

TP N°1: BIOSEGURIDAD, ESTERILIZACIÓN Y MEDIOS DE CULTIVOS



BIOSEGURIDAD

Es la aplicación del conocimiento, normas, medidas y protocolos necesarios para prevenir la exposición del personal del área de laboratorio y del medio ambiente a agentes biológicos, físicos y químicos.



Niveles de Bioseguridad de un laboratorio: 1, 2, 3, 4
Se encuentran en relación directa con el grupo de riesgo I, II, III, IV de los microorganismos que se manipulan en el lugar

Nivel de Bioseguridad 1: Con equipos de seguridad y reglamentaciones de carácter general, se trabaja con microorganismos de grupo de riesgo I (escaso riesgo individual). Son MO no patógenos, como ser bacterias de alimentos, mohos, levaduras comunes.

Nivel de Bioseguridad 2: Laboratorios que trabajan con MO de grupo de riesgo II (riesgo individual moderado), podrían llegar a producir enfermedad en el hombre o animales, pero son controlados con normas rutinarias de laboratorio. Por ejemplo, *Staphylococcus*, *Streptococcus*.

Nivel de Bioseguridad 3: Laboratorios que trabajan con agentes de grupo de riesgo III (riesgo individual elevado), pueden provocar enfermedades graves a quien lo manipula, pero el riesgo de propagación es limitado, tienen pocas posibilidades de escapar del laboratorio. Por ejemplo, *Brucella*, *Salmonella*.

Nivel de bioseguridad 4: Laboratorios de alta seguridad, se trabaja con agentes de grupo de riesgo IV (elevado riesgo personal), los agentes en este grupo son virus. Requieren medidas estrictas de seguridad por ser muy patógenos y propagarse rápidamente. Por ejemplo, el virus de la Fiebre Aftosa.

NORMAS DEL LABORATORIO

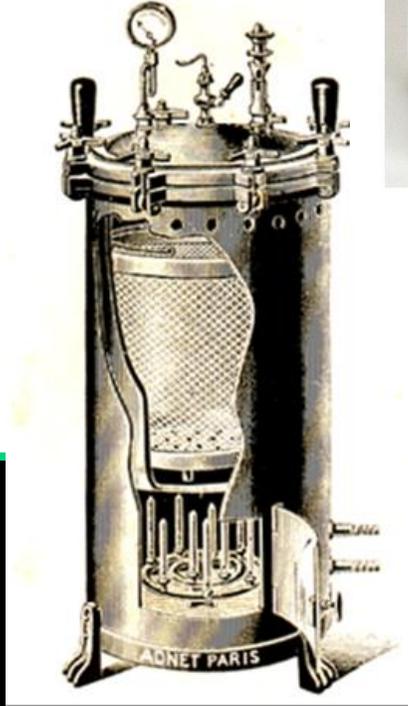
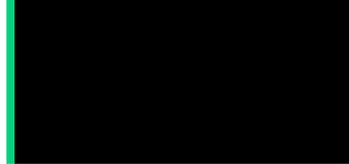
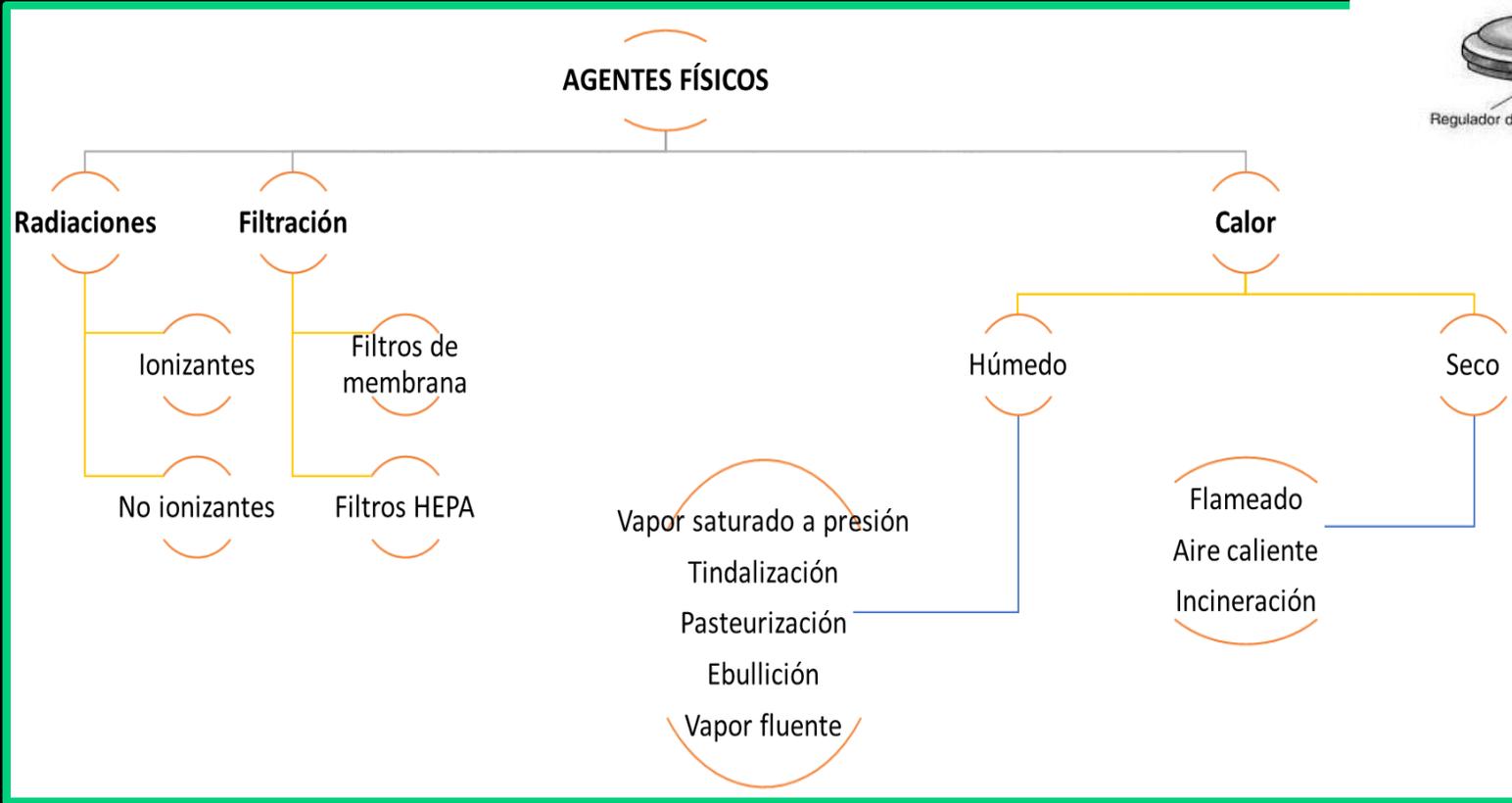


