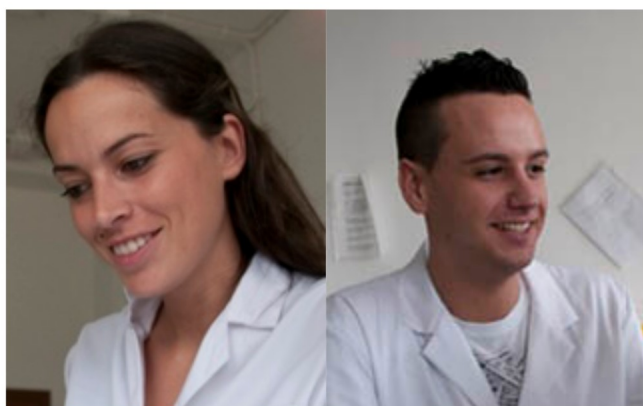


El laboratorio de microbiología clínica.

El laboratorio de microbiología clínica.

Caso práctico



Carlos y Susana son dos compañeros de instituto que coincidieron estudiando el primer curso común de los Ciclos de Laboratorio Clínico y Laboratorio de Patología y Citodiagnóstico.

A pesar de que en un primer momento no tenían claro por qué especialidad se decantarían en segundo, los dos decidieron continuar haciendo el Ciclo de Laboratorio Clínico, luego siempre podrían hacer un año más y conseguir el título de Laboratorio de Patología. Dos títulos en tres años era una oportunidad que no deberían dejar escapar.

Las clases acabaron ya hace un mes y en este momento se encuentran haciendo la FCT en el Hospital Universitario de su ciudad. Es una suerte que les haya tocado realizarla juntos, además de que se llevan muy bien, viven en el mismo barrio, por lo que podrán ir juntos al Hospital y ayudarse más fácilmente en el caso de que surja algún problema. Para ellos es muy importante sentirse apoyados cuando el entorno en el que tienen que moverse es muy diferente al que están acostumbrados.

Hoy comienza la rotación de ambos por el Servicio de Microbiología Clínica del Hospital. No es su primera rotación pero están igual de nerviosos que el primer día. Han quedado con el tutor del instituto media hora antes de realizar la presentación para concretar los últimos detalles. Durante la espera observan que no son los únicos en cambiar de "trabajo", a pocos metros, otros compañeros están esperando a ser presentados en otros Servicios del Hospital.

El tutor llega y tras repasar la documentación que deben entregar, se presentan en el Servicio de Microbiología Clínica. Allí está esperándolos Estrella, la supervisora del Servicio, que tras el saludo y la presentación inicial les va a acompañar mostrándoles las instalaciones.

Estrella les hace pasar a una sala donde les explica el uniforme que deben usar en el Hospital y la ubicación del vestuario para cambiarse. Les entrega a cada uno una bata, no es recomendable pasearse por las instalaciones del Hospital con la ropa de la calle, y comienza la visita en la que Carlos y Susana va a conocer a los que van a ser sus compañeros las próximas semanas.



Materiales formativos de FP Online propiedad del Ministerio de Educación y Formación Profesional.

[Aviso Legal](#)

1.- Introducción al laboratorio de microbiología clínica.

Caso práctico



Carlos y Susana contemplan la distribución del Servicio de Microbiología Clínica. Está dividido en varias Secciones o áreas de trabajo y salvo una de ellas en la que hay muchos aparatos, en todas hay técnicos realizando procedimientos manuales.

Carlos está encantado de poder rotar por este Servicio, siempre le ha interesado conocer la manera en la que se consigue determinar el organismo que está causando una infección en un paciente.

- ¿Cómo saber con absoluta certeza de qué organismo se trata?
- ¿En base a qué se decide que es ese y no otro?
- ¿Cómo se decide qué antibióticos debe tomar el enfermo para contrarrestar la infección?

Susana también está contenta, el trabajo en este laboratorio parece interesante y además divertido.

- Estrella, ¿Con qué tipo de bacterias se trabaja aquí?-pregunta Susana.

En este laboratorio se estudian todo tipo de microbios, no solo bacterias, cada uno en un área diferente o Sección: Bacteriología, Micología, Virología y Parasitología. Cada una de estas áreas centra su estudio en un tipo de microorganismo y selecciona el conjunto de técnicas que van a conducir con mayor probabilidad a su identificación.

Susana comienza a recordar...

¿Te has preguntado alguna vez cómo se identifica al microorganismo causante de una enfermedad?

Esta identificación se lleva a cabo en los laboratorios de microbiología clínica y tiene como objetivo ayudar al médico a diagnosticar y a controlar las enfermedades infecciosas que afectan al hombre.

