

Ensayos microbiológicos

Salvador Camacho Garrido

2.^a edición revisada
y ampliada



Contenidos digitales
www.sintesis.com


EDITORIAL
SÍNTESIS

Ensayos microbiológicos

2.^a edición
revisada y ampliada

Consulte nuestra página web: **www.sintesis.com**
En ella encontrará el catálogo completo y comentado



Queda prohibida, salvo excepción prevista en la ley, cualquier forma de reproducción, distribución, comunicación pública y transformación de esta obra sin contar con autorización de los titulares de la propiedad intelectual. La infracción de los derechos mencionados puede ser constitutiva de delito contra la propiedad intelectual (arts. 270 y sigs. Código Penal). El Centro Español de Derechos Reprográficos (www.cedro.org) vela por el respeto de los citados derechos.

Ensayos microbiológicos

Salvador Camacho Garrido

2.^a edición
revisada y ampliada



© Salvador Camacho Garrido

© EDITORIAL SÍNTESIS, S. A.
Vallehermoso, 34. 28015 Madrid
Teléfono 91 593 20 98
<http://www.sintesis.com>

ISBN: 978-84-9077-003-0
Depósito Legal: M-16.193-2022

Impreso en España - Printed in Spain

Reservados todos los derechos. Está prohibido, bajo las sanciones penales y el resarcimiento civil previstos en las leyes, reproducir, registrar o transmitir esta publicación, íntegra o parcialmente, por cualquier sistema de recuperación y por cualquier medio, sea mecánico, electrónico, magnético, electroóptico, por fotocopia o por cualquier otro, sin la autorización previa por escrito de Editorial Síntesis, S. A.

Índice

INTRODUCCIÓN	17
1. MICROBIOLOGÍA	19
Objetivos	19
Mapa conceptual	20
Glosario	21
1.1. La microbiología como ciencia experimental y aplicada	22
1.2. Definición y clasificación de los seres vivos	23
1.3. Definición de microorganismo	26
1.4. Características fundamentales de los microorganismos	28
1.5. Factores que afectan a los microorganismos	29
1.6. Algunas clasificaciones de los microorganismos	30
1.7. La célula procariota	31
1.8. Bacterias	33
1.9. Hongos	37
1.10. Otros microorganismos	41
1.11. Familias bacterianas de estudio más frecuente	44
1.11.1. <i>Enterobacteriaceae</i>	44
1.11.2. <i>Micrococaceae</i>	45
1.11.3. <i>Vibrionaceae</i>	47
1.12. Enfermedades usuales causadas por microorganismos	48
Resumen	51
Actividades de autoevaluación	52
2. El laboratorio microbiológico	53
Objetivos	53
Mapa conceptual	54
Glosario	55
2.1. El laboratorio como lugar de trabajo	55

2.2. Identificación de materiales y equipos usuales	56
2.3. Identificación y clasificación de los agentes biológicos	57
2.4. Buenas prácticas de laboratorio	59
2.5. Laboratorio básico	59
2.6. Técnicas de laboratorio	60
2.7. Niveles de seguridad	61
2.8. Normas de seguridad en microbiología	62
2.9. Vías de infección	63
2.10. Higiene en el trabajo del laboratorio microbiológico	63
2.11. Limpieza y eliminación del material	64
2.12. Residuos infecciosos	64
2.13. Tratamiento de residuos infecciosos	65
2.14. Teoría microbiana de la enfermedad	65
2.15. Microorganismos patógenos	66
Resumen	67
Práctica n.º 1	68
Actividades de autoevaluación	69
 3. MICROSCOPIA	 71
Objetivos	71
Mapa conceptual	72
Glosario	73
3.1. Microscopio	73
3.2. Tipos de microscopios	74
3.3. Funcionamiento del microscopio	74
3.4. Características que definen a un microscopio	76
3.5. Aberraciones	80
3.6. Microscopio óptico	81
3.7. Normas generales de uso	83
3.8. Manejo de objetivos	84
3.9. Normas de uso utilizando el objetivo de inmersión	85
3.10. Mantenimiento y precauciones de uso	87
3.11. Microscopios electrónicos	88
3.12. Otros tipos de microscopios	89
Resumen	90
Ejercicios propuestos	91
Práctica n.º 2	91
Actividades de autoevaluación	93
 4. PREPARACIONES MICROSCÓPICAS	 95
Objetivos	95
Mapa conceptual	96
Glosario	97
4.1. Confección de preparaciones	97
4.2. Preparaciones vitales	99