ESTERILIZACIÓN

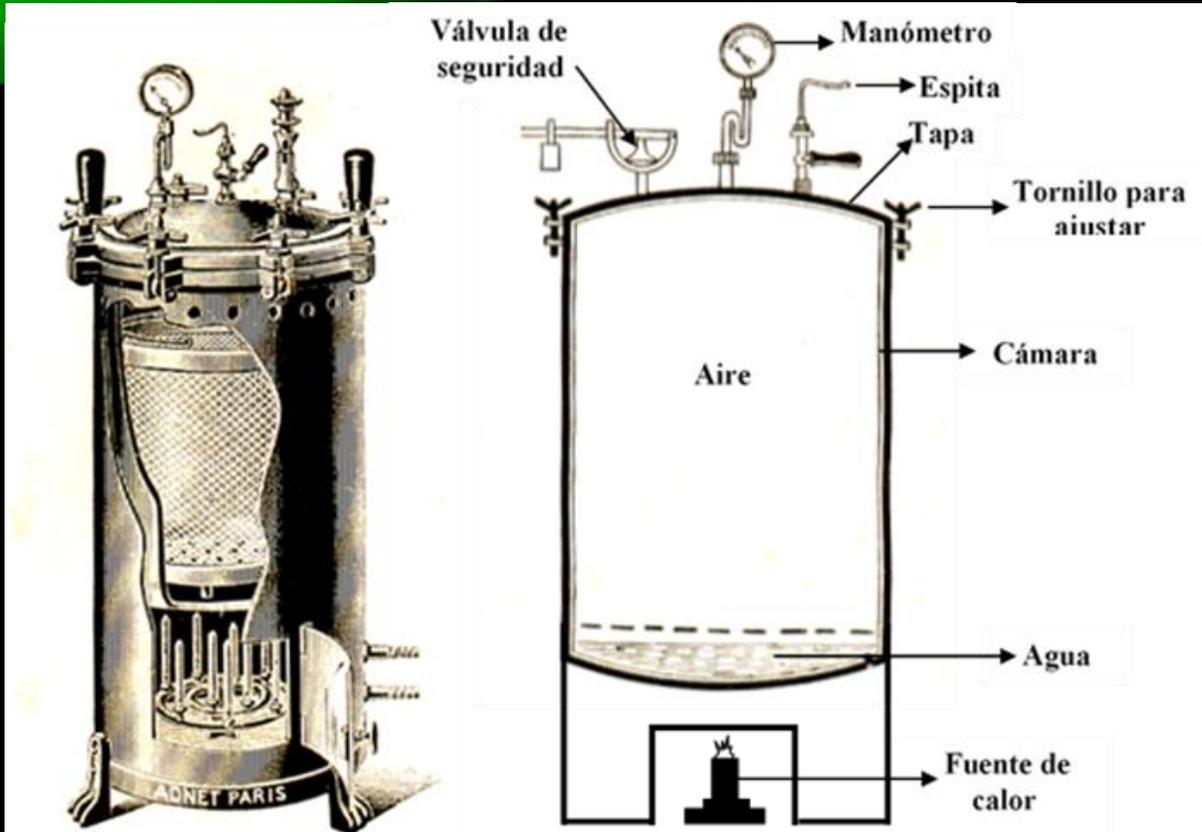
- Se denomina al proceso que tiene por objeto la destrucción completa de los microorganismos existentes en el interior o en la superficie de cualquier material.
- Esterilidad indica ausencia total de microorganismos, de las formas viables de los microorganismos.
- Es un término absoluto, un objeto está estéril o no.
- Todo medio de cultivo y material de laboratorio antes de su utilización deben ser esterilizados.
- Puede realizarse de diferentes modos, según el elemento que se trate.

