

 **MICROBIOLOGÍA**

**PREPARACIÓN DE MATERIAL**

**NOMBRE:\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ FECHA:\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

**INTRODUCCIÓN**

 En el trabajo del laboratorio de Microbiología tienen importantísima aplicación los procedimientos, técnicas y productos que suprimen o disminuyen la vitalidad de los microorganismos patógenos. No existe un procedimiento de esterilización y desinfección aplicable a todos los casos.

 El método de esterilización será seleccionado para cada caso teniendo en cuenta la naturaleza física del objeto y la naturaleza biológica del contaminante. Como rara vez se conoce la población de microorganismos sobre un objeto que debe ser tratado, debemos presuponer que se encuentran presentes las formas microbianas más resistentes: las endosporas.

El método de esterilización a emplearse debe ser previamente valorado.

Actualmente existen valores tabulados de tiempo de exposición, temperatura y concentración de principios activos para los métodos de esterilización más usados que nos permiten elegir el más adecuado para cada caso. En la elección debe tenerse en cuenta también el uso posterior que le será dado (o no) al objeto a esterilizar.

Para asegurar el éxito de un proceso esterilizante es necesario considerar las siguientes pautas:

1. Esterilización previa: Será necesaria cuando el material y/ o equipos hayan sido utilizados con material infeccioso o presunto infeccioso, por ejemplo placas de Petri inoculadas, tubos conteniendo cultivos de microorganismos, etc. Serán esterilizados en autoclave a 1 atm. de presión durante 15 – 30 minutos. Para las pipetas, micropipetas y tubos de hemólisis puede emplearse este método o sumergirlas inmediatamente después de ser utilizadas en solución desinfectante de formol al 10 % durante una hora.

 2. Limpieza previa: Se realizará para eliminar las partes gruesas de suciedad o residuos no infecciosos (gratitud, resto de pegamento, cinta adhesiva, carbono, tinta de rotulado, etc.). Se empleará el raspado con espátulas, cepillo, esponjas metálicas, paños, etc. Se enjuagará repetidas veces bajo el chorro de agua corriente a presión (conectando a la canilla un tapón perforado o tapando parcialmente con un dedo). Se aconseja un último enjuague con agua destilada. Se dejará secar en canasto o rejilla de alambre boca abajo a temperatura ambiente o estufa a 60 – 80 °C. El material de vidrio que luego de este tratamiento aún quedase manchado será sumergido en una solución sulfocrómica durante 24 hs (Este procedimiento lo realiza personal especializado del Droguero).

 3. Preparación del material de vidrio: este acondicionamiento debe realizarse de manera tal de asegurar la perfecta esterilización del mismo en todos sus puntos y evitar la posterior contaminación.

 a. Placas de Petri: se envuelven en papel madera según la técnica indicada por el instructor (se esterilizan en estufa a 160- 180ºC durante dos o una hora respectivamente).

 b. Tubos de ensayos, tubos de hemólisis y tubos de Khan: se confecciona en tapón de algodón y se cubre con un capuchón de papel aluminio. (Se esterilizan en estufa).

c. Pipetas: se obtura el extremo superior con un filtro de algodón y luego se envuelven con tiras de 4 a 5 cm. de ancho de papel madera comenzando por la punta de la misma.

 Debe rotularse cada una con la capacidad y graduación correspondiente (se esterilizan en estufa).

**MATERIAL**

Cristalería que se vaya esterilizar

Algodón

Papel Estrasa un rollo grande

Cinta masking tape

Isopos largos

Gasas

Cloro comercial 250 ml.

Agua destilada

**PROCEDIMIENTO**

1. Esterilizar el material usado presuntamente infeccioso en autoclave (descontaminación)

2. Limpiar los materiales reutilizables descontaminados.

 3. Acondicionar el material limpio para ser esterilizado.

a) placas de Petri

b) pipetas

c) tubos de ensayos

*Autoclave: (Vapor a presión)*

Para lograr una esterilidad confiable el método estándar es el vapor saturado, en autoclave, a una temperatura de 121 °C durante 15 minutos.

En el caso de descontaminación el tiempo puede extenderse a 30 minutos. Esta temperatura se logra por vapor de agua a una atmósfera de presión sobre la presión atmosférica.

Los recipientes a colocar en la autoclave no deben estar totalmente llenos y deben tener tapas flojas o estar tapados con algodón con una sobre tapa para permitir la ebullición libre y la liberación del aire disuelto.

