

FUNDAMENTOS Y TÉCNICAS DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS: Volumen I



AUTORAS: M^a Paz Merino Jimenez

Inmaculada Cartagena Bayona

COAUTORAS: Mireia Llinares Marcelo

Maria Angeles Lluch Rodrigo

A mi madre, por confiar en mi

M. Paz Merino

*A mis padres, que gracias a ellos ha sido posible esta obra
Inmaculada Cartagena*

*A Mari Paz Merino por enseñarme a amar la Microbiología.
Gracias.*

Maria Angeles Lluch

Para Alba

Mireia Llinares

Agradecemos a los doctores S. Simeon y E. Collado por el importante aporte que han hecho con la documentación cedida desinteresadamente para la realización de nuestro libro.

Agradecemos al grupo SS21 del IES Enric Valor de Silla (Valencia) por el aporte de sus fotografías realizadas durante el desarrollo de su trabajo en el laboratorio de Microbiología.

Agradecemos la colaboración de una antigua alumna Ana Garcia por la realización de dibujos para nuestro libro.

Agradecemos a nuestra compañera Esther Gascó por cedernos documentación de uno de los temas de este libro.

M^a PAZ MERINO JIMENEZ

Profesor Técnico de Formación Profesional

Especialidad Procedimientos de Diagnóstico Clínico y Ortoprotésico

Licenciada en Farmacia

INMACULADA CARTAGENA BAYONA

Profesor Técnico de Formación Profesional

Licenciada en Farmacia

MIREIA LLINARES MARCELO

Técnico Superior de Laboratorio de Diagnóstico Clínico

M^a ANGELES LLUCH RODRIGO

Técnico Superior de Laboratorio de Diagnóstico Clínico

Autoras: M^a Paz Merino Jimenez, Inmaculada Cartagena Bayona

Coautoras: Mireia Llinars Marcelo, Maria Angeles Lluch Rodrigo

Imprime: Igrafic

ISBN: En curso

Depósito Legal: En curso

Printed in Spain/Impreso en España.

Todos los derechos reservados. No está permitida la reimpresión de ninguna parte de este libro, ni de imágenes ni de texto, ni tampoco su reproducción, ni utilización, en cualquier forma o por cualquier medio, bien sea electrónico, mecánico o de otro modo, tanto conocida como los que puedan inventarse, incluyendo el fotocopiado o grabación, ni está permitido almacenarlo en un sistema de información y recuperación, sin el permiso anticipado y por escrito del editor.

Alguna de las imágenes que incluye este libro son reproducciones que se han realizado acogiendo al derecho de cita que aparece en el artículo 32 de la Ley 22/18987, del 11 de noviembre, de la Propiedad intelectual. Educàlia Editorial agradece a todas las instituciones, tanto públicas como privadas, citadas en estas páginas, su colaboración y pide disculpas por la posible omisión involuntaria de algunas de ellas.

Educàlia Editorial S.L.

Avda. Jacarandas n^o 2 - loft 326-327 - 46100 Burjassot - València

Tel: 96 327 35 17

E-Mail: educaliaeditorial@e-ducalia.com

www.e-ducalia.com

INDICE

TEMA 1: INTRODUCCION A LA MICROBIOLOGIA

1. LA MICROBIOLOGÍA COMO CIENCIA.
2. FILOGENIA DEL REINO PROTISTA.
3. CLASIFICACIÓN Y NOMENCLATURA DE LOS MICROORGANISMOS.
4. LAS BACTERIAS Y EL HOMBRE.

TEMA 2: EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA CLINICA

1. ORGANIZACIÓN DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA.
2. MATERIAL QUE SE UTILIZA EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA.
3. TECNICAS DE DESCONTAMINACION: DESINFECCION Y ESTERILIZACION.
4. ELIMINACIÓN DE RESIDUOS.

TEMA 3: LA ESTRUCTURA BACTERIANA

1. DEFINICIÓN DE BACTERIA
2. TAMAÑO Y MORFOLOGÍA
 - TIPO DE COCOS
 - TIPO DE BACILOS
3. ESTRUCTURA BACTERIANA
 - ELEMENTOS OBLIGADOS
 - ELEMENTOS FACULTATIVOS

TEMA 4: OBTENCION Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

1. OBTENCION DE MUESTRAS
 - 1.1. RECOGIDA DE DATOS DEL ENFERMO
 - 1.2. INDICACIONES ESPECIALES
 - 1.3. SELECCIÓN DE LA MUESTRA MAS INDICADA
 - 1.4. TOMA DE MUESTRAS
 - 1.5. TRANSPORTE, PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LA MUESTRA
 - 1.6. COMUNICACIÓN RESULTADOS
2. MUESTRAS DE ORINA
3. MUESTRA DE HECES
4. MUESTRAS APARATO RESPIRATORIO
5. MUESTRAS DE OIDO
6. MUESTRAS DE OJO
7. MUESTRAS DE SANGRE

8. MUESTRAS ENFERMEDADES VENEREAS
9. LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO
10. COLECCIONES SUPURADAS
11. PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

TEMA 5: PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO. TECNICAS DE SIEMBRA. RECUESTO DE MICROORGANISMOS

1. INTRODUCCIÓN.
2. TIPOS DE MEDIO DE CULTIVO.
3. COMPONENTES QUE FORMAN LOS MEDIOS DE CULTIVO.
4. CONSERVACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO.
5. PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO.
6. CONSERVACIÓN Y CONTROL DE CALIDAD.
7. PRINCIPALES MEDIOS DE CULTIVO UTILIZADOS EN MICROBIOLOGIA.
8. SIEMBRA Y AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS.
9. MÉTODOS DE SIEMBRA Y AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS.
10. ESTUFAS DE INCUBACIÓN DE MICROORGANISMOS.
11. CONDICIONES QUE SE DEBEN TENER EN CUENTA AL HACER CULTIVOS DE MUESTRAS MICROBIOLÓGICAS.
12. MORFOLOGIA BACTERIANA MICROSCÓPICA.
13. CÁLCULO DEL NÚMERO DE COLONIAS POR MILILITRO DE MUESTRA. CÁLCULO CUANTITATIVO. DETERMINACIÓN DEL URINOCULTIVO.

TEMA 6: OBSERVACION E IDENTIFICACION DE GERMENES Y SU ESTRUCTURA

1. METODOLOGIA DE VISUALIZACIÓN DE MICROORGANISMOS.
 - 1.1. TÉCNICA DE VISUALIZACIÓN EN FRESCO.
 - 1.2. COLORACIÓN VITAL.
2. TINCIONES.
 - 2.1. FACTORES EN LOS PROCESOS DE TINCION.
 - 2.2. CLASIFICACIÓN DE LOS COLORANTES.
 - 2.3. DIVERSOS MÉTODOS DE COLORACION.
 - 2.4. FASES EN LA COLORACION.
 - 2.5. CLASES DE TINCIONES EN MICROBIOLOGIA.
 - 2.6. COLORACIONES QUE UTILIZAN UN SOLO COLORANTE.
 - 2.7. COLORACIONES QUE UTILIZAN DOS COLORANTES O TINCIONES DIFERENCIALES.
 - 2.8. COLORACIONES QUE TIÑEN ESTRUCTURAS BACTERIANAS.
 - 2.9. COLORACIONES ESPECIALES.