AGENTES FÍSICOS

AGENTES QUÍMICOS



AUTOCLAVE



Precauciones

Si se abriera la espita durante el enfriamiento, la brusca descompresión produciría la ebullición violenta de los líquidos y los proyectaría fuera de los recipientes. Por otra parte, si se abre demasiado tarde, el vapor se habrá condensado sobre los papeles y algodones, y se habrá acelerado el deterioro de la junta de goma por el vacío formado.

El agente esterilizante es el vapor de agua saturado a presión superior a la normal.

El principal mecanismo responsable de la muerte microbiana es la coagulación de proteínas como consecuencia de una liberación de energía por acción de vapor de agua saturada.

Es el procedimiento más efectivo de esterilización por calor húmedo.

Con una presión de 1.05 atm la temperatura se eleva a 121°C que causará la muerte de todos los microorganismos y sus endosporas en alrededor de 15 minutos.

Tindalización

Se utiliza para alimentos o esterilizar medios de cultivo que no pueden sufrir la acción de altas temperaturas ej. suero sanguíneo.

Se somete el material a calentamientos durante un tiempo determinado varios días, seguidos de períodos de incubación.

Se basa en presencia de formas vegetativas y esporuladas, las primeras mueren en el 1º calentamiento, mientras que en el proceso de reposo las formas esporuladas pasan a vegetativas y son eliminadas en el 2º calentamiento, los posteriores calentamientos completan el proceso. 100°C por 30 minutos (variable).