4.3. Preparación de gota pendiente	99
4.4. Tinción negativa	100
4.5. Coloraciones vitales	100
4.6. Tinción simple	101
4.7. Tinción de Gram	102
4.8. Tinción de Ziehl-Neelsen	104
4.9. Tinción de flagelos	106
4.10. Tinción de cápsulas	107
4.11. Tinción de esporas	107
4.12. Otras tinciones	108
Resumen	111
Práctica n.º 3	112
Actividades de autoevaluación	114
5. LIMPIEZA Y ESTERILIZACIÓN	115
Objetivos	115
Mapa conceptual	116
Glosario	117
5.1. Términos de uso más frecuente	118
5.2. Limpieza del material de vidrio.....	119
5.2.1. Material nuevo	119
5.2.2. Material usado	119
5.3. Algunos agentes microbicidas y microbiostáticos	120
5.4. Factores que afectan a la esterilización y a la desinfección.....	121
5.5. Termodestrucción.....	122
5.6. Esterilización por medio de calor seco.....	124
5.7. Esterilización por medio de calor húmedo.....	125
5.8. Esterilización por filtración.....	126
5.9. Esterilización por radiaciones.....	128
5.10. Desinfectantes químicos.....	128
5.11. Pruebas de esterilidad de los equipos de laboratorio	131
5.12. Evaluación de desinfectantes	132
5.13. Antimicrobianos	133
5.14. Antibióticos	135
5.15. Resistencia bacteriana.....	136
5.16. Patógenos resistentes.....	137
5.17. Vacunas	138
Resumen	140
Ejercicios propuestos	141
Práctica n.º 4	142
Actividades de autoevaluación	145
6. MUESTREO Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA	147
Objetivos	147
Mapa conceptual	148

Glosario	149
6.1. Muestreo.....	150
6.2. Requisitos de las muestras	151
6.3. Muestras líquidas	151
6.4. Muestras sólidas.....	151
6.5. Muestras gaseosas	152
6.6. Muestras superficiales.....	152
6.7. Muestreo anaerobios	154
6.8. Programas de los planes de toma de muestras.....	155
6.9. Muestreo de alimentos	156
6.9.1. Definiciones	156
6.9.2. Plan de dos clases	158
6.9.3. Plan de tres clases	158
6.9.4. Uso de normas MIL STD 105 E	159
6.10. Elección de muestras no tomadas al azar	162
6.11. Transporte y almacenamiento	162
6.12. Preparación de diluciones	162
6.13. Dilución de líquidos	163
6.14. Dilución de los sólidos pulverulentos.....	164
6.15. Dilución de otras muestras sólidas.....	164
Resumen	165
Ejercicios propuestos	166
Práctica n.º 5	166
Actividades de autoevaluación	169
 7. MEDIOS DE CULTIVO	 171
Objetivos	171
Mapa conceptual	172
Glosario	173
7.1. Necesidades nutritivas de los microorganismos.....	173
7.2. Requerimientos energéticos	174
7.3. Requerimientos no energéticos.....	175
7.4. Constituyentes habituales de los medios de cultivo.....	175
7.5. Condiciones de crecimiento.....	176
7.6. Clasificación según origen	177
7.7. Clasificación según estado físico.....	177
7.8. Clasificación según uso.....	178
7.9. Clasificación según presentación	180
7.10. Medios deshidratados.....	180
7.11. Preparación de los medios de cultivo	181
7.12. Determinación y ajuste del pH.....	185
7.13. Control de medios preparados	186
7.14. Formulación de algunos medios de cultivo usuales	187
7.14.1. Medios no selectivos	187
7.14.2. Medios selectivos	188

7.15. Otras formas de expedición usuales	189
Resumen	190
Práctica n.º 6	191
Actividades de autoevaluación	193
8. TIPOS DE CULTIVOS Y TÉCNICAS DE SIEMBRA	195
Objetivos	195
Mapa conceptual	196
Glosario	197
8.1. Cultivo de bacterias.....	197
8.2. Tipos de cultivo y sus siembras	197
8.3. Manejo de las muestras y toma del inóculo	199
8.4. Cultivos en placa.....	201
8.5. Cultivos mediante diluciones seriadas	204
8.6. Métodos de cultivo anaerobio	206
8.7. Vasijas anaerobias	206
8.8. Cultivo en atmósfera de CO ₂	207
8.9. Características morfológicas y de cultivo de una bacteria	208
8.9.1. Morfología bacteriana	208
8.9.2. Características de cultivo	209
Resumen	212
Práctica n.º 7	213
Actividades de autoevaluación	217
9. INCUBACIÓN Y CONSERVACIÓN DE CULTIVOS	219
Objetivos	219
Mapa conceptual	220
Glosario	221
9.1. Incubación.....	221
9.2. Efecto temperatura	222
9.3. Efecto tiempo	222
9.4. Conservación de cultivos	222
9.5. Mantenimiento en periodos cortos	223
9.5.1. Refrigeración simple	223
9.5.2. Cultivo en agar inclinado	223
9.5.3. Cultivos en medio líquido	223
9.6. Conservación en periodos largos	224
9.6.1. Conservación en aceite	224
9.6.2. Suspensiones en suero desecado	225
9.6.3. Congelación	225
9.6.4. Liofilización	226
9.7. Velocidad de crecimiento	226
9.8. Cinética de crecimiento bacteriano	227
9.8.1. Tasa de generación	228
9.8.2. Determinación de la tasa de generación	228