TEMA 7: PRUEBAS BIOQUÍMICAS

- 7.1. PRUEBAS BIOQUÍMICAS DE HIDRATOS DE CARBONO.
 1. METABOLISMO DE HIDRATOS DE CARBONO
 - 1.1. METABOLISMO ANAEROBIO O FERMENTATIVO
 - 1.2. METABOLISMO AEROBIO U OXIDATIVO
 2. PRINCIPALES PRUEBAS BIOQUÍMICAS DEL METABOLISMO DE HIDRATOS DE CARBONO.
 - 2.1. PRUEBA OXIDO FERMENTATIVA DE HUGH Y LEIFSON.
 - 2.2. PRUEBA DE PRODUCCIÓN DE ÁCIDO Y GAS.
 - 2.3. PRUEBA DE LA β GALACTOSIDASA.
- 7.2. METABOLISMO PROTEICO.
 1. METABOLISMO DE PROTEÍNAS.
 2. PRINCIPALES PRUEBAS BIOQUÍMICAS DEL METABOLISMO PROTEICO.
 - 2.1. HIDRÓLISIS DE LA GELATINA.
 - 2.2. PRODUCCIÓN DE ÁCIDO SULFHÍDRICO.
 - 2.3. PRUEBA DE LA DESCARBOXILASAS
- 7.3. PRUEBAS ENZIMATICAS
 1. ESTRUCTURA, FUNCION Y CLASIFICACION DE ENZIMAS
 2. ACCION ENZIMATICA EN LAS REACCIONES BIOLÓGICAS
 3. DETERMINACION DE PRUEBAS BIOQUÍMICAS DE ENZIMAS
 - 3.1. OXIDASA.
 - 3.2. CATALASA.
 - 3.3. COAGULASA.
 - 3.4. UREASA.
 - 3.5. NITRATO REDUCTASA O NITRATASA.
- 7.4. SISTEMAS MULTIPRUEBAS Y PRUEBAS PARA ENTEROBACTERIAS
 - MACROTECNICAS
 1. AGAR HIERRO KLIGLER (AHK).
 2. AGAR HIERRO TRIPLE AZÚCAR (TSI).
 3. AGAR SULFURO INDOL MOTILIDAD (ASIM).
 - MICROTECNICAS
 4. SISTEMA EN TIRA. IDENTIFICACIÓN:
 - MEDIANTE TABLA DE IDENTIFICACIÓN.
 - MEDIANTE TABLA CODIFICADA.
 - MEDIANTE PROGRAMA DE ORDENADOR
 5. SISTEMA EN TUBO.
 - SISTEMAS RAPIDOS
 6. TIRAS REACTIVAS Y MÉTODOS AUTOMÁTICOS

PRUEBAS PARA ENTEROBACTERIAS

7. IMViC.

- PRUEBA DEL INDOL.
- PRUEBA DEL ROJO DE METILO.
- PRUEBA DEL VOGES PROSKAUER.
- PRUEBA DEL CITRATO.

TEMA 8: BACTERIAS ANAEROBIAS

- 1. MICROORGANISMOS ANAEROBIOS**
- 2. INFECCIONES CAUSADAS POR ANAEROBIOS**
- 3. TÉCNICA DE ESTUDIO DE ANAEROBIOS**
 - TOMA DE MUESTRAS
 - SIEMBRA Y CULTIVO DE ANAEROBIOS
 - IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS ANAEROBIOS
 - ANTIBIOGRAMA

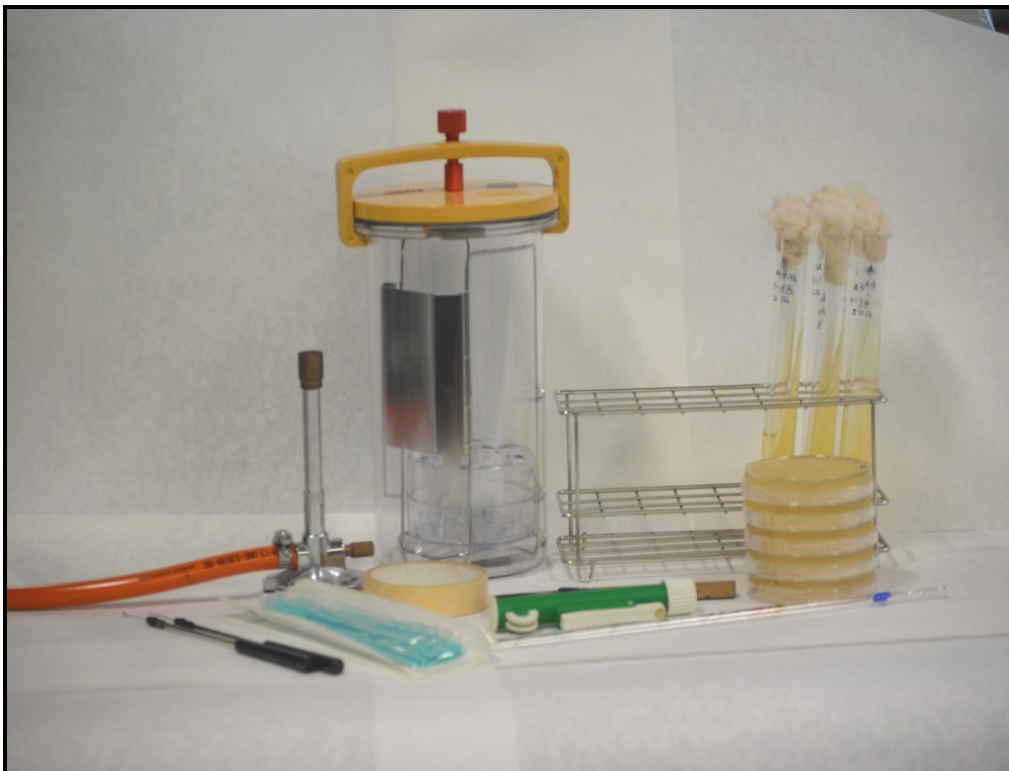
TEMA 9. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

- 1. CONCEPTOS BÁSICOS SOBRE ANTIBIÓTICOS.**
 - 2. CLASIFICACIÓN DE LOS ANTIBIÓTICOS.**
 - 3. VALORACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LOS ANTIBIÓTICOS.**
 - 5. RESISTENCIA DE LOS MICROORGANISMOS A LOS ANTIBIÓTICOS.**
 - 6. MÉTODOS AUTOMÁTICOS DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA.**
- ANEXO I: ORIGEN Y ESPECTRO ANTIMICROBIANO DE ALGUNOS ANTIBIÓTICOS.**