El diagnóstico médico se basa en la identificación de los signos y síntomas de la enfermedad. En el caso de las infecciones por microorganismos estos [signos](#) y [síntomas](#) pueden ser muy generales y parecerse a los de otras enfermedades, por lo que el único modo de determinar la causa de una infección es identificar al patógeno responsable de la misma.

El laboratorio aísla (separa) los microorganismos patógenos presentes en las [muestras biológicas](#) tomadas a los enfermos. Una vez aislados estos microorganismos se identifican. En la identificación se consideran una gran cantidad de aspectos como la morfología, los requerimientos nutricionales, las características bioquímicas, la [sensibilidad a antibióticos](#) y las características del [genoma](#) del microorganismo.

1.1.- Tipos de microorganismos.

¿Cuáles son los microorganismos que se estudian en Microbiología Clínica?

Muchas veces cuando oímos la palabra microorganismo pensamos directamente en bacterias, sin embargo esto no es del todo cierto. Aún cuando la mayor parte del trabajo en el laboratorio de microbiología clínica consiste en identificar bacterias, existen otros grupos de seres microscópicos, que también son estudiados aquí, como hongos, virus, [protozoos](#), [helmintos](#) y [artrópodos](#).



Cabe pensar que, algunos hongos, algunos helmintos y artrópodos no deberían estar incluidos en esta disciplina puesto que muchos de ellos pueden observarse a simple vista. Sin embargo lo están, ya que la observación de sus huevos, [quistes](#) o larvas, indispensable para confirmar el diagnóstico de infección, solo puede realizarse al microscopio óptico.

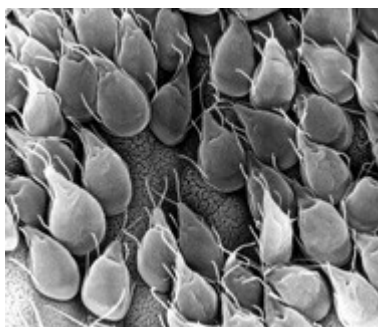


Podemos clasificar a los microorganismos en 3 grupos teniendo en cuenta su organización interna:

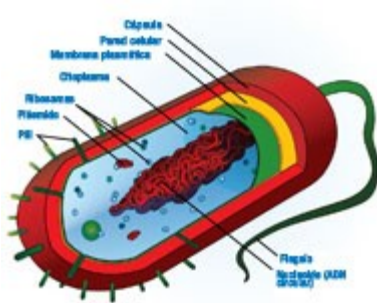
- Las bacterias, único grupo de organización procariota.
- Los hongos y parásitos, con organización celular eucariota.
- Los virus, que no pueden ser considerados células.

En este apartado estudiarás las características generales de estos seres, atendiendo

fundamentalmente a su morfología, que es la que va a permitir al técnico de laboratorio identificarlos al microscopio óptico.



1.1.1.- Bacterias: organización procariota.



¿Cómo es el interior de una bacteria? ¿Cuáles son las características de la organización procariota?

Los organismos procariotas se caracterizan por:

- Ausencia de núcleo definido: El material nuclear está formado por un solo cromosoma de ADN bicatenario y circular, que forma un conglomerado compacto, denominado nucleóide. No hay envoltura nuclear.
- Presencia de pared celular que rodea a la membrana plasmática, formada por peptidoglicano, un componente exclusivo de bacterias.
- Ausencia de membranas internas y de orgánulos rodeados de membrana.
- Ausencia de mitocondrias: Los citocromos necesarios para la respiración se encuentran localizados en la membrana citoplasmática.
- La división nuclear se realiza por bipartición (ni mitosis ni meiosis).

Las bacterias son organismos unicelulares, procariotas, de forma y tamaño variable de 0,5 a 5 μm que se reproducen por división binaria.

Las bacterias se encuentran ampliamente distribuidas por la naturaleza. Pueden vivir en prácticamente todos los lugares ya que son capaces de utilizar una gran variedad de compuestos como fuente de carbono y energía.

Hay bacterias que coexisten con el hombre y colonizan regiones como la piel y las membranas mucosas del sistema respiratorio, digestivo y génito-urinario. Estas bacterias

forman parte de lo que se conoce como flora normal o "amiga".

La flora normal tiene un efecto beneficioso, protege al hombre, evitando que esas superficies sean ocupadas por bacterias patógenas y estimulando al [sistema inmunitario](#). Es interesante conocer cuál es la flora normal de cada región corporal para poder descartarla cuando nos crezca en los medios de cultivo al sembrar las muestras.

Otras bacterias habitan lugares como el suelo, el agua o están presentes en objetos inanimados y en animales y de ahí pasan al hombre causando una infección. Existe una amplia variedad de enfermedades causadas por bacterias, desde infecciones leves a otras muy graves como neumonía, tuberculosis, meningitis, etc.