Resumen	230
Ejercicios propuestos	231
Práctica n.º 8	232
Actividades de autoevaluación	234
10. IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS	235
Objetivos	235
Mapa conceptual	236
Glosario	237
10.1. Análisis microbiológicos	238
10.2. Fases para la identificación de microorganismos	238
10.3. Estudios de los caracteres culturales, morfológicos y fisiológicos	239
10.3.1. Caracteres culturales	239
10.3.2. Caracteres morfológicos	240
10.3.3. Caracteres fisiológicos	240
10.4. Pruebas bioquímicas para el análisis de bacterias	241
10.5. Pruebas relacionadas con proteínas, aminoácidos y otros compuestos nitrogenados; así como pruebas de actividad proteolítica	241
10.5.1. Hidrólisis de la gelatina	241
10.5.2. Hidrólisis de la caseína	242
10.5.3. Hidrólisis del suero coagulado	242
10.5.4. Producción de indol a partir del triptófano	242
10.5.5. Producción de amoníaco a partir de la peptona o de la arginina	243
10.5.6. Producción de ácido sulfhídrico	243
10.5.7. Producción de amoníaco a partir de urea	244
10.5.8. Reducción del nitrato	245
10.6. Pruebas relacionadas con los carbohidratos y otros compuestos carbonados	245
10.6.1. Hidrólisis de almidón	245
10.6.2. Producción de ácidos a partir de azúcares, glucósidos y alcoholes polihidroxílicos	245
10.6.3. Diferenciación entre la oxidación y fermentación de carbohidratos	246
10.6.4. Producción de dióxido de carbono a partir de glucosa	246
10.6.5. Prueba del rojo de metilo	246
10.6.6. Prueba de Voges–Proskauer	247
10.6.7. Utilización del citrato como única fuente de carbono	247
10.6.8. Producción de polisacárido a partir de sacarosa	248
10.6.9. Acción de la leche tornasolada	248
10.7. Pruebas relacionadas con los lípidos	249
10.7.1. Hidrólisis de la tributirina	249
10.7.2. Lipólisis	249
10.7.3. Hidrólisis de los compuestos del Tween	250
10.7.4. Hidrólisis de la lecitina	250
10.8. Otras pruebas bioquímicas	251
10.8.1. Prueba de la catalasa	251
10.8.2. Prueba de la oxidasa	252
10.8.3. Prueba de la coagulasa	252
10.8.4. Prueba de la fosfatasa	253

10.8.5. Hemólisis de sangre	253
10.8.6. Prueba de la potasa	254
10.8.7. Prueba de motilidad	255
10.9. Métodos serológicos	255
10.9.1. Aglutinación	255
10.9.2. Fijación del complemento	256
10.9.3. Técnicas de precipitación en gel	256
10.9.4. ELISA	256
10.9.5. Seroinhibición	257
10.10. Técnicas genéticas	257
10.11. Galerías comerciales	259
10.11.1. API	260
10.11.2. BBL	260
10.12. Antibiograma	261
10.12.1. Dilución en caldo	261
10.12.2. Difusión en discos de agar	262
10.12.3. E-Test	262
10.13. Pruebas directas	263
Resumen	264
Práctica n.º 9	264
Actividades de autoevaluación	268
11. RECUENTO DE MICROORGANISMOS	269
Objetivos	269
Mapa conceptual	270
Glosario	271
11.1. Técnicas de recuento	272
11.2. Determinación del número de bacterias viables en una muestra	272
11.2.1. Método de recuento de colonias	273
11.2.2. Filtración a través de membrana	274
11.2.3. Recuento por dilución en tubos	274
11.2.4. Métodos de reducción del colorante	275
11.3. Determinación del número total de bacterias de una muestra	275
11.3.1. Método de extensión de Breed	275
11.3.2. Recuento directo al microscopio por filtración en membrana	275
11.3.3. Métodos turbidimétricos	276
11.3.4. Cámara de recuento	278
11.4. Recuento en medio sólido	278
11.4.1. Técnicas usuales	279
11.4.2. Etapas para recuento estándar	279
11.4.3. Recuento	280
11.4.4. Métodos estadísticos para la selección y análisis de colonias	281
11.5. Recuento en medio líquido	283
11.5.1. Etapas	283
11.5.2. Recuento	283
11.5.3. Tabla	284
11.5.4. Cálculos	286
11.6. Sistemas comerciales	287