TEMA 10: CONTROL DE CALIDAD EN MICROBIOLOGIA

- 1. CONCEPTO DE CONTROL DE CALIDAD. CARACTERÍSTICAS DE LOS PROGRAMAS DE CONTROL DE CALIDAD.**
- 2. PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD.**
- 3. ÁREAS DE TRABAJO EN EL CONTROL DE CALIDAD.**
 - 3.1. CONTROL DE CALIDAD DE LAS MUESTRAS**
 - 3.2. CONTROL DE CALIDAD DE LOS MEDIOS DE CULTIVO**
 - 3.3. CONTROL DE CALIDAD DE LOS REACTIVOS DE IDENTIFICACIÓN**
 - 3.4. CONTROL DE CALIDAD EN LAS CEPAS DE REFERENCIA O CONTROL**
 - 3.5. CONTROL DE CALIDAD EN APARATOS**
 - 3.6. CONTROL DE CALIDAD EN EL PERSONAL**
 - 3.7. CONTROL DE CALIDAD EN SEROLOGÍA.**
 - 3.8. CONTROL DE CALIDAD EN ANTIBIOGRAMA**
- 4. GLOSARIO DE TÉRMINOS DE CALIDAD.**

EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA CLÍNICA



CONTENIDOS DEL TEMA

- 1. ORGANIZACIÓN DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA.**
- 2. MATERIAL QUE SE UTILIZA EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA.**
- 3. TECNICAS DE DESCONTAMINACION: DESINFECCION Y ESTERILIZACION.**
- 4. ELIMINACIÓN DE RESIDUOS.**

1. ORGANIZACIÓN DE UN LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA.

En la distribución del laboratorio de Microbiología Clínica hay factores que son importantes como son el tamaño y las características del local donde está situado. También es importante el tipo de personal que tiene y el tipo de analítica que allí se realiza como es analítica rutinaria, analítica de investigación etc....

En laboratorios de pequeñas dimensiones, éste servicio puede constituir una sección de un laboratorio general de análisis clínicos, pero en grandes hospitales puede ser un servicio aparte.

▪ DISTRIBUCIÓN ESPACIAL:

Está constituido por varias áreas:

a).- Vestuario del personal al que acceden desde el exterior.

b).- Sala de toma de muestras biológicas. Encontramos:

- camilla para ginecología.
- lavabo y material para realización de higiene
- material para la obtención de muestras como hisopos, jeringas etc...
- medios de transporte y cultivo para la inoculación o siembra de las muestras.
- microscopio.

c).- Sala donde se reciben las muestras y se registran sin tener en cuenta el lugar de obtención. Se registran conforme se van recibiendo. Se identifican con etiquetas adhesivas con código de barras que se le coloca a la muestra y al volante.

d).- Sala de siembra, que es donde se procesan las muestras mediante procedimientos rutinarios o especiales, se siembran en diferentes medios de cultivo y se preparan para su la tinción y observación microscópica

e).- Sala de medios de cultivo, que es donde se preparan y conservan los reactivos y los medios para la realización de los análisis. Tiene aparatos útiles como frigoríficos, campana de flujo laminar, etc... Aquí se almacenan los medios y reactivos y se controlan los albaranes y pedidos, las listas de proveedores, etc....



HOSPITAL CIUDAD NUEVA II

**VOLANTE DE SOLICITUD
DE MUESTRAS BIOLÓGICAS**

▪ **FILIACION / NOMBRE Y APELLIDOS:**

NUMERO DE CAMA O CONSULTA EXTERNA:

CENTRO DE PROCEDENCIA:

Nº DE HISTORIAL CLINICO:

▪ **FECHA Y HORA DE EXTRACCION:**

▪ **TIPO DE MUESTRA Y PROCEDIMIENTO DE EXTRACCION:**

▪ **TRATAMIENTO PREVIO:**

▪ **DETERMINACIONES ANALITICAS SOLICITADAS:**

▪ **ORIENTACIONES DIAGNOSTICAS:**

▪ **Nº DE REFERENCIA ESTABLECIDO POR EL LABORATORIO:**

VOLANTE DEL SERVICIO DE MICROBIOLOGIA

f).- Sala de esterilización, a la que se accede fácilmente desde el resto de las zonas del laboratorio. Es donde se preparan los medios y se descontaminan y donde se eliminan las muestras ya procesadas. Tiene estufas Pasteur, autoclaves de vapor, de óxido de etileno etc...

g).- Sala de Bacteriología, que es donde se procesan las muestras contaminadas por bacterias. Se hacen cultivos, tinciones, pruebas bioquímicas, pruebas de sensibilidad y otras técnicas de diagnóstico. Esta zona se divide en diversas zonas:

- Zona del aparato respiratorio: se analizan muestras de esputos y muestras faringeadas (las muestras de micobacterias se procesan a parte).

- Zona del aparato urinario, excretor y reproductor: se analizan muestras de orina, heces y semen (de enfermos con enfermedades de transmisión sexual o ETS).

- Zona de muestras de exudados como LCR, líquido ascítico etc....

- Zona de muestras de sangre.

- Zona de Micobacterias, que es una zona aislada del resto. Es de acceso restringido, dotada de altas medidas de seguridad debido al alto riesgo en su manipulación.

h).- Sala de Micología, que es donde se analizan las muestras contaminadas por hongos.

i).- Sala de Parasitología, que es donde se analizan las muestras contaminadas por parásitos.

j).- Sala de Virología, que es donde se analizan las muestras contaminadas por virus.

k).- Sala de Inmunomicrobiología, que es donde se realizan las técnicas de detección de antígenos y anticuerpos en el suero.

l).- Sala de Microscopía, donde están los microscopios con características especiales como el de fluorescencia, de contraste de fases y electrónico

m).- Sala de recogida y procesamiento de residuos, donde se trata todo el material, tanto para su eliminación como para su reutilización. Se necesitan tratamiento especial para que no se conviertan en focos de contaminación. Se dispone de autoclaves, contenedores especiales e incluso horno crematorio.

n).- Animalario, con animales de experimentación si el laboratorio se dedica a la investigación.



VISTA DE UN LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE ENSEÑANZA

■ OTRAS CARACTERISTICAS DENTRO DE LA ORGANIZACIÓN.

También tiene:

- Bancos de trabajo de material fácilmente limpiable donde sea fácil eliminar la suciedad y que sea tratable con soluciones desinfectantes.
- Suficiente luz y ventilación adecuada para el tipo de analítica que se esté realizando.
- Higiene adecuada de todo el material, de las personas que trabajan en él y lógicamente de todo el material.
- Alta seguridad al manipular de microorganismos con alto grado de patogenicidad.

■ NORMAS DE SEGURIDAD EN EL TRABAJO.

Las normas que se sigan tienen que ser válidas para cualquier laboratorio, de manera que puedan asegurar la buena realización de las técnicas para que los resultados sean lo mas correctos posibles. Deben garantizar que el trabajo del personal se haga con las mayores medidas de seguridad. Para ello se siguen unas normas denominadas **Normas de Seguridad e Higiene en el Trabajo**, que son tanto a nivel externo (son generales para todos los laboratorios) como internos (son propias de cada laboratorio).

Estas serán conocidas por todo el personal del mismo. Además el Instituto Nacional de la Salud tiene **Programas de Control de Calidad** dirigidos a todos los laboratorios.