Pasteurización

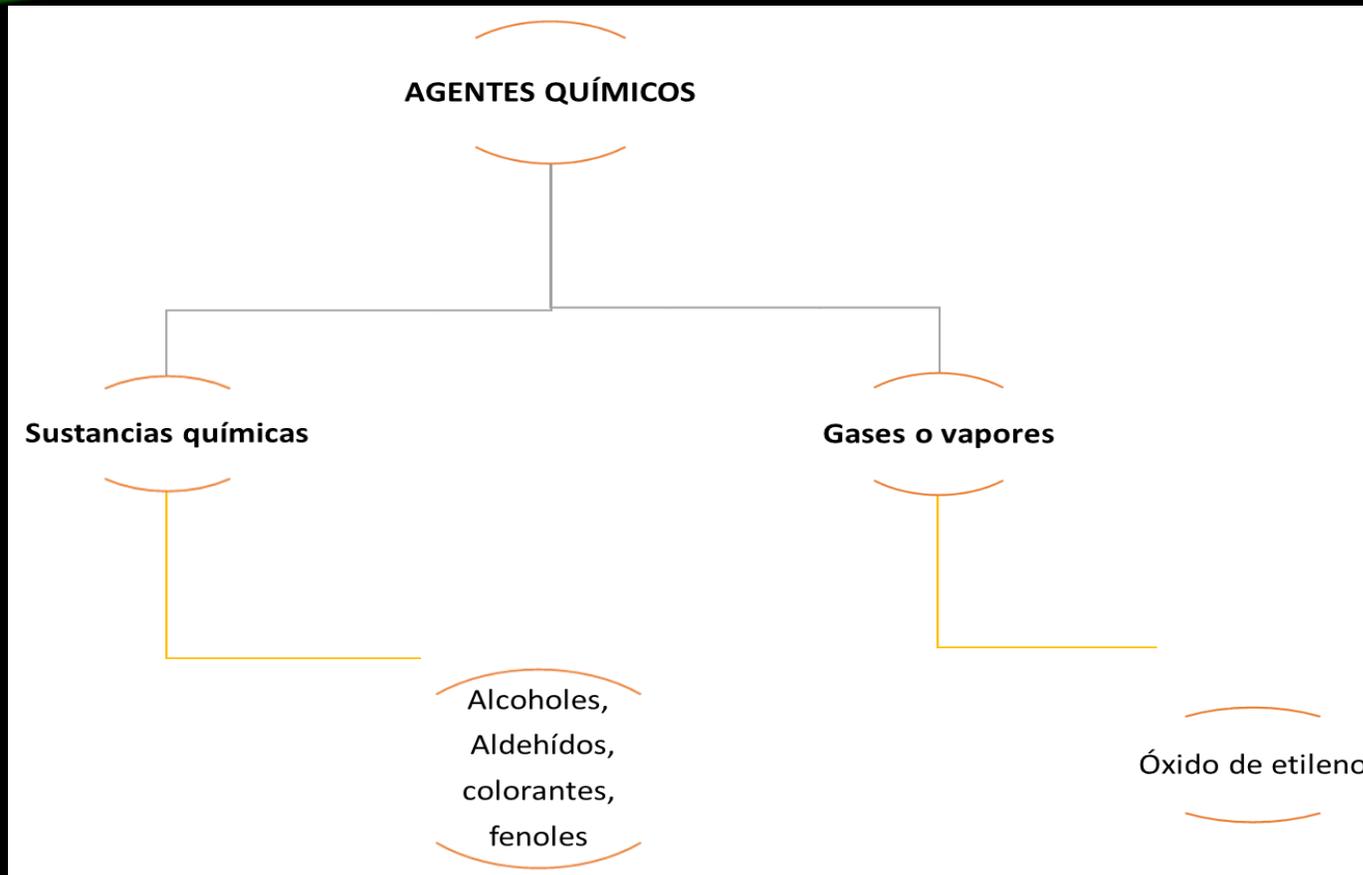
Se reduce considerablemente la carga bacteriana en productos en los que el calor interfiere negativamente sobre sus características organolépticas.

Se realiza en alimentos como la leche, el vino y la cerveza. En este proceso solo se eliminan las formas vegetativas, y no las esporas. Por lo tanto, no se considera un proceso de esterilización.

Permite alargar el periodo de almacenamiento de los productos. El tratamiento consiste en hacer pasar el alimento líquido por un tubo en contacto con la fuente de calor a 71°C durante 15 segundos, a continuación, se enfría.

Filtración

La acción de tamiz impide el paso de bacterias, virus, etc. Se utilizan para esterilizar fluidos, líquidos y gases. Pueden eliminarse las bacterias del aire por filtración (cámaras de flujo laminar estéril) y de los líquidos a través de membranas filtrantes u otro filtro.

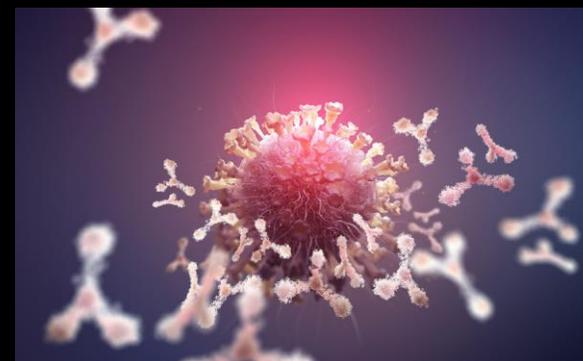


MEDIOS DE CULTIVO

Es un sustrato o solución de nutrientes que proporciona una mezcla y concentración equilibrada de los nutrientes que junto a factores ambientales adecuados permite el desarrollo de determinados microorganismos en condiciones de laboratorio.

Son utilizados para:

- ❖ Aislamiento y propagación
- ❖ Estudio de las propiedades fisiológicas, metabólicas, morfológicas, antigénicas y patogénicas.
- ❖ Transporte y conservación.
- ❖ Estudio de la sensibilidad de los gérmenes a los antimicrobianos.
- ❖ Fabricación de antígenos para el desarrollo de vacunas
- ❖ Selección de mutantes o variantes genéticas



COMPONENTES HABITUALES DE LOS MEDIOS DE CULTIVO:

-Agua

-**Peptona**: se obtiene por hidrolisis de proteínas. Constituyen la fuente de Nitrógeno, Carbono y Azufre.