11.7. Técnicas instrumentales	288
11.7.1. Requisitos de la técnicas instrumentales	288
11.7.2. Sistemas automatizados	289
11.7.3. Técnicas instrumentales	289
Resumen	292
Ejercicios propuestos	293
Práctica n.º 10	294
Actividades de autoevaluación	301
12. MICROORGANISMOS INDICADORES Y PATÓGENOS	303
Objetivos	303
Mapa conceptual	304
Glosario	305
12.1. Microorganismos indicadores	305
12.2. Características que deben reunir los indicadores fecales	306
12.3. Microorganismos indicadores, patógenos y toxigénicos de estudio frecuente	307
12.4. Aerobios mesófilos totales	309
12.4.1. Valor indicativo	309
12.4.2. Recuentos	309
12.5. Coliformes totales	310
12.5.1. Valor indicativo	310
12.5.2. Recuento	310
12.6. Coliformes fecales	310
12.6.1. Valor indicativo	311
12.6.2. Detección	311
12.6.3. Recuento	311
12.7. <i>Escherichia coli</i>	311
12.7.1. Valor indicativo	311
12.7.2. Detección	311
12.7.3. Recuento	312
12.7.4. Confirmación general	312
12.7.5. Confirmación absoluta	313
12.8. <i>Enterobacteriaceae</i>	314
12.8.1. Valor indicativo	314
12.8.2. Preenriquecimiento	315
12.8.3. Enriquecimiento	315
12.8.4. Detección	315
12.8.5. Recuento	315
12.8.6. Confirmación	316
12.9. <i>Streptococcus</i> fecales	318
12.9.1. Valor indicativo.....	318
12.9.2. Detección	318
12.9.3. Recuento	319
12.9.4. Confirmación	319
12.10. <i>Clostridium</i> sulfitorreductores	319
12.10.1. Valor indicativo	320
12.10.2. Detección	320

12.10.3. Recuento	320
12.11. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	321
12.11.1. Valor indicativo	321
12.11.2. Enriquecimiento	321
12.11.3. Detección y recuento	321
12.11.4. Pruebas bioquímicas	321
12.12. <i>Salmonella</i>	322
12.12.1. Preenriquecimiento	322
12.12.2. Enriquecimiento	322
12.12.3. Aislamiento	322
12.12.4. Confirmación bioquímica	323
12.12.5. Confirmación serológica	324
12.13. <i>Shigella</i>	324
12.13.1. Enriquecimiento	324
12.13.2. Aislamiento	324
12.13.3. Confirmación bioquímica	325
12.13.4. Confirmación serológica	325
12.14. <i>E. coli</i> patógeno	325
12.14.1. Conservación de muestras	327
12.14.2. Preenriquecimiento	327
12.14.3. Enriquecimiento	327
12.14.4. Aislamiento	327
12.14.5. Pruebas bioquímicas	327
12.14.6. Confirmación serológica	328
12.15. <i>Staphylococcus aureus</i>	328
12.15.1. Enriquecimiento	329
12.15.2. Aislamiento-identificación	329
12.15.3. Recuento	330
12.15.4. Confirmación bioquímica	330
12.16. <i>Listeria monocytogenes</i>	330
12.16.1. Preenriquecimiento	331
12.16.2. Enriquecimiento	331
12.16.3. Aislamiento	331
12.16.4. Confirmación	332
12.17. Estudio de microorganismos patógenos de investigación menos frecuente	332
12.17.1. <i>Bacillus cereus</i>	332
12.17.2. <i>Clostridium perfringes</i>	332
12.17.3. <i>Clostridium botulinum</i>	333
12.17.4. <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	333
12.17.5. <i>Vibrio cholerae</i>	334
12.17.6. <i>Yersinia enterocolitica</i>	334
12.17.7. <i>Campylobacter</i>	335
12.17.8. Mohos y levaduras	335
12.17.9. <i>Chronobacter spp.</i>	336
Resumen	337
Ejercicios propuestos	338
Práctica n.º 11	339
Práctica n.º 12	344
Práctica n.º 13	346