■ **NIVELES DE SEGURIDAD DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA**

Se consideran varios niveles de seguridad. Se aplican a las técnicas que se utilizan y según la forma de estar distribuido el laboratorio.

El **NIVEL 1** es el que se aplica a los laboratorios de enseñanza en los que se trabaja con microorganismos no patógenos bien conocidos o patógenos oportunistas. Deben cumplirse las siguientes premisas:

- Las puertas se cerraran mientras se trabaja para evitar corrientes de aire.
- Las mesas se desinfectaran todos los dias al final de la jornada laboral. Tambien en caso de derrame de sustancias contaminantes.
- En microbiología el material se esteriliza antes de limpiarse o desecharse.
- No pipetear con la boca y lavarse las manos antes y después del trabajo.
- Existirán contenedores adecuados para material que no se puede descontaminar en el laboratorio. Se llevarán a sitios especializados para su eliminación como plantas incineradoras.
- Deben utilizarse programas de desinfección y desratización.
- El material del mobiliario se debe limpiar fácilmente, tiene que ser impermeable al tratarlo con sustancias desinfectantes y resistentes al calor y reactivos fuertes.

El **NIVEL 2** es el que se aplica a los laboratorios de hospitales y centros de salud. Aquí se manipulan microorganismos de peligrosidad media. Deben cumplirse las siguientes premisas:

- Se considera obligatorio usar batas y guantes en todas las técnicas.
- Solo pueden pasar personas que trabajen en éste. No pueden pasar ancianos, niños y personas con deficiencia inmunológica.
- Serán necesarias unas normas de seguridad al trabajar en el laboratorio. En caso de accidentes como derrames o pinchazos con material contaminado se debe de comunicar al responsable del laboratorio para poner un tratamiento adecuado.
- Todo el personal del laboratorio debe hacerse una analítica al empezar a trabajar para asegurarse que no actua como foco de infección.
- Se utilizan cabinas de seguridad cuando utilizamos técnicas como centrifugación, agitación vigorosa, apertura de recipientes de microorganismos liofilizados etc...por la posibilidad reproducirse diseminación de aerosoles contaminados

El **NIVEL 3** es el que se aplica a laboratorios donde se trabaja con microorganismos de alto riesgo. Se deben cumplir las normas de los dos niveles anteriores, además se cumplen las siguientes:

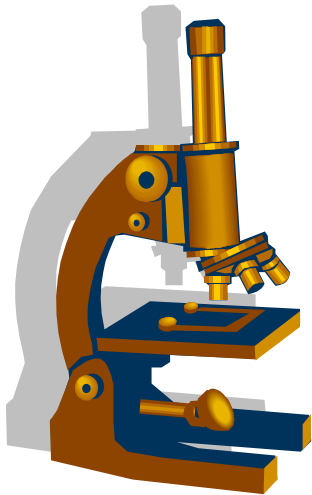
- Se trabaja siempre en las cabinas de seguridad.
- Se utilizan batas abiertas por la espalda las cuales no pueden salir del laboratorio. Se cambiarían antes de salir en unos vestuarios que tienen duchas.

- Debe tener una puerta doble de entrada y salida que cierren automáticamente y que cierren herméticamente. Las ventanas deben cerrar también herméticamente para evitar las corrientes. Los lavabos son con grifos accionables con el pie, codo o rodilla nunca con la mano para evitar contaminaciones.
- Habrá un sistema de conducción de aire con circulación desde la puerta hasta el interior del laboratorio.

El **NIVEL 4** es el que se aplica a laboratorios de investigación. Se trabaja con microorganismos de muy alta patogenicidad y riesgo muy elevado y la vía de transmisión es la respiratoria.



SEGURIDAD EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA



CLINICA COMARCAL ZONA SUR

SERVICIO DE MICROBIOLOGIA

DATOS DEL PACIENTE:

INFORME DE ESTUDIO MICROBIOLÓGICO

ESTUDIO SOLICITADO:

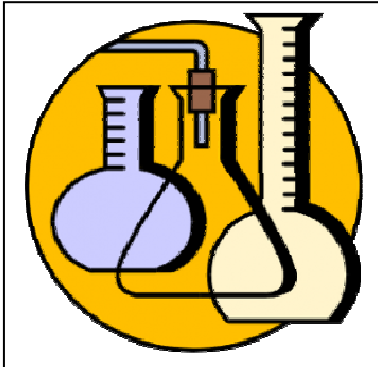
NOMBRE DEL MEDICO:

TIPO DE MUESTRA:

FECHA DE OBTENCION:

HORA DE OBTENCION:

RESULTADO:



CLINICA PLAZA

LABORATORIO DE MIROBIOLOGIA

NOMBRE: Manuel Garcia Lopez

CENTRO: Consultas externas

SERVICIO: Otorrinolaringologia

DIGNOSTICO PRESUNTIVO: Otitis en oído izquierdo

DOCTOR: Lucas Rodriguez Perez

NUMERO DE MUESTRA: 07542345

TIPO DE MUESTRA: Exudado otico

ESTUDIO MICROBIOLOGICO: Tincion de Gram. Aparecen numerosos leucocitos polimorfonucleares

AISLA: Pseudomonas aeruginosa

ANTIBIOTICOS A LOS QUE ES SENSIBLE: Gentamicina, Piperacilina, Ciprofloxacina.

FIRMA

FECHA INFORME: 25- 4 -2013

VOLANTE DE UN SERVICIO DE MICROBIOLOGIA CON RESULTADOS

2. MATERIAL QUE SE UTILIZA EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA.

Se pueden clasificar de múltiples formas:

- **Según su composición:**

- de vidrio
- de plástico
- óptico
- eléctrico
- de madera
- de materiales especiales

- **Según su empleo:**

- general de laboratorio
- específico de LMC
- específico de alguna técnica en concreto

- **Según su complejidad:**

- sencillo
- especial y complejo

- **Según su reutilización:**

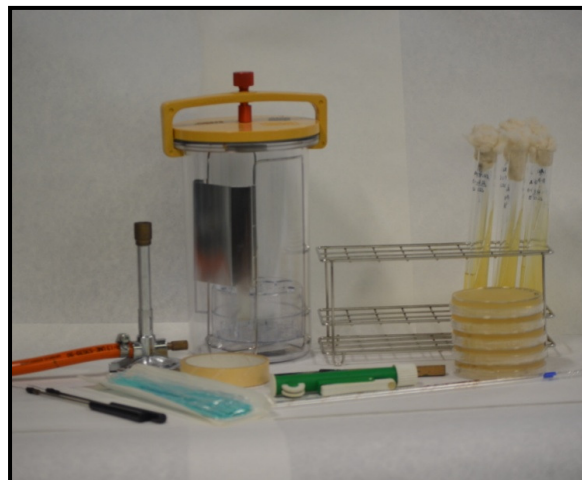
- desechable
- reutilizable

- **Según su descontaminación:**

- necesitan limpieza
- necesitan limpieza y desinfección
- necesitan limpieza, desinfección y esterilización

- **Según su riesgo potencial:**

- de escaso riesgo
- de riesgo moderado
- de elevado riesgo



3. TÉCNICAS DE DESCONTAMINACION: DESINFECCIÓN Y ESTERILIZACIÓN.

- **DESINFECTANTES Y ANTISÉPTICOS:**

- **Desinfectante** es una sustancia que se aplica sobre material inerte sin alterarlo de forma apreciable, con el fin de destruir los microorganismos.

