a aquellos microorganismos que no son capaces de producir enfermedad en un individuo sano, pero si en determinadas condiciones de defensas bajas).

NIVEL 2- Microorganismos de peligrosidad potencialmente moderada.



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N°3 – FEBRERO DE 2008

NIVEL 3- Microorganismos de alto riesgo.

MATERIAL NECESARIO.

- Medios de cultivo
- Placas de Petri (de vidrio y desechables)
- Morteros de porcelana o vidrio: para muestras de tejidos que necesitan ser machacadas antes de preparar el cultivo.
- Asas de siembra: nos permiten tomar la muestra y realizar la extensión en el medio de cultivo. Pueden ser redondas (al cargarla se forma, por capilaridad, una película en el asa) o pueden ser rectas. Estas últimas sirven para llevar a cabo el “método de siembra en picadura” que sirve para estudiar la movilidad de las bacterias. La movilidad se manifiesta porque hay un crecimiento hacia ambos lados de la línea de siembra.

APARATAJE BÁSICO.

- Cabinas de seguridad: para la siembra de muestras y minimizar en lo posible la contaminación como consecuencia de la manipulación de las muestras (Ej. Formación de aerosoles)
- Estufas de cultivo: sirven para conseguir unas condiciones óptimas de temperatura y permitir el crecimiento de microorganismos.
- Neveras-Congeladores: las neveras sirven para preservar las muestras cuando no se procesan inmediatamente al llegar al Laboratorio (2-8°C). Los congeladores sirven para conservar las cepas que luego nos servirán para compararlas con otras muestras nuevas.
- Microscopios
- Autoclave

CONTROL DE CALIDAD.

Va dirigido a comprobar que los aparatos del Laboratorio trabajan adecuadamente. Son muy costosos, por este motivo no se realizan muy continuos, hay que buscar un equilibrio.

Para asegurar la calidad en el Laboratorio hay que actuar sobre cada uno de los procedimientos y materiales utilizados y para ello se utilizan las “normas de calidad”:

- **CONTROL DE CALIDAD DE LAS MUESTRAS.** Se realiza en base a:
 - Manual que establezca las normas para obtener las muestras y el transporte de las mismas.
 - Establecer unos horarios fijos para la recepción de las muestras, así como criterios claros para el rechazo de las mismas.
 - Evaluar la calidad de las muestras.
 - Informar lo más rápidamente posible de los resultados más importantes con el fin de que el médico pueda actuar cuanto antes.
- **CONTROL DE CALIDAD DE LOS PROCEDIMIENTOS**
- **CONTROL DE LOS MEDIOS DE CULTIVO**
 - Comerciales y preparados en el Laboratorio:



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº3 – FEBRERO DE 2008

- Control de esterilidad de cada lote (autoclave o filtrado). En el proceso de esterilización se añadirá 1 placa control si hay menos de 100 unidades y 3 placas control si hay más de 300 unidades. Tras la esterilización las placas, en general, se dejan durante 24 horas a 37°C, y en caso del “agar sangre” se dejará, además de las 24 horas a 37°C, otras 24 horas a temperatura ambiente.
- Control de crecimiento: se realiza cada vez que recibimos o preparamos un nuevo lote. Se lleva a cabo a través de un microorganismo control o cepas de colección. Para realizar la siembra se utiliza un inóculo reducido. El inóculo reducido es un “inóculo estándar” del cual hacemos una dilución al 1/10 de una suspensión del microorganismo con turbidez correspondiente al 0,5 de la escala de Mc Farland (la turbidez es proporcional al número de microorganismos formadores de colonias). Después de preparar el inóculo estándar, se siembra con un asa de 0,001 mL.
- Control de las características selectivas: sembramos microorganismos que crecen en el medio que estamos controlando y microorganismos que no crecen en él. Si ambos crecen, el medio de cultivo no es bueno. El medio de cultivo selectivo sólo permite el crecimiento del microorganismo para el que ha sido creado.
- Control de las características bioquímicas (diferenciales): algunos medios de cultivo tienen en su composición sustancias que permiten un viraje de color dependiendo de la colonia que esté creciendo. Ej. Cuando el medio contiene lactosa, éste nos permite diferenciar entre las bacterias que usan la lactosa (viraje rosa) de las que no la usan (incolore).