Práctica n.º 14	349
Práctica n.º 15	350
Práctica n.º 16	353
Actividades de autoevaluación	355
13. CONTROL DE SUPERFICIES, DEL AIRE Y DEL SUELO	357
Objetivos	357
Mapa conceptual	358
Glosario	359
13.1. Control microbiológico ambiental	360
13.2. Control de superficies	360
13.2.1. Examen de instalaciones	360
13.2.2. Examen de equipos	361
13.2.3. Examen de recipientes	362
13.3. Sistemas comerciales	363
13.3.1. Placas Contact Plate	364
13.3.2. Placas Count-Tact	364
13.3.3. Probetas Easicult	364
13.3.4. Placas Petrifilm	365
13.3.5. Swab Test Kit	365
13.3.6. Hy food test	366
13.3.7. Desinfectest	366
13.4. Microorganismos estudiados	367
13.5. Evaluación del grado de contaminación superficial	368
13.6. Control de los manipuladores de alimentos	369
13.7. Control del aire	371
13.8. Métodos de control del aire	371
13.8.1. Análisis por sedimentación	371
13.8.2. Análisis por filtración	372
13.8.3. Análisis por muestreo por impacto	373
13.8.4. Análisis por choque en líquidos	373
13.8.5. Análisis por precipitación electrostática	374
13.9. Evaluación del grado de contaminación del aire	374
13.10. El aire acondicionado	374
13.11. Patologías y microorganismos	376
13.12. El suelo como medio	376
13.12.1. La rizosfera	377
13.12.2. Los microorganismos en la actividad biogeoquímica	378
13.12.3. Biodegradación	379
13.12.4. Biorremediación	381
13.12.5. Biotoxicidad	382
13.13. Examen microbiológico del suelo	382
Resumen	384
Ejercicios propuestos	385
Práctica n.º 17	386
Práctica n.º 18	389
Actividades de autoevaluación	391

14. CONTROL DEL AGUA	393
Objetivos	393
Mapa conceptual	394
Glosario	395
14.1. Medios hídricos	396
14.1.1. Medios de agua dulce	396
14.1.2. Medios marinos	397
14.2. Agua potable	398
14.3. Desinfección del agua potable	398
14.4. Factores que afectan a la cantidad y a las clases de microorganismos presentes en las aguas naturales	399
14.5. Microorganismos acuáticos	400
14.5.1. Medios de agua dulce	400
14.5.2. Medios marinos	401
14.6. Toma de muestras acuosas	402
14.7. Análisis bacteriológico del agua	402
14.8. Legislación	405
14.9. Toma de muestras de aguas	406
14.10. Aguas de consumo	407
14.10.1. Aguas de consumo humano	407
14.10.2. Aguas naturales envasadas	409
14.10.3. Aguas preparadas envasadas	411
14.11. Aguas de baño	411
14.11.1. Agua continental	412
14.11.2. Aguas costera y de transición	413
14.11.3. Piscinas de uso colectivo	413
Resumen	415
Práctica propuesta	415
Ejercicios propuestos	419
Práctica n.º 19	420
Actividades de autoevaluación	421
15. CONTROL DE LOS ALIMENTOS	423
Objetivos	423
Mapa conceptual	424
Glosario	425
15.1. Generalidades	425
15.2. Los alimentos como medios de cultivo	429
15.3. Conservación de los alimentos	431
15.4. Microorganismos implicados	432
15.5. Muestreo y preparación de la muestra de los alimentos	433
15.6. Análisis bacteriológicos de los alimentos	434
15.7. Antigua legislación	439
15.8. Legislación actualizada	441
15.8.1. Legislación mundial	441

15.8.2. Legislación europea	441
15.8.3. Legislación española	442
15.9. Definiciones	443
15.10. Criterios microbiológicos para los productos de consumo	443
15.11. Criterios de seguridad alimentaria para la carne picada	444
15.12. Criterios de higiene de los procesos para la carne picada	445
15.13. Muestreo y preparación de la muestra para la carne picada	446
Resumen	447
Práctica propuesta	448
Ejercicios propuestos	452
Práctica n.º 20	454
Actividades de autoevaluación	456
ANEXO PRÁCTICAS	457
Reactivos para microbiología: pruebas bioquímicas	457
Reactivos para microbiología: desinfectantes	458
Medios de cultivo y afines para microbiología	459
Medios de cultivo deshidratados: agares	460
Medios de cultivo deshidratados: caldos	461
Medios de cultivo: filtración en membrana	462
Desarrollos en placas de Petri	462
Desarrollos en placas Filtración en membrana	464
BIBLIOGRAFÍA	465



Material complementario

Enlaces

En la primera página del libro, se puede encontrar un código que da acceso a una amplia colección de links.

Estos enlaces recogen toda la legislación, que se ha ampliado y actualizado para esta segunda edición.

El laboratorio microbiológico

Objetivos

1. Concluir que el laboratorio microbiológico es un lugar solo de trabajo.
2. Valorar que el laboratorio microbiológico presenta más peligros que uno químico.
3. Conocer las normas y las técnicas usuales en la microbiología como medio de evitar accidentes.
4. Identificar todo el material usual del laboratorio, sabiendo su correcto uso y mantenimiento.
5. Conocer qué son los agentes biológicos y cómo se clasifican.
6. Analizar las normas de seguridad de un laboratorio de microbiología.
7. Asumir las distintas vías de infección para utilizar las técnicas y los equipos de protección adecuados.
8. Establecer la limpieza y el orden como crítico en el trabajo experimental.
9. Conocer qué son los residuos infecciosos y cómo tratarlos según su origen.
10. Concretar qué microorganismos usuales en el trabajo son patógenos, para extremar las precauciones.