- **Antiséptico** es una sustancia química que se aplica de forma tópica sobre los tejidos vivos (piel intacta, mucosas, heridas, etc...) que destruyen o inhiben el crecimiento de los microorganismos sin afectar a los tejidos sobre los que actúa.



DIFERENTES TIPOS DE DESINFECTANTES Y ANTISEPTICOS

➤ **CLASIFICACIÓN DE DESINFECTANTES Y ANTISÉPTICOS.**

a).- Se pueden clasificar en función de su **POTENCIA**

	ALTA	MEDIA	BAJA
INACTIVAN A	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Formas vegetativas de bacterias y hongos ▪ Micobacterias ▪ Virus ▪ Esporas 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Formas vegetativas de bacterias y hongos ▪ Micobacterias ▪ Virus lipídicos 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Formas vegetativas de bacterias y hongos
GRUPO QUÍMICO DEL QUE DERIVAN	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Aldehídos ▪ Glutaraldehído fenolado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Derivados clorados ▪ Derivados iodados ▪ Alcohol ▪ Fenol derivados 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Compuestos de amonio cuaternario ▪ Metales pesados ▪ Compuestos oxidantes

b).- Se pueden clasificar según su **ACCIÓN**:

- Los que actúan sobre la **MEMBRANA CITOPLASMÁTICA Y LA PARED CELULAR.**
- Los que actúan sobre el **NUCLEO.**
- Los que actúan sobre **PROTEÍNAS Y ENZIMAS**: pueden producir desnaturalización de proteínas, coagulación de éstas y producen oxidación de radicales libres.

c).- Se pueden clasificar en función de su **ESTRUCTURA QUÍMICA**:

ESTRUCTURA	PRODUCTO QUIMICO
ALCOHOLES	▪ALCOHOL ETILICO
BIGUANIDAS	▪CLORHEXIDINA
DERIVADOS CLORADOS	▪HIPOCLORITO SODICO
DETERGENTES CATIONICOS	▪CLORURO DE BENZALCONIO
GASES	▪OXIDO DE ETILENO
SUSTANCIAS OXIDANTES	▪PEROXIDO DE HIDROGENO
ALDEHIDOS	▪FORMALDEHIDO ▪GLUTARALDEHIDO
COLORANTES	▪VIOLETA DE GENCIANA
DERIVADOS IODADOS	▪POVIDONA IODADA ▪TINTURA DE IODO
FENOLES Y DERIVADOS	▪FENOL ▪DERIVADOS DEL FENOL
METALES PESADOS	▪NITRATO DE PLATA ▪MERCUCROMO

➤ **MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS DESINFECTANTES.**

VALORACIÓN DEL PODER ANTIBACTERIANO DE UN DESINFECTANTE QUÍMICO.

▪ **BACTERIOSTATICO:** paraliza la multiplicación del microorganismo y el proceso es reversible, con lo que se multiplican de nuevo al dejar de actuar sobre él.

Para valorar el poder bacteriostático se determina la **CMI concentración mínima inhibitoria** o concentración mínima de desinfectante capaz de inhibir el crecimiento y reproducción de un determinado microorganismo.

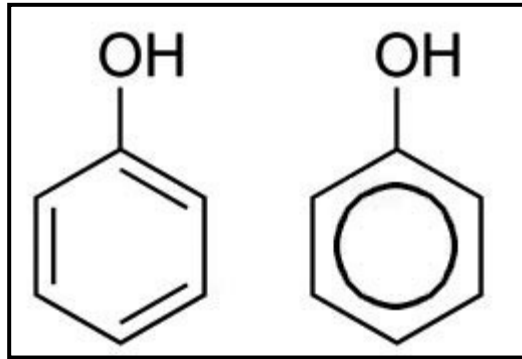
▪ **BACTERICIDA:** provoca la muerte del microorganismo y es irreversible.

Para valorar el poder bactericida se determina la **CMB concentración mínima bactericida** o concentración mínima de desinfectante capaz de producir la muerte de una suspensión patrón de microorganismos en un tiempo determinado.

UD.2. EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA CLÍNICA

► UTILIZACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LOS DESINFECTANTES EN EL LABORATORIO.

Es muy importante la determinación del Coeficiente de Fenol para evaluar la potencia de un desinfectante.



El **Coeficiente de Fenol** nos indica la potencia de un desinfectante problema utilizando como patrón el fenol. Para ello se compara el poder germicida utilizando distintas concentraciones de desinfectante problema y de fenol. Se pueden utilizar varias técnicas pero la más utilizada es la que describimos a continuación:

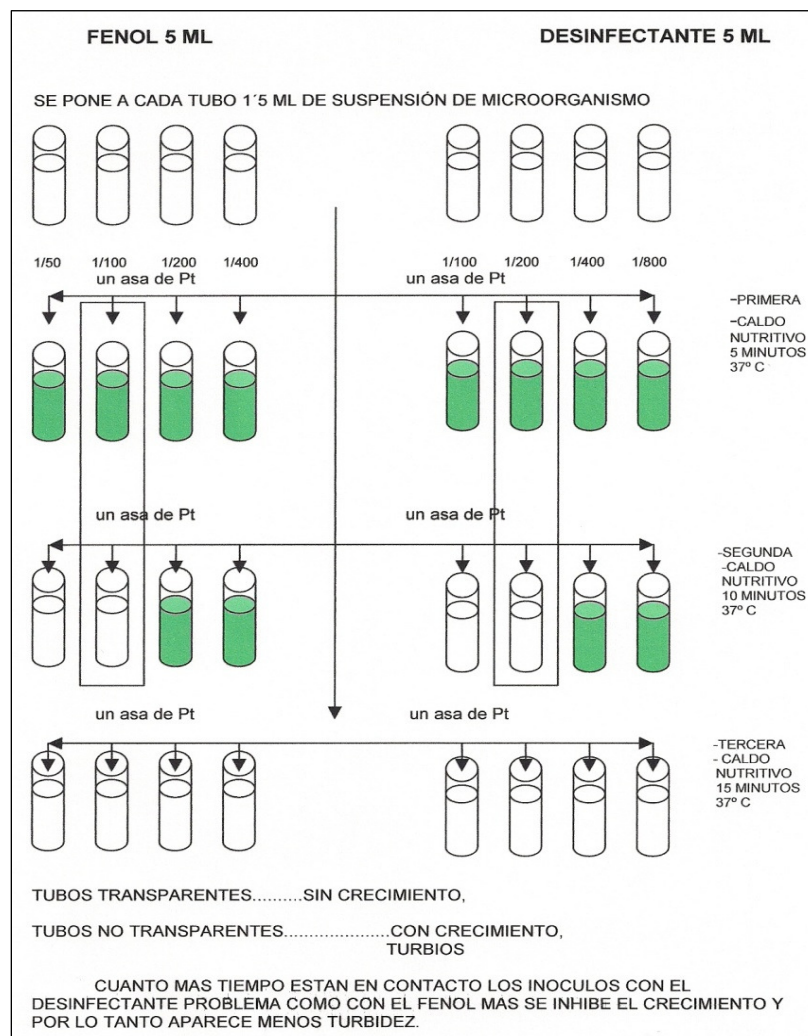
Técnica Coeficiente de Fenol

- 1).- Se preparan una serie de cuatro tubos con 5 ml de cada una de las diluciones crecientes del desinfectante a valorar que son diluciones 1/ 100, 1/ 200, 1/ 400 y 1/ 800.
- 2).- Igualmente se prepara otra serie de cuatro tubos con 5 ml de cada una de las diluciones crecientes de fenol cuya concentración es el doble que el antiséptico problema 1/50, 1/100, 1/200 y 1/400.
- 3).- Se incuban los tubos al baño maría durante 5 minutos.
- 4).- Se pone a cada uno de los tubos 1'5 ml de suspensión del microorganismo problema.
- 5).- A los 5 minutos se toma de cada tubo un asa de platino de la mezcla desinfectante-microorganismo y se siembra en caldo nutritivo.
- 6).- Se hace lo mismo a los 10 minutos y 15 minutos.
- 7).- Se incuba 48 horas a 37 ° C.

El **COEFICIENTE DE FENOL** es la relación existente entre el inverso de la mayor dilución del desinfectante problema que no inhibe el crecimiento de los microorganismos en 5 minutos de contacto pero si en 10 minutos y la mayor dilución de fenol que se comporta de igual modo.

El laboratorio debe seguir una normativa respecto a la desinfección:

1. El material debe limpiarse con un cepillo, detergente y agua caliente para material con hendiduras o relieve, con el fin de eliminar restos de materia orgánica. Después puede desinfectarse utilizando concentraciones adecuadas realizando las diluciones con agua destilada.
2. El tiempo que tiene que estar el material en contacto con la solución desinfectante varia en función del tipo y cantidad de microorganismos y del nivel de descontaminación que se quiere alcanzar.
3. Si el desinfectante es irritante y se pone en contacto con alguna zona del cuerpo, aclarar con abundante agua la zona que haya estado en contacto con él.
4. No deben mezclarse dos sustancias desinfectantes diferentes.
5. Siempre que vayan etiquetados donde refleje la fecha de fabricación y caducidad



DETERMINACION DEL COEFICIENTE DE FENOL DE UN DESINFECTANTE

➤ **CARACTERISTICAS QUE DEBE TENER UN BUEN DESINFECTANTE DE SUPERFICIE**

- Alta acción germicida, aun diluido.
- Alto espectro de acción.
- Poder bactericida mejor que bacteriostático.
- Estable y no corrosivo.
- Fácilmente soluble en agua.
- Alto poder de penetración.
- Baja tensión superficial.
- Atóxico y compatible con otros productos.
- Aceptables propiedades organolépticas.
- No alterable por la temperatura ni por el pH.

■ **ESTERILIZANTES**

➤ **CONCEPTO Y SISTEMAS DE ESTERILIZACIÓN**

La **Esterilización** es una técnica de descontaminación de microorganismos que garantiza la eliminación de todos los microorganismos patógenos y no patógenos como sus formas de resistencia, de aquel material que se somete a dicho proceso. Al referirnos a microorganismos nos referimos a hongos, bacterias y virus.

La **Desinfección** es una técnica de descontaminación que garantiza la eliminación de los microorganismos patógenos del material que se somete a dicho proceso.

Los sistemas de esterilización se pueden clasificar en:

1.- METODOS FÍSICOS:

■ **TERMICOS:**

- CALOR HUMEDO O VAPOR__ Autoclave de vapor
- CALOR SECO_____ Estufa Poupinell
- CALOR DIRECTO_____ Incineracion y flameado
- FRIO_____ Congelación

■ **NO
TÉRMICOS:**

- RADIACIONES _____ Ionizantes y no ionizantes
- FILTRACION
- SEDIMENTACION

2.- METODOS QUIMICOS :

■ **SEGÚN
SU ESTADO:**

- GASES _____ Oxido de etileno y formaldehido
- SOLUCIONES _____ Glutaraldehido y perÓxido de hidrogeno

■ **SEGÚN
SU USO**

- DE SUPERFICIE Y DEL AMBIENTE
- DE MANOS
- DE MATERIAL

3.- METODOS MECÁNICOS:

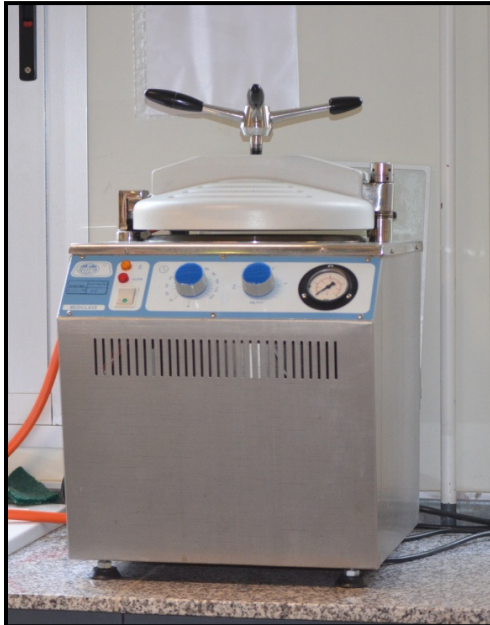
Ondas sónicas y supersónicas.

▶ **ESTERILIZACIÓN POR AGENTES FÍSICOS TÉRMICOS**

■ **CALOR HUMEDO**

TECNICA	TIEMPO Y TEMPERATURA
Ebullicion	100 ° C
Tindalizacion	55 – 90° C 30 minutos tres dias seguidos
Vapor saturado a presion	120° C
Vapor fluente	menos de 100° C
Pasteurizacion	62´8° C durante 30 minutos
Uperización	150° C de 1 a 20segundos

▪ **Vapor saturado a presión** es el mejor método de elección para la esterilización de todo el material que se vuelve a reutilizar, excepto aquel que se altera por la alta temperatura.



Los aparatos que utilizan esta técnica se denominan **autoclaves de vapor**. Son aparatos cerrados con las paredes gruesas y una bandeja donde colocamos el material a esterilizar. Los hay de diferente tamaño. La acción sobre los microorganismos la hace por desnaturalización de las proteínas. Cuando se encuentran en estado vegetativo que es cuando tienen capacidad infectante, se reproducen a T^a entre -5° C y +80° C.

Pasada ésta temperatura las formas vegetativas se destruyen rápidamente. Pero las formas esporuladas no tienen capacidad infectante, se encuentran en un estado de vida latente y resisten temperaturas más altas.

Es un sistema cuyo funcionamiento se basa en el vapor de agua. Debe ser saturado, puro y que no tenga aire.

Este vapor de agua debe acceder a todos los lugares del material que permanece limpio, seco y empaquetado con lo que la esterilización sería correcta.