- **REACTIVOS DE IDENTIFICACIÓN COMERCIALES O PREPARADOS:**

Deben etiquetarse en el primer uso, poner la fecha de preparación y la caducidad. La frecuencia de los controles es la siguiente:

- Catalasa, Oxidasa, Coagulasa: siempre que se empieza o prepara un nuevo lote y semanalmente. Debe hacerse un control positivo y otro negativo.
- Discos de identificación: siempre que se utilice un nuevo lote.
- Colorantes de uso diario: una vez a la semana. Se realiza una tinción de Gram con un microorganismo que sabemos que es Gram+.
- Cepas control (cepas de colección como las ATCC u otras fuentes comerciales).

Mantenimiento de las cepas control:

- Medio Cistina Trypticasa.
- Agar Trypticasa soja: se realiza una siembra en profundidad y se cierran los tubos con parafina para evitar la contaminación. Se conserva a temperatura ambiente.
- Agar sangre o Agar chocolate: este último se utiliza para microorganismos delicados. Se obtiene a partir del agar sangre sometido a calentamiento.
- Medio Cooked meat: para microorganismos anaeróbicos.
- Congelación: se puede realizar o bien a partir de leche descremada o bien a partir de glicerol.
- Liofilización.



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N°3 – FEBRERO DE 2008

- CONTROL DE APARATOS: (Temperatura entre 23-29°C con una humedad que oscile entre el 30-50%)
- Control de temperatura en estufas, baños, neveras y congeladores. Para este control se realizan gráficos.
- Atmósfera de incubación:
 - En estufas de CO₂ (Ej. Estreptococos)
 - Atmósfera anaerobia: para microorganismos anaeróbicos estrictos (necesitan la ausencia total de O₂) (Ej. Clostridium). Para comprobar la ausencia de oxígeno se utilizan los indicadores.
- Cabinas de flujo laminar: sirven para evitar la contaminación de las muestras, pero no evitan la contaminación del manipulador.
 - Cambio periódico de filtros.
 - Control de lámparas ultravioletas: proporciona una cierta esterilidad.
- Autoclaves:
 - Control de la temperatura del ciclo completo que dependerá de la atm. que se consiga (1atm.) y que vendrá indicada por el aparato (120-125°C)
 - Control de esterilización mediante 2 tipos de procedimientos:
 - Biológicos: mensual. Se usan esporas de bacillus (bacteria)
 - Químicos: diario-semanal. Se usan indicadores.
- Microscopios: hay que limpiarlos inmediatamente después de usarlos y dejarlos tapados.
- PRUEBAS DE CAPACIDAD: son muestras simuladas con resultados conocidos. Se envían al Laboratorio sin que ellos lo sepan, con un microorganismo cuyos resultados son conocidos por los que envían el microorganismo. Luego se emite un comunicado y así se comprueba si realmente el Laboratorio funciona correctamente.
- CONTROL DE CALIDAD EN SEROLOGÍA.
 - Pruebas de capacidad para asegurar que el trabajo realizado es correcto.
 - Muestras de suero de titulación conocida.
 - Control estricto de la caducidad de los reactivos.
- CONTROL DE CALIDAD DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD (antibiogramas)
 - Control de los medios de cultivo: pH (6,5-7,5), atmósfera de incubación, inóculo utilizado(10⁵), tiempo y temperatura.
 - Antibióticos: pruebas de sensibilidad por:
- Difusión: discos (soporte sólido). Con concentración exacta.
 - Dilución (en polvo): hay que hidratarlos y así conseguimos la concentración necesaria.
 - Cepas control: Staphylococcus áureos (Gram+), Escherichia coli (Gram-), Pseudomonas aeruginosa (Gram+).

Vamos a ver con más detalle el control que normalmente se realiza del crecimiento en el laboratorio:



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº3 – FEBRERO DE 2008

CONTROL DEL CRECIMIENTO:

ESTERILIZACIÓN: Es un procedimiento que destruye o elimina todas las formas de vida: gérmenes saprófitos, patógenos, esporas, virus, hongos...

DESINFECTAR: sin gérmenes patógenos y aplicado a objetos sin vida. Son productos que se pueden aplicar directamente en la piel. El alcohol, p.ej. es un desinfectante, y el que se usa es el de 70° no el de 90°.

Para controlar el crecimiento bacteriano se utilizan varios sistemas y dentro de los agentes bacterianos: bacteriostáticos (inhiben el crecimiento bacteriano), fungistáticos, virustáticos, microbiostáticos... (que inhiben el crecimiento). Los que destruyen a los gérmenes son los llamados: microbicidas, bactericidas, fungicidas.