Autoevaluación

Indica que afirmación es cierta en relación con las bacterias.

- ☐ Las bacterias tienen mitocondrias en su citoplasma.
- ☐ La presencia de peptidoglicano en la pared celular.
- ☐ Presencia de envoltura nuclear.
- ☐ Ausencia de ribosomas
- ☐ Su multiplicación por mitosis.

No es correcta. Las mitocondrias son orgánulos rodeados de membrana por lo tanto no pueden formar parte de la estructura procariota.

El peptidoglicano es un compuesto que está presente solo en bacterias.

Respuesta incorrecta. Los organismos procariotas carecen de orgánulos recubiertos de membrana.

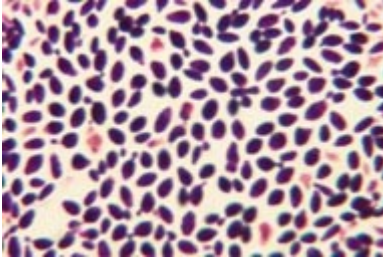
Incorrecta. Los ribosomas son orgánulos citoplasmáticos sin membrana, que están presentes en el citoplasma de las bacterias. Tienen un tamaño menor que los de la célula eucariota.

No es correcta. Las bacterias se multiplican por división binaria, no sufren ni mitosis ni meiosis.

Solución

1. Incorrecto
2. Opción correcta
3. Incorrecto
4. Incorrecto
5. Incorrecto

1.1.2.- Hongos.



¿Conoces algún tipo de infección humana causada por hongos? Tiña, "pie de atleta", candidiasis, son nombres de enfermedades causadas por estos microorganismos.

Los hongos son seres eucariotas, con una estructura interna muy diferente de las bacterias.

- Tienen núcleo, membrana nuclear, y ADN organizado en varios cromosomas.
- Tienen un citoplasma con orgánulos membranosos y abundantes ribosomas.
- La membrana plasmática de sus células es rica en [ergosterol](#).
- Su pared celular contiene entre otros compuestos [quitina](#).

¿Cuántos tipos de hongos existen?

Morfológicamente podemos diferenciar dos tipos hongos: las levaduras (unicelulares) y los mohos (pluricelulares).



- Las levaduras tienen un tamaño entre 1 y 10 μm y una morfología redonda, oval o alargada. Se reconocen fácilmente en las preparaciones porque algunas de ellas presentan [gemación](#).
- Los mohos, visibles [macroscópicamente](#), están formados por unas estructuras filamentosas llamadas hifas, que se entrecruzan formando una especie de tejido algodonoso denominado micelio. Las células que forman las hifas pueden estar

separadas entre sí por tabiques o septos. La tabicación de las hifas es una característica de hongos superiores.

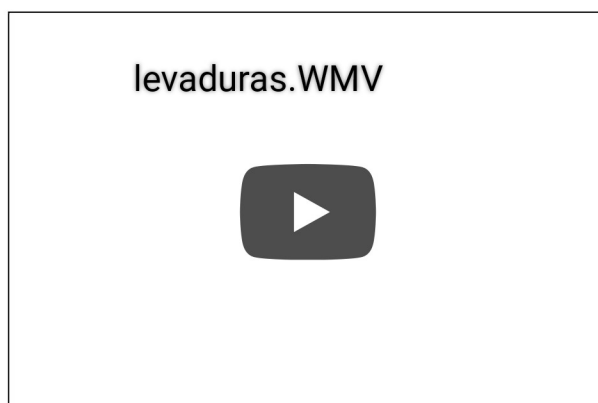
Solo hay alrededor de 50 especies de hongos patógenos para el hombre. Dentro de este grupo encontramos especies que causan problemas alérgicos por inhalación de esporas (rinitis, asma...), otras que causan infecciones superficiales en la piel y unas pocas que causan [infecciones sistémicas](#) graves. Las enfermedades causadas por los hongos se denominan Micosis.

Para saber más

En el siguiente vídeo se describen brevemente las principales características estructurales de los mohos.

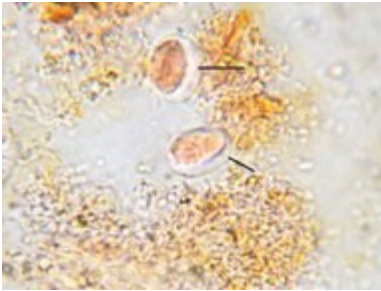
[Resumen textual alternativo](#)

En el siguiente vídeo se muestran características de las levaduras que son importantes para su identificación.



[Resumen textual alternativo](#)

1.1.3.- Parásitos.