ETAPAS DEL PROCESO DE ESTERILIZACION AUTOCLAVE DE VAPOR	
Tiempo de Preparación → Tp	tiempo de preparación que es el tiempo que tarda en eliminarse el aire de dentro de la autoclave cuando está cargado con el material.
Tiempo de Calentamiento → Tc	tiempo de calentamiento que es el tiempo que transcurre hasta que la temperatura del interior del autoclave llega hasta la temperatura de esterilización. Sería 121° C para material de vidrio y caucho y 134° C para material textil y quirúrgico.
Tiempo de Exposición → Te	tiempo de exposición que es la etapa en que se destruye toda forma de vida de dentro. El tiempo varía según la temperatura, pero la más frecuente es 15-20 minutos para 120° C. En estas condiciones se utiliza 1 atmósfera de presión, que es suficiente para eliminar todo tipo de microorganismos y formas de resistencia.
Tiempo de Desvaporización → Td	tiempo de desvaporización que es la etapa en la que se elimina la presión de dentro del autoclave.

Pero este sistema tiene inconvenientes como que al utilizar una temperatura elevada se corroe el material metálico con lo que se deterioran los filos cortantes y el material termolábil como aceites, grasas y polvos se destruyen por la alta temperatura.

■ **CALOR SECO**

▪ **Hornos pasteur o estufas poupinelle:** Se basa en la circulación de aire caliente en el interior del aparato a elevada temperatura regulada por un termostato. El material limpio y seco se coloca en unas bandejas a diferentes alturas. La eliminación de microorganismos se basa en la desecación de estos necesitando más tiempo para eliminar las esporas.



El material sufre por las altas temperaturas como el de vidrio que puede alterar su calibración.

La carga debe estar separada para que el aire circule entre el material. Se le pone la temperatura correspondiente y el tiempo de esterilización.

ETAPAS DEL PROCESO DE ESTERILIZACION HORNOS PASTEUR	
Tiempo de calentamiento → Tca	tiempo de calentamiento que es el tiempo desde que se conecta hasta que llega la temperatura de esterilización.
Tiempo de Compensacion → Tco	tiempo de compensación que es el tiempo que necesita toda la carga para alcanzar la temperatura.
Tiempo de Esterilización → Te	tiempo de esterilización que es el tiempo que se necesita para la destrucción de todos los microorganismos eliminar todo tipo de microorganismos y formas de resistencia.
Tiempo de Seguridad → Ts	tiempo de seguridad que es el tiempo que se añade para asegurar que la eliminación de las formas de resistencia es correcta. autoclave.
Tiempo de Enfriamiento → Te	tiempo de enfriamiento que es el tiempo que pasa hasta que la temperatura nos permite abrir la estufa sin problemas.

■ CALOR DIRECTO

▪ **El flameado** consiste en exponer a la llama del mechero hasta alcanzar el rojo vivo aquello que vayamos a esterilizar.



MECHERO BUNSEN

Eliminamos todos los microorganismos patógenos y no patógenos de aquel material que resiste las altas temperaturas como asas de platino, puntas de pipetas Pasteur etc y no se utiliza para material susceptibles de perder el filo y la calibración.

▪ **La incineración** consiste en someter un material a las llamas hasta su total destrucción poniendolo en incineradores. Se utiliza para material desechable y material infeccioso residual.



INCINERADOR

➤ ESTERILIZACIÓN POR AGENTES FÍSICOS NO TÉRMICOS

■ RADIACIONES

▪ RADIACIONES IONIZANTES

Aportan la energía necesaria para ocasionar a nivel atómico en el material, la excitación de electrones que acceden a orbitales superiores, y se liberan del átomo produciendo como resultado iones con carga positiva igual al número de electrones desprendidos. Las más representativas son la gamma y la beta.



La **radiación gamma** solamente se utiliza a nivel industrial debido a su alto coste. Destruye los microorganismos al producir en su material genético alteraciones que producen la muerte. Son muy penetrantes y letales por lo que en su manipulación se utilizan estrictas medidas de seguridad.

Se utiliza para esterilizar material termosensible de plástico, jeringas, agujas, catéteres, sondas, preparados farmacéuticos, cultivos de tejidos, huesos, cartílagos etc...

La **radiación beta** tiene un menor poder de penetración que la anterior por lo que no se necesitan tantas medidas de seguridad. Se esteriliza material de aluminio.

■ RADIACIONES NO IONIZANTES

No forman iones cuando inciden sobre la materia. El efecto esterilizante se basa en el calor, que produce mutaciones genéticas en los microorganismos y esto les conlleva a la muerte.

Las **radiaciones UV** se caracterizan por el poco poder de penetración y acción microbiostática.

Su efecto es a nivel del núcleo del microorganismo produciendo alteraciones irreversibles que son compatibles con la vida de los microorganismos. No se logra una esterilización completa y los hongos y virus son resistentes a esta radiación.



Las **radiaciones infrarrojas** son las que basan su poder esterilizante en el efecto calor, alcanzando temperaturas próximas a los 280° C.

■ FILTRACIONES

Con los filtros se eliminan las partículas contaminantes que tengan un tamaño superior al tamaño de poro del embudo.



FILTRO DE PORCELANA

Tenemos varios ejemplos:

- Filtros de vidrio poroso: son de vidrio altamente triturado.
- Filtros de membrana: membranas porosas de esteres de celulosa.

■ SEDIMENTACION

Este sistema se utiliza como método de descontaminación en las plantas potabilizadoras.

El mecanismo de acción es dejar sedimentar, de tal manera que se van al fondo aquellas partículas que contaminan, por la acción de la gravedad, por lo que se separan del resto.

Este sistema se utiliza en la obtención de aguas limpias para el riego a partir de las aguas residuales de los municipios.



➤ ESTERILIZACIÓN POR AGENTES QUÍMICOS

- **SEGÚN SU ESTADO:**
 - GASES _____ Oxido de etileno y formaldehido
 - SOLUCIONES _____ Glutaraldehido y perÓxido de hidrogeno

- **SEGÚN SU USO**
 - DE SUPERFICIE Y DEL AMBIENTE
 - DE MANOS
 - DE MATERIAL

■ ESTERILIZACION POR GASES

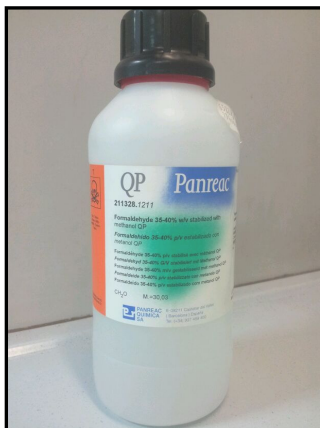
▪ **Oxido de etileno:** es un gas incoloro, soluble en disolventes orgánicos, inflamable y explosivo mezclado con aire. Los aparatos que se utilizan con éste sistema se llaman autoclaves de oxido de etileno. Su mecanismo de acción se basa en la alquilación de las proteínas y ácidos nucleicos de los microorganismos produciendo la muerte. Es un agente esterilizante por ser altamente tóxico, pero es también tóxico para las personas por lo que las medidas de seguridad son necesarias al utilizarlo.