SISTEMAS DE ESTERILIZACIÓN:

MÉTODOS FÍSICOS:

CALOR HÚMEDO:

- **AUTOCLAVE:** es el método más utilizado y uno de los más eficaces, cómodo y barato. El agua a temperatura elevada mata a los microorganismos ya que desnaturaliza y coagula sus proteínas. El tiempo que se necesita depende de la naturaleza del microorganismo, el medio, cantidad... Lo calculado es unos 121° durante 20 minutos para que la esterilización sea eficaz y para conseguir esta temperatura hay que aumentar la presión.
- **TINDALIZACIÓN:** es una esterilización con vapor (también calor húmedo) pero fraccionado, se hace con materiales que no soportan temperaturas tan altas como las del Autoclave. Subimos la temperatura hasta 90-100° y después se incuba para que las formas vegetativas crezcan y se vuelve a poner el calor a 90-100° para que mueran todas las formas adultas, se para y se vuelve a poner a 90-100°.
- **PASTEURIZACIÓN:** es una forma también de esterilización con calentamientos inferiores a 100° (durante 30 minutos, a 60-70° y no a 75° durante 15 minutos).
- **EBULLICIÓN:** como tal, sin más, es muy efectivo con los gérmenes pero no con las formas vegetativas (esporas).

CALOR SECO:

- **INCINERACIÓN:** quemar
- **FLAMBEADO:** con el Bunsen. El inconveniente es que produce aerosoles y al trabajar con él nos podemos quemar. Hay que tener cuidado con las muestras de esputo. Para sustituirlo se utilizan unos tubos con resistencia donde dentro se mete el asa. Se debe seguir trabajando siempre alrededor de la llama para crear un campo estéril de trabajo pero no poner la mano delante para evitar salpicaduras de los aerosoles y utilizar asas desechables.
- **HORNOS:** Esterilizan objetos de vidrio, metal y para algunas sustancias grasas, insolubles en agua, no volátiles que permiten este sistema. Es menos eficaz que el calor húmedo y el tiempo de exposición depende de la temperatura del aire:
A 170° C: 1h 150° C: 2,5h ó 160° C: 2h 140° C: 3h



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N°3 – FEBRERO DE 2008

ESTERILIZACIÓN POR FILTRACIÓN:

Método eficaz para filtrar líquidos. SE hace pasar el líquido por un embudo que tiene un filtro con unos poros lo suficientemente pequeños para retener los microorganismos (pero NO los virus).

Estos filtros suelen estar hechos por membranas de Nitrato o Acetato de celulosa que suelen tener poros de unos 0,45 μm de diámetro, y por este tamaño hay gérmenes que pasan (p.ej. Pseudomona, Serratia...) por eso a veces se recomienda la utilización de filtros con poros más pequeños de 0,22 μm de diámetro ya que tienen más dificultad de filtración.

Son filtros con los que se hace una presión para que el filtrado sea más rápido con un matraz kitasato: Es un sistema práctico y adecuado sobre todo cuando se quiere esterilizar líquidos que no permiten ser sometidos a elevadas temperaturas. El sistema de esterilización por filtrado no sólo es usado para estos líquidos sino también para el aire: CAMPANAS DE FLUJO LAMINAR.

Eliminan el 99% de partículas de un diámetro mayor a 0,03 μm . Con gérmenes patógenos, las cabinas utilizan flujo laminar horizontal empujando el aire estéril hacia el exterior. En un laboratorio de microbiología se utilizan campanas de flujo laminar como sistema de esterilización del aire con filtros HEPA que filtran partículas con un diámetro mayor a 0,3 μm .

- Gérmenes patógenos: campanas de flujo laminar que proyecta una cortina vertical de aire estéril.
- Controles de esterilidad: se emplea cabinas de flujo laminar horizontal que empujan el aire estéril hacia el exterior y evitan la contaminación ambiental de las muestras.

RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA.

Todas ellas (α , β , γ , rayo x, UV) pueden matar microorganismos y todas ellas también se dividen en dos grupos:

Radiaciones Ionizantes: rayos x y rayos α , β , γ ,

Radiaciones. NO Ionizantes: ultravioleta

- RADIACIONES IONIZANTES.