-**Extracto de Carne**: concentrados de productos hidrosolubles de la carne (corazón, cerebro, músculos o hígado de buey) ricos en xántinas, glucógeno, vitaminas, oligoelementos.

-**Hidratos de carbono**: Aportan fuentes de Carbono al medio.

-**Minerales**: dependen de la exigencia del microorganismo.

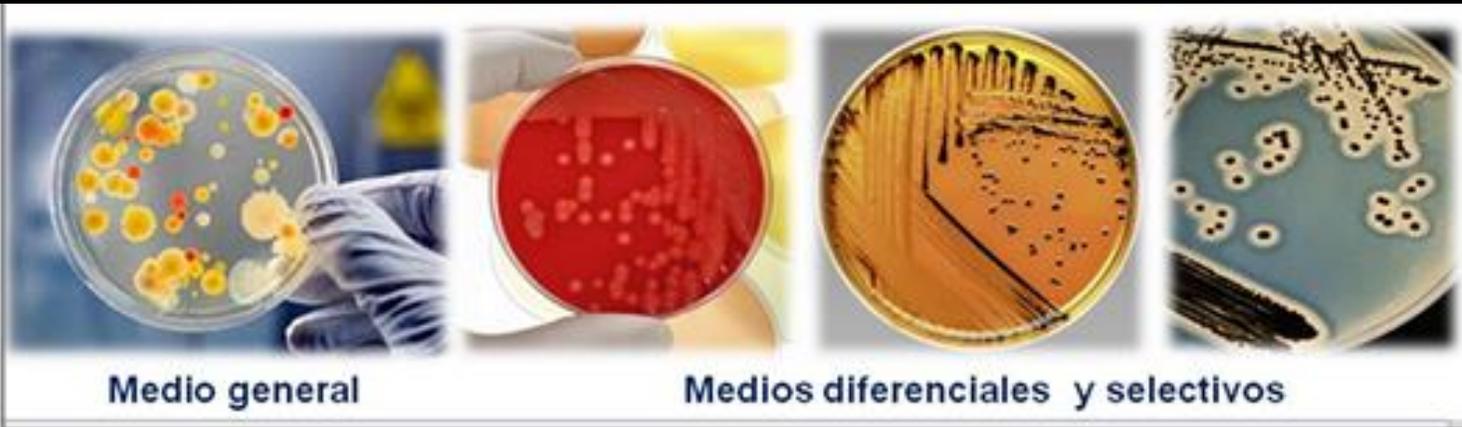
-**Factores de crecimiento**: aminoácidos, vitaminas, bases púricas y pirimidinas.

-**Agar**: agente gelificante de los medios, polisacárido que se obtiene de ciertas algas marinas, que no es nutriente para los microorganismos



CLASIFICACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO

Según su
composición:



Según su
consistencia:



REQUERIMIENTOS PARA EL CRECIMIENTO MICROBIANO

FÍSICOS

Temperatura:

- Psicrófilos: crecimiento optimo entre 5°C y 30°C
- Mesófilos: crecimiento optimo entre 25°C y 40°C
- Termófilos: crecimiento optimo entre 50°C y 60°C

pH: La mayoría de las bacterias son neutrófilas, crecen mejor en un rango de pH entre 6,5 y 7,5. Los hongos tienen un rango de tolerancia mayor que las bacterias.

Hidratación: es fundamental para el crecimiento bacteriano. Casi todos los nutrientes que estos utilizan están disueltos en un medio acuoso.

Oxigeno, pueden ser:

- Aerobios: crecen en presencia de oxígeno.
- Anaerobios: crecen en ausencia de oxígeno. Para estos microorganismos el oxígeno resulta tóxico.
- Anaerobios facultativos: crecen en medios con oxígeno y sin él.

QUÍMICOS

Carbono, N, S, P, metales, Oligoelementos, Factores de crecimiento.

Agar nutritivo:

Caldo nutritivo 8g

Agar 15g

1 litro de agua.

pH aproximadamente 7,3.

Los hongos suelen crecer más lento que las bacterias y toleran mejor la acidez.

Agar de Sabouraud:

10 g de peptona

20 g de glucosa

18 g de agar

1 litro de agua

pH es aproximadamente 5,6.



PREPARACIÓN DE MATERIAL DE VIDRIO