Para grandes volúmenes de líquidos se debe permitir un mayor tiempo de purgado. Este método se utiliza para esterilizar medios de cultivos y soluciones. En el caso de líquidos, éstos no deben formar emulsiones con el agua como Ej.: aceite o vaselina.

También se utiliza para esterilizar ropa de cama o material textil en general, siempre que la autoclave esté provisto de un sistema de secado por vacío.

***Flamead*o**

Pasar dos o tres veces por la llama del mechero de Bunsen varillas de vidrio, bocas de tubos, frascos y similares.

Las asas y otros utensilios metálicos se someten a la llama directa hasta calentarse al rojo. Las pinzas se sumergen en alcohol y luego se secan a la llama. Estos métodos son instantáneos y no mantienen la esterilidad en el tiempo.

***Estufa de esterilización***

El proceso de esterilización requiere mayor temperatura y tiempo que en el caso del vapor saturado, ya que tiene una menor capacidad de tomar, transportar y ceder el calor. La temperatura de esterilización puede variar entre los 160 °C, 2 horas a 180 °C 1 hora. El papel y el algodón no deben esterilizarse a más de 170 °C, ya que se carbonizan.

Normas de uso generales de la estufa

Los materiales no deben colocarse superpuestos ni tocando las paredes, de manera que no obstruya la circulación del aire.

1) Cargar la estufa de forma tal de no impedir la convección del aire y que el material no toque las paredes.

2) Controlar la posición del termómetro: su tubo no debe tocar la carcasa metálica ni la puerta, pues se podrían registrar temperaturas falsas (mayores a las reales).

 3) Encender la fuente de energía

.4) Cuando se alcanza la temperatura deseada comenzar a contar el tiempo de esterilización.

 5) Dejar enfriar antes de retirar el material.

***QUÍMICOS:***

 Desinfectantes: son agentes antimicrobianos capaces de matar los microorganismos patógenos (infecciosos) de un material. Pueden (y en muchos casos suelen) presentar efectos tóxicos sobre tejidos vivos, por lo que se suelen emplear sólo sobre materiales inertes.

Esterilización por gas plasma: Es una de las tecnologías posibles para esterilizar material termo sensible.

Consiste en crear un plasma (estado entre líquido y gas), aplicando una radiofrecuencia a Peróxido de Hidrógeno que ejerce la acción biosida.

 El plasma es considerado como el cuarto estado de la materia consistente en un conjunto de iones, electrones y partículas atómicas neutras. Tiene la ventaja de no dejar ningún residuo tóxico ya que se convierte en agua y oxígeno al final del proceso. El material no precisa aireación. El ciclo de esterilización es corto, dura entre 54 y 75 minutos.

Esterilización con óxido de etileno: este método se aplica a materiales termo sensible, sondas, instrumental vario. Este gas se administra mediante una autoclave especial. Para ejercer su efecto necesita humedad y una temperatura moderada (60ºC). La desventaja es que genera residuos contaminantes que deben recibir tratamiento antes de ser desechados. El material tratado debe ser sometido a aireación forzada para eliminar los residuos tóxicos. El personal debe protegerse adecuadamente.

***Preparación de solución de cloro***

La fórmula general para preparar una solución clorada diluida a partir de un preparado comercial cualquiera que sea su concentración es la siguiente: partes de agua totales = [%concentrado/% diluido] - 1. Por ejemplo, para hacer una solución de cloro diluida al 0,5% a partir de una solución de cloro doméstica concentrada al 5% = [5.0%/0.5%] -1 = 10-1 = 9 partes de agua; en consecuencia, agréguese una parte de lejía a nueve partes de agua.

Si se está usando el cloro en polvo comercial, siga la fórmula siguiente para calcular la cantidad de polvo (en gramos) requerida para la preparación de una solución de cloro al 0,5%:

Gramos/litro = [% diluido/%concentrado] x 1000.

Por ejemplo, para hacer una solución de cloro diluida al 0,5% a partir de polvo de hipoclorito de calcio al 35% = [0.5%/35%] x 1000 = 14.2 g. Por lo tanto, agréguese 14,2 g de polvo a 1 litro de agua o 142 g a 10 litros de agua.

Los instrumentos no deben quedar en la lejía durante más de 10 minutos y deben limpiarse en agua hervida inmediatamente después de la descontaminación para prevenir la decoloración y la corrosión del metal.

 PARA ENTRAR A LABORATORIO: EN FORMA PERSONAL DEBERÁS ELABORAR UN DIAGRAMA DE FLUJO CON LOS PASOS DEL PROCEDIMIENTO