Tienen suficiente energía para ionizar las moléculas produciendo radicales hidróxilo [OH⁻] que son muy reactivos, y así destruyen el ADN, proteínas y matan a las células (microbios). Tienen un gran poder de penetración lo que permite que se puedan utilizar para la esterilización de productos después de que éstos estén embalados.

- RADIACIONES NO IONIZANTES.

Como los UV, es una radiación absorbida por los compuestos intracelulares produciendo la excitación de los electrones de las moléculas y modificando su reactividad. La estructura celular más afectada es el ADN y esto puede matar a la célula y afectarla como radiaciones esterilizantes mediante las luces de UV de unos 260 nm (λ). Todos los rayos UV tienen una reacción mutágena sobre las cadenas de ADN.

Un inconveniente respecto a la esterilización es que tienen muy poco poder de penetración, sólo son utilizable contra gérmenes de superficies de objetos y esterilizar estancias, aire de zonas estériles, etc. También son radiaciones acumulables como las ionizantes y por ello hay que trabajar con métodos de aislamiento y protección para evitar contaminación.

MÉTODOS QUÍMICOS DE ESTERILIZACIÓN.

La esterilización química se utiliza mucho para instrumental médico que no se ha de someter a las altas temperaturas del autoclave, y para zonas cerradas donde sea necesario la ausencia de



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N°3 – FEBRERO DE 2008

microorganismos como p.ej. un quirófano. El laboratorio de microbiología en un hospital está muy relacionado con el laboratorio de epidemiología y son responsables del estado de esterilización de los quirófanos y de las contaminaciones e infecciones hospitalarias. Uno de los métodos químicos utilizados es:

Oxido de etileno:

Gas líquido a temperatura inferior a 10,8º C. Tiene el inconveniente de que es muy tóxico e irritante y muy inflamable incluso aunque se use a muy baja concentración. Se suele usar mezclado con CO₂ que facilita la manipulación del óxido de etileno pero no reduce su capacidad microbicida. Tiene una importante capacidad de penetración, puede atravesar paquetes de ropa, embalajes e incluso algunos plásticos.

El inconveniente es que se necesitan varias horas de exposición porque su acción es muy lenta y se necesita también bastante tiempo de aireación. Para esterilizar con óxido de etileno se utilizan una especie de autoclaves que controlan la [] del gas, la temperatura y la humedad. Su mecanismo de acción es inactivando enzimas mediante una reacción de los grupos sulfidrilos. También es un método más caro.

Propiolactona.:

Líquido incoloro a temperatura ambiente, no es inflamable pero produce irritación ocular y ampollas por contacto con la piel. Es más rápido que el anterior pero se utiliza poco por su escaso poder de penetración y porque es cancerígeno.

Glutaraldehido:

Líquido oleoso, incoloro que en solución acuosa al 2% es microbicida y se utiliza en los hospitales para esterilizar instrumentos urológicos, con lentes, aparatos de terapia respiratoria, endoscopia...

Formaldehido:

Gas estable a elevada presión y temperatura. Es muy tóxico y sus vapores son muy irritantes para las mucosas. Se usa para esterilizar algunos instrumentos y en forma de gas se utiliza para esterilizar zonas cerradas. Uno de sus inconvenientes es su escaso poder de penetración. Su actividad microbicida es debida a su capacidad de inactivar componentes celulares como proteínas y ácidos nucleicos.

DESINFECCION

No confundir la desinfección con la esterilización ya que son conceptos distintos. La antisepsia-antiséptico es la desinfección sobre los seres vivos, p.ej. la piel.

- Asepsia: sin organismos, no contaminación
- Antisepsia: sin organismos patógenos mediante productos desinfectantes y antisépticos.

DESINFECTANTES QUIMICOS.

Alcoholes.

Son desnaturalizantes de las proteínas y matan las células pero sólo cuando se aplican en disolución al 70%. Además de matar células vegetativas, inactivan las esporas y algunos virus. Si utilizamos alcohol al 100% necesita actuar dentro de la célula junto con agua. Según su utilización lo tendremos que diluir:

- Para desinfectar: diluir al 70% (etanol, isopropanol)
- Para desengrasar portas: al 100% seca mejor.