Mapa conceptual



Glosario

Carcinógeno. Agente físico o químico que puede producir una neoplasia (cáncer).

DIN. Acrónimo de *Deutsches Institut für Normung* (Instituto Alemán de Normalización).

Escalpelo. Instrumento quirúrgico en forma de cuchillo pequeño de hoja estrecha y puntiaguda.

Esterilización. Eliminación total de cualquier ser vivo.

Fungible. Que se consume con el uso.

Infección. Contagio o contaminación con microorganismos.

Lux. Unidad derivada del Sistema Internacional de Unidades para el nivel de iluminación.

Parenteral. Modo de alimentación o administración de medicamentos que no se realiza por la vía digestiva normal o intestinal, sino por vía subcutánea, intramuscular o intravenosa.

Patógeno. Elemento o medio capaz de producir algún tipo de enfermedad o daño en el cuerpo de un animal, un ser humano o un vegetal.

Pirólisis. Descomposición química de materia orgánica y todo tipo de materiales, excepto metales y vidrios, causada por el calentamiento a altas temperaturas en ausencia de oxígeno.

Profilaxis. Acción que se lleva a cabo para evitar la infección o aparición de una enfermedad.

Stomacher®. Homogeneizador de muestras sólidas para análisis microbiológicos.

Teratógeno. Agente físico o químico que aumenta la incidencia de malformaciones congénitas.

2.1. El laboratorio como lugar de trabajo

Quien trabaja en el laboratorio está expuesto a riesgos; hay productos químicos que son nocivos, tóxicos, inflamables, explosivos, corrosivos, teratógenos o carcinógenos; a veces, existe el peligro derivado del uso de mecheros, altos voltajes, luz ultravioleta y otras radiaciones. Además de estos riesgos inherentes a cualquier laboratorio químico, en el laboratorio microbiológico se está expuesto al riesgo de los microorganismos con los que se trabaja (generalmente los denominados agentes biológicos).

Independientemente del tipo de microorganismo, siempre se trabajará como si se tratara de microorganismos capaces de producir enfermedades, por lo que es necesario manipular con el cuidado requerido, tanto los cultivos de los microorganismos como cualquier material que haya estado en contacto con ellos.

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, y conscientes de que el laboratorio se debe utilizar exclusivamente para trabajar, la estancia en el mismo debe comportar una serie de hábitos que van más allá de lo estrictamente educacional, y que conlleva el conocimiento de todo el material y equipos que se ha de usar y el cumplimiento de unas normas estrictas.

Para llevar un control del trabajo del laboratorio, se deben preparar:

- Cuaderno de laboratorio. Todo el trabajo realizado en el laboratorio debe registrarse en un cuaderno adecuado, de la forma más detallada posible o cuando menos con notas muy completas. A veces algo que parece totalmente superfluo a la hora de elaborar un informe resulta crucial. No existe un cuaderno “en limpio” y otro “en sucio” de laboratorio, existe un único cuaderno, que debe llevarse al día, en el que se ponga la fecha, y del que no puede arrancarse página alguna, por lo que se recomienda el tipo encuadernado y numerado. No debe usarse este cuaderno para tomar notas conceptuales y bajo ningún concepto en el laboratorio se utilizarán hojas sueltas.
- Informes de laboratorio. Deben elaborarse informes de cada uno de los trabajos realizados. Estos deben seguir un único modelo (que puede ser personal) y que debe incluir al menos los siguientes puntos:
 1. Título.
 2. Objetivo.
 3. Material usado.
 4. Reactivos y medios de cultivo.
 5. Microorganismos utilizados como referencia o descubiertos.
 6. Métodos utilizados y su descripción. Esquema o resumen del trabajo realizado.
 7. Cálculos, si son necesarios.
 8. Descripción de resultados, apoyándolos de forma preferente con tablas y gráficas.
 9. Exposición de conclusiones obtenidas.
 10. Bibliografía. Si la publicación original no se ha visto, entonces debe darse la referencia donde aparece citada.

2.2. Identificación de materiales y equipos usuales

Para el adecuado uso de materiales y equipos sin que entrañen riesgo para el usuario ni se deterioren, previamente deben poder identificarse, saber para qué se usan, cuál debe ser su mantenimiento así como las condiciones en que deben guardarse.