AUTOCLAVE POR
OXIDO DE ETILENO

Se caracteriza por lo siguiente:

- Tiene efecto sobre las formas vegetativas de todas las bacterias, sobre las esporas y sobre los virus. Actúa rápidamente y a bajas temperaturas.
- No es corrosivo ni deteriora el material con filo.
- Se utiliza combinado con otros gases formando mezclas no inflamables y necesita entre un 40-60 % de humedad para que tenga este efecto esterilizante.
- Cuando se esteriliza el material se debe airear para eliminar los restos de gas ya que es muy tóxico. Este gas se considera productor de cáncer y productor de mutaciones en el material genético. Pasa por vía respiratoria o por contacto con la piel. Produce la muerte a concentraciones entre 0'05-0'10 %. La intoxicación aguda incluso a concentraciones muy bajas se manifiesta por la aparición de dolores de cabeza, de mucosas que se irritan, náuseas y vómitos, disnea, vértigo, mareo y somnolencia.
- **Formaldehído:** es un gas incoloro de olor fuerte y con propiedades germicidas sin tener un efecto totalmente esterilizante ya que algunos microorganismos presentan resistencia a él.

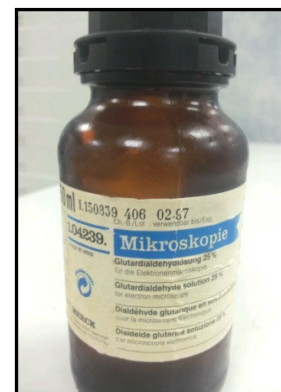


FORMALDEHIDO

Provoca carcinomas nasales y nasofaríngeos por ello se emplea poco.

■ ESTERILIZACION POR LIQUIDOS

▪ **Glutaraldehído:** se hacen inmersiones del material en soluciones a concentración al 2% y desde 10 minutos a varias horas. Tiene el inconveniente de que caducan por lo que no se utiliza.

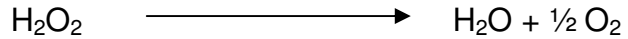


•**Peroxido de hidrogeno:** es un líquido transparente e incoloro. Al descomponerse se produce oxígeno y la reacción produce alto nivel de calor que se aprovecha para ejercer su acción esterilizante.



PEROXIDO DE HIDROGENO

Tiene una alta capacidad oxidante por ello las soluciones con gran concentración se guardan lejos del calor, en recipientes de aluminio y se manejan con guantes de goma.



■ ESTERILIZACION POR AGENTES MECANICOS

Ondas sonicas y supersonicas: provocan en el material vibraciones mecánicas que producen alteraciones en la estructura de los microorganismos y les provocan la muerte.

➤ **INDICADORES DE ESTERILIZACION**

a).- **Que controlan el proceso de esterilización: Químicos y Biologicos**

- Químicos: tenemos

{	- Tiras reactivas
	- Ampollas

▪ Tiras reactivas:

producen un cambio de color al alcanzar la temperatura de esterilización que le corresponde.



- Ampollas: que cambian el estado de su contenido desde sólido a líquido.



Tenemos las ampollas de anhídrido succínico que tiene el punto de fusión a 119'6 ° C.

A esta temperatura se funde de sólido a líquido.

- Biologicos: son los que utilizan la capacidad de pasar a formas vegetativas desde la forma esporulada como en el caso de Bacillus Stearothermophylus.

b) Que controlan el producto esterilizado:

Para ello después de realizarse la esterilización, se cultiva el producto esterilizado y se comprueba si existe crecimiento con lo que nos indicaría que la esterilización no ha sido correcta.

▶ INDICADORES DE FILTRACION

El líquido filtrado se siembra para comprobar que la esterilización ha sido correcta.

4. ELIMINACION DE RESIDUOS.

■ CONCEPTO DE RESIDUO DE CENTROS SANITARIOS

Son residuos de centros sanitarios todos aquellos sólidos, líquidos o gases que se guardan en envases especiales y que se generan en dichos centros.

El centro sanitario es un lugar en el que se desarrollan actividades relacionadas con la atención a la salud humana.

■ CLASIFICACIÓN DE TIPO DE RESIDUOS

1.- SEGÚN SU PROCEDENCIA:

A).- DE TIPO CLINICO:

Son restos biológicos que se obtienen de pacientes, o bien de materiales que hayan estado en contacto con estos.

■ **Infecciosos:** producen infección por contener microorganismos. Pero debe de cumplir que sean:

- Microorganismos patógenos, suficientemente virulentos y que esten en cantidad suficiente para provocar enfermedad.
- Que penetre en el receptor y que este sea susceptible de contraer la infección transmitida por el microorganismo.

■ **No infecciosos:** son los que no pertenecen al apartado anterior, por ello el resto de los residuos producidos en el centro hospitalario.

B).- DE TIPO RADIATIVO

Son materiales radiactivos o contienen sustancias radiactivas que son capaces de contaminar el medio ambiente.

2.- SEGÚN SU ESTADO FISICO

A).- LIQUIDOS:

Unos se pueden eliminar a la red de alcantarillado cosa que no afecta a los recursos hidráulicos o bien de prohibida eliminación a la red de alcantarillado que son los radiactivos y los citostáticos. Además existen otros que se tratan previamente al vertido como aceites, grasas, colorantes etc....

B).- RESIDUOS SOLIDOS:

- **TIPO I** : no específicos de la actividad asistencial como documentos, envases, equipamiento medico estropeado etc....
- **TIPO II:** se producen como resultado del trabajo clínico, sin ser infecciosos.
- **TIPO III:** son los que tienen una gran capacidad de infección como los residuos de los laboratorios como cultivos de gérmenes etc



RESIDUOS DE TIPO CLÍNICO

■ TRATAMIENTO Y ELIMINACIÓN DE RESIDUOS HOSPITALARIOS

El tratamiento de los residuos se refiere a la manipulación de los mismos mediante métodos químicos, térmicos, biológicos etc...para permitir su eliminación sin perjudicar al ser humano o al medio ambiente.

- **TIPO I:** se eliminarán como la mayoría de los residuos urbanos en vertederos controlados que cumplen la legislación vigente.

- **TIPO II y TIPO III:** se eliminarán mediante incineración.

La eliminación de éstos residuos depende del estado físico de éstos. Pueden ser de tipo líquido y poderse verter a la red de alcantarillado. Si el vertido a la red no es posible se debe seguir el siguiente criterio de actuación: diluir los residuos líquidos con agua y neutralizarlos hasta pH entre 2-12´5. Para los explosivos se diluyen en una cantidad igual de agua y para los colorantes se diluyen con un volumen de agua 5 veces superior.



SEPARACIÓN DE RESIDUOS CLÍNICO

■ PELIGROS QUE CONLLEVA TRATAR INCORRECTAMENTE LOS RESIDUOS

Hay tres tipos de riesgos:

- **Tipo infeccioso:**

bacterias, virus etc... pueden producir infecciones.

- **Tipo tóxico:**

lo producen los fármacos citostáticos, ácidos y bases fuertes.

- **Tipo radiactivo:**

está muy controlado por las altas medidas de protección que llevan las personas que trabajan con estos materiales.