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N°3 – FEBRERO DE 2008

Aunque actúan de forma rápida su efecto no es instantáneo. El alcohol isopropílico tiene mayor poder germicida que el alcohol etílico y también es menos corrosivo sobre los instrumentos pero tiene el inconveniente de que tiene un olor picante (irrita más las mucosas) y por eso usamos más el etanol. El metanol es un alcohol muy tóxico y venenoso que se usa para el mechero, etc. El etílico se usa para las bebidas alcohólicas y en el laboratorio (desnaturalizado)

Alógenos.

Son muy empleados, pero con el inconveniente de que se inactivan en presencia de material orgánico. Entre ellos:

- Yodo (mezclado también con alcoholes)
- Cloro (sobre todo en la potabilización del agua, al reaccionar con los compuestos orgánicos los inactiva)

Sales de metales pesados:

- Sales de mercurio (mercurocromo)
- Óxido de zinc (para algunas infecciones)
- Nitrato de plata (corrosivo, para cauterizar)

PROPIEDADES IDEALES PARA DESINFECTANTES Y ESTERILIZANTES QUÍMICOS.

Elevado poder germicida (que mate los gérmenes y las esporas, virus y toda forma de vida) y en soluciones muy diluidas.

Que sea estable en el tiempo y sobre todo en presencia de materia orgánica.

Soluble en agua.

Que no sea tóxico para las células de los seres vivos superiores.

Que no sea corrosivo.

Que tenga una buena capacidad de penetración.

Que sea económico.

FACTORES QUE INTERVIENEN EN LA EFICACIA DE LA DESINFECCIÓN QUÍMICA

En relación tanto con el desinfectante químico, las bacterias o con ambos.

Factores del desinfectante químico.

- Naturaleza del desinfectante
- Capacidad de ionización
- Su concentración
- Capacidad de solubilizarse en la célula
- Afinidad por el protoplasma de la célula y los constituyentes celulares

Factores de las bacterias (gérmenes en general)

- Especie del microorganismo y de su composición química
- Fase de crecimiento en la que se encuentra
- Estructuras que puede poseer: esporas, flagelos...
- Antecedentes del cultivo del germen
- Número de bacterias presentes

Factores en ambos.

- La temperatura (cuanto más alta, mejor se lleva a cabo la desinfección)



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N°3 – FEBRERO DE 2008

- Todos los fenómenos de superficie:
- Tensión superficial
- Absorción
- Permeabilidad
- Adsorción
- Difusión...
- pH (factor muy importante)
- Presencia de material orgánico (también muy importante) porque puede neutralizar y evitar que el desinfectante llegue a la célula
- Presión (importante sobre todo en el caso de que el desinfectante sea un gas)
- El tiempo de exposición

Para evitar que el desinfectante llegue a ser inactivado en presencia de material orgánico se puede llevar a cabo los siguientes pasos:

limpiar primero el material a desinfectar o esterilizar meterlo en el autoclave

O bien:

Colocar el material inmerso en una sustancia desinfectante (p.ej. glutaraldehído, lejía...)

Se limpia el material

Se introduce en el autoclave para su esterilización.

CONTROLES DE ESTERILIZACIÓN:

La esterilización es eficaz cuando realizamos unos controles de esterilización que pueden ser químicos, físicos o mecánicos y biológicos.

QUÍMICOS.

Son de varios tipos:

- **CINTAS ADHESIVAS.**

Que se utilizan tanto en calor seco, húmedo, como en óxido de etileno y que su función puede ser además de control de esterilización al cambiar de color. Es un método eficaz, pero también tiene la función de poder precintar el paquete y poner la fecha, personal responsable que ha realizado la esterilización y lote para saber quien ha llevado a cabo el ciclo. Los controles ya indican para qué sistemas de esterilización son válidos.

- **EN LAS MISMAS BOLSAS DE ESTERILIZACIÓN.**

Son bolsas de esterilización donde se introduce el material a esterilizar y que poseen en su cara posterior unas marcas donde indican ya el color al cual tiene que cambiar si el ciclo ha sido correcto (observar siempre), la fecha de caducidad y el tipo de esterilización que se puede utilizar.

- **LÁMINAS Y ETIQUETAS.**

Pueden ser sueltas o adhesivas, se archivan los datos para su control. Puede tener el dibujo de una flecha o un rectángulo que es donde tiene el cambio de color.

- Existe un sistema que en vez de rectángulos o flechas que cambian de color tiene varias zonas que cambian de color por motivos diferentes (presión, temperatura, tiempo...) y son más específicos ya que indican las diferentes fases de los procesos de esterilización, con la ventaja



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N°3 – FEBRERO DE 2008

(sobre TODOS los métodos anteriores) de que son más fáciles, cómodos e indican las fases de esterilización.