Existe multitud de material y equipos que usualmente se usan en microbiología. La identificación debe hacerse visualmente por lo que carece de sentido hacer un extenso listado. En un principio, los clasificaremos como:

- *Material fungible*. Pueden ser específicos de microbiología, como las placas de Petri, los tubos y frascos de cultivo, los portaobjetos y cubreobjetos, asas y pinchos de siembra, campanas de Durham, etc., o generales como el material clásico de cualquier laboratorio, pipetas, probetas, matraces, tubos de ensayo y de centrífuga, etc.
- *Equipos*. Pueden ser específicos de microbiología, como las estufas de incubación, los autoclaves, los microscopios y lupas binoculares, contadores de colonias, *stomacher*®, campanas de flujo laminar, etc.; además de los equipos generales clásicos de cualquier laboratorio

químico, como mecheros y placas calefactores, frigoríficos, congeladores y estufas, granatarios y balanzas analíticas, campanas extractoras, línea de vacío, centrífugas, etc.



Figura 2.1
Equipos específicos de microbiología

2.3. Definición y clasificación de los agentes biológicos

Los agentes biológicos se definen en el artículo 2 del Real Decreto 664/1997, de 12 de mayo como “los microorganismos, con inclusión de los genéticamente modificados, los cultivos celulares y los endoparásitos humanos, susceptibles de originar cualquier tipo de infección, alergia o toxicidad”.

Por lo tanto, los agentes biológicos son seres vivos microscópicos que pueden causar daño a humanos, como por ejemplo, los virus, las bacterias, los endoparásitos humanos (protozoos y helmintos), los hongos, los cultivos celulares y los agentes transmisibles no convencionales (priones). También se pueden incluir en la definición los productos o sustancias secretadas o liberadas por estos agentes biológicos con capacidad patógena para humanos, por ejemplo: endotoxinas, micotoxinas, exotoxinas, glucanos, ergosterol, etc.; siempre que su presencia en el ambiente laboral se deba a la presencia del agente biológico que la produce.

La Directiva 90/679/CEE sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos, en el artículo 2 establece la clasificación de los agentes biológicos en cuatro grupos de riesgo, según su diferente índice de riesgo de infección.

1. Agente biológico de grupo 1. Agente biológico que resulte poco probable que cause enfermedad en el hombre.
2. Agente biológico de grupo 2. Agente patógeno que pueda causar una enfermedad en el hombre y pueda suponer un peligro para los trabajadores; existen generalmente profilaxis o tratamientos eficaces.
3. Agente biológico de grupo 3. Agente patógeno que pueda causar una enfermedad grave en el hombre y presente serio peligro para los trabajadores; existe el riesgo de que se propague a la colectividad pero existen generalmente profilaxis o tratamientos eficaces.
4. Agente biológico de grupo 4. Agente patógeno que puede causar una enfermedad grave en el hombre y presente serio peligro para los trabajadores; existen muchas probabilidades de que se propague a la colectividad; no existen generalmente profilaxis o tratamientos eficaces.

Estos niveles de riesgo condicionan las medidas preventivas tanto individuales como colectivas, la manipulación del material biológico, la instalación del laboratorio, las medidas de protección, las técnicas de laboratorio, etc.

Actualmente es tan fácil consultar las fichas de seguridad de los agentes biológicos como la de los agentes químicos en el Portal de riesgos biológicos del Instituto de Seguridad e Higiene en el Trabajo.



Figura 2.2
Símbolo de peligro biológico

La imagen muestra la interfaz de usuario de la página web del INSST. En la parte superior, hay una barra de navegación con el logo del Gobierno de España y el Ministerio de Trabajo y Economía Social, junto al logo del INSST. A la derecha de esta barra hay un campo de búsqueda con el texto 'Buscar' y un icono de lupa. Debajo de la barra de navegación, hay una serie de enlaces: 'El Instituto', 'Materias', 'Documentación', 'Formación', 'Normativa', 'El Observatorio' y 'La Comisión Nacional'. En el centro de la página, hay un mensaje de bienvenida: 'Bienvenido al Instituto'. Debajo de este mensaje, hay un texto que describe la misión del INSST: 'El Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo (INSST) tiene la misión de promocionar y apoyar la mejora de las condiciones de seguridad y salud en el trabajo, dando así cumplimiento a las funciones que nos encomienda la Ley de PRL y la EESST 2015-2020.' A la izquierda de este texto, hay un botón que dice 'leer más...'. En la parte inferior de la página, hay tres columnas de contenido: 'DESTACAMOS' (con enlaces a 'Carta de servicios' y 'Plan estratégico del Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el'), 'CONÓCENOS' (con enlaces a 'Misión y funciones' y 'Marco legal e histórico') y 'TRABAJA CON NOSOTROS' (con enlaces a 'Oposiciones INSST' y 'Becas').