CONTROLES MECÁNICOS O FÍSICOS.

Ya el mismo aparato conectado informáticamente hace el control de fallos en el proceso de esterilización. Pero también se utilizan unos relojes o gráficas que se colocan en el esterilizador donde indican los problemas que pueden haber ocurrido y también se guardan como información. El inconveniente es que te indican el tiempo, presión y temperatura que se han llevado a cabo pero no se sabe si ha sido efectivo en todas las zonas del autoclave, si ha llegado a todos los lugares. Por eso, para mayor seguridad, se suelen complementar todos los métodos de control.

CONTROLES BIOLÓGICOS.

No se utilizan en todos los ciclos sino en controles de calidad de vez en cuando. Consisten en introducir en el esterilizador ESPORAS VIVAS y comprobar una vez terminado el ciclo de esterilización si éstas han sido destruidas. Las esporas normalmente van introducidas en ampollas con un caldo de cultivo que contienen un indicador de pH que cambia de color cuando los gérmenes crecen.

El inconveniente es el tiempo.

MANEJO DEL MATERIAL ESTÉRIL

- Al sacar el material estéril del autoclave no se puede contaminar (tocar)
- Trabajar con placas estériles
- Mechero Bunsen
- No echar el caldo de cultivo fuera de las placas ni desbordarlas ya que se consideran entonces contaminadas
- No tocar partes internas ya que se consideran campos estériles.

ANTIBIÓTICOS

- Para eliminar bacterias patógenas
- Hacer medios de cultivo selectivos (germen sensible a ese antibiótico)

Los antibióticos tienen diferentes mecanismos de actuación:

Antimicrobianos que actúan sobre PARED CELULAR

Antimicrobianos que actúan sobre MEMBRANA CITOPLASMÁTICA

Antimicrobianos que inhiben SÍNTESIS PROTEICA

Antimicrobianos que inhiben SÍNTESIS ÁCIDOS NUCLEICOS

Antimicrobianos que interfieren en VÍAS METABÓLICAS

Antimicrobianos inhibidores de ÁCIDOS MICOLICOS

FUNCIONAMIENTO DEL AUTOCLAVE:

- Presión = temperatura > 100° C
- Conocer los materiales que soporten los 120°C y el calor húmedo
- El material tiene que estar ya limpio (descontaminado) la mayoría de las veces, pero a veces se colocan las placas de Petri sucias con un ciclo de esterilización para luego ser desechadas, o los medios de cultivo preparados para esterilizar y repartirlos por las placas después.
- También los materiales tienen que estar envasados de una determinada manera, p.ej. envolver en fardos de ropa o meterlos en bolsas de sellados para esterilización, con la ventaja de que ha



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº3 – FEBRERO DE 2008

temperatura ambiente los poros de éstas últimas están cerrados pero dentro del autoclave se abren y entra el vapor

- El autoclave tiene dentro una especie de cesto donde se pone lo que se quiere esterilizar y luego se introduce la cantidad de agua. Cerrarlo y dar el ciclo de esterilización. La salida del agua tiene que estar bien cerrada y sólo dejar salir el aire
- Al aumentar la temperatura del agua, aumenta también la presión del vapor por estar cerrado y se expulsa el aire que había de dentro del autoclave haciendo que aumente más la presión
- Muchos autoclaves están conectados a un programa informático con los que se puede observar y controlar que según va aumentando la presión del vapor del agua va aumentando también la temperatura hasta 120° C y se hace el ciclo de esterilización.
- Cuando se termina el ciclo, el autoclave no se puede abrir hasta que la presión interna sea igual a cero
- Para hacer medios de cultivo es indispensable el autoclave, tanto para desechar las placas como para esterilizar los medios de cultivo.

BIBLIOGRAFIA:

Granados Perez, R. y Villaverde Peris, C. (2003). *Microbiología Tomo I*. Madrid: Paraninfo.

Granados Perez, R. y Villaverde Peris, C. (2003). *Microbiología Tomo II*. Madrid: Paraninfo.

García Saavedra, M.J. y Vicente Garcia, J.C. (2003). *Técnicas de descontaminación, limpieza, desinfección y esterilización*. Madrid: Paraninfo.

Rosario Alors Correderas
rosarioalors@gmail.com