Figura 2.3
Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo (INSST) Ministerio de Trabajo y Economía Social

2.4. Buenas prácticas de laboratorio

Las buenas prácticas recogen los principales aspectos que deben asegurarse en un laboratorio para que los resultados de los ensayos sean adecuados; y siempre se ha insistido en que los requisitos deben cumplirse con sentido común, porque no se trata de provocar que las actividades sean más engorrosas y complicadas, sino, por el contrario, de lograr el buen desenvolvimiento del trabajo minimizando los esfuerzos.

Los aspectos que se han de considerar son:

- Organización
- Personal
- Instalaciones
- Equipos, instrumentos
- Reactivos
- Material de laboratorios
- Métodos analíticos
- Muestras
- Seguridad
- Sistema de calidad
- Documentos

2.5. Laboratorio básico

Según recomienda la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el “Manual de Bioseguridad” y también según la Directiva del Consejo 90/679/CEE, para la protección de los trabajadores expuestos a agentes biológicos, hay que tener en cuenta las siguientes recomendaciones:

- El laboratorio debe tener techos, paredes y suelos fáciles de lavar, impermeables a los líquidos y resistentes a la acción de las sustancias químicas y productos desinfectantes que se usan ordinariamente en ellos. Los suelos deben ser antideslizantes.
- Las tuberías y conducciones no empotradas deben estar separadas de las paredes y evitar tramos horizontales para no acumular el polvo.
- Las superficies de trabajo tienen que ser impermeables y resistentes a los ácidos, álcalis, disolventes orgánicos y al calor moderado. En las poyatas hay que evitar las baldosas con juntas de cemento. Además hay que calcular una longitud de 2 metros lineales por persona.
- Se instalará una iluminación adecuada y suficiente y que no produzca reflejos. El nivel recomendado para el trabajo de laboratorio es de 500 lux, según la Norma Técnica DIN 5053.
- El mobiliario será robusto. Los espacios entre mesas, armarios, campanas y otros muebles serán suficientemente amplios para facilitar la limpieza.
- En cada unidad del laboratorio debe haber lavabos de manos, a ser posible con agua corriente, instalados preferentemente cerca de la salida.

- Las puertas deben estar protegidas contra incendios y cerrarse automáticamente. Además, estarán provistas de mirillas con cristal de seguridad de 40 por 23 cm, situado a la altura de la mirada. Su misión es evitar accidentes y poder examinar el interior del laboratorio sin abrir la puerta.
- Fuera de las zonas de trabajo deberán estar los vestuarios, los comedores o las zonas de descanso y, caso de que el edificio donde se halle ubicado el laboratorio lo permita, los espacios reservados para fumadores.
- En el mismo laboratorio o local anexo deberá colocarse un autoclave para la descontaminación del material de desecho infeccioso.
- Deberá reservarse espacio para guardar los artículos de uso inmediato, evitando su acumulación desordenada sobre las mesas y pasillos. Para el almacenamiento a largo plazo se recomienda un local fuera de la zona de trabajo.
- Habrá que prever espacio e instalaciones para manejar y almacenar disolventes, material radioactivo y gases comprimidos en condiciones adecuadas de seguridad y siguiendo las normativas específicas para ello.
- Deben existir medios de protección contra incendios, a nivel de prevención, evitando que se inicie el incendio y a nivel de protección, evitando que se propague el incendio. Así mismo debe haber un sistema de detección de humos y/o fuego con alarma acústica y óptica.
- Debe disponerse de una instalación eléctrica segura y de suficiente capacidad. Se necesita un sistema de iluminación de emergencia para facilitar la salida del laboratorio en condiciones de seguridad. Conviene que haya un grupo electrógeno de reserva para alimentar el equipo esencial (estufas, congeladores, etc.).
- Se dispondrá de un botiquín suficiente e información sobre primeros auxilios.
- No existen normas concretas de ventilación, aunque se recomienda trabajar en depresión y una renovación de aire de 60 m³ por persona y hora.
- No debe haber ninguna conexión entre las conducciones de agua destinada al laboratorio y las del agua de bebida. El abastecimiento de agua potable al laboratorio estará protegido contra el reflujo por un dispositivo adecuado.

2.6. Técnicas de laboratorio

Las técnicas de laboratorio son los procedimientos de trabajo recomendados. Hay que tener en cuenta que un procedimiento ordenado de trabajo es indispensable para la seguridad.

- Nunca se utilizarán las pipetas con la boca, empleándose los dispositivos de tipo mecánico.
- Deben utilizarse guantes adecuados en todos los trabajos que entrañen algún contacto con sangre, material infeccioso o animales infectados.
- Hay que utilizar batas o uniformes de trabajo para evitar la contaminación de los vestidos de calle. No se utilizará la ropa de laboratorio fuera de este (cafetería, biblioteca, etc.).
- Siempre que haya peligro de salpicaduras se utilizarán gafas de seguridad, pantallas faciales u otros dispositivos de protección.