¿Sabes que son las lombrices intestinales, la malaria o la solitaria?

Son términos relacionados con parásitos que pueden causar enfermedades en el hombre. Se estima que aproximadamente un 5% de la población mundial padece alguna infección por parásitos.

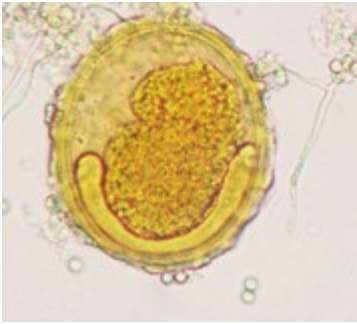
Al igual que los hongos los parásitos tienen una organización interna de tipo eucariota.

Podemos diferenciar dos tipos de parásitos: Los protozoos y los helmintos o gusanos.

Los Protozoos, son organismos unicelulares que presentan una gran variedad de morfologías y tamaños. La mayor parte de ellos pueden existir en dos formas:

- Forma vegetativa denominada Trofozoíto, es la forma del parásito que realiza todas las funciones vitales.
- Forma quística: Los quistes son formas de resistencia frente a condiciones ambientales adversas (sequedad, frío) que se caracterizan por tener una gruesa pared celular como se puede apreciar en la imagen anterior.

Muchos protozoos están considerados como importantes parásitos humanos, que infectan la sangre, el sistema urogenital o el intestino. Enfermedades como la malaria, la toxoplasmosis, la enfermedad del sueño o la [disentería](#) amebiana tienen como causa una infección por protozoos.



Los Helmintos o gusanos, son organismos pluricelulares que presentan una organización corporal compleja. Están divididos en dos grupos principales: Los platelmintos o gusanos planos y los nematodos o gusanos redondos. Al igual que los protozoos, los helmintos pueden parasitar casi cualquier órgano del cuerpo. A las infecciones causadas por helmintos se les denomina infestaciones.

El diagnóstico de las infecciones por helmintos se basa en la identificación al microscopio de sus huevos y a veces sus larvas en heces o tejidos. En la imagen se observa el aspecto que presenta un huevo de un helminto.

Más adelante podrás estudiar con detalle cuáles son las características morfológicas de los protozoos y helmintos que aparecen con mayor frecuencia en las muestras remitidas al laboratorio de microbiología clínica para su estudio.

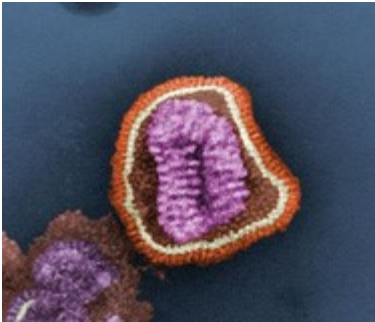
Debes conocer

En la siguiente presentación podrás ver las pautas que pueden ayudar al técnico a decidir, cuándo observa una preparación al microscopio óptico, qué tipo o tipos de microorganismos están presentes en la muestra.



[Resumen textual alternativo](#)

1.1.4.- Virus.



¿Has pasado alguna vez la gripe, el sarampión o las paperas?

Todas estas son enfermedades están causadas por virus, otro tipo de microorganismo que se estudia en el laboratorio de microbiología. Las enfermedades causadas por virus son consideradas como las más peligrosas ya que estos microorganismos se diseminan inadvertidamente entre la población. Algunas infecciones por virus han dado lugar a un gran número de muertes.

Los virus representan un tipo de organización diferente de las bacterias y células eucariotas, no pueden considerarse células.

¿Qué caracteriza a un virus?

- Los virus no son visibles al microscopio óptico.
- Su genoma está compuesto por un solo tipo de ácido nucleico: ADN o ARN.
- No tienen actividad metabólica propia.
- Son incapaces de multiplicarse fuera de las células que infectan.
- Son resistentes a los antibióticos habituales.

Los virus son los agentes infecciosos de menor tamaño, entre 10 y 300 nm, que poseen capacidad de replicación.

Un virus consiste en moléculas de ADN o ARN (generalmente una) rodeadas por una cubierta proteica a la que se denomina cápside. Algunos de ellos llevan además una envuelta

de estructura semejante a la membrana plasmática de las células a las que infectan.

Los virus son los agentes que causan infecciones en el hombre con mayor frecuencia. El [pronóstico](#) de estas infecciones varía desde formas leves, como el resfriado común a enfermedades graves como el sida.

El diagnóstico de las infecciones víricas es mucho más complejo que los diagnósticos anteriores. Los virus no se ven al microscopio óptico y su aislamiento requiere el cultivo de [líneas celulares](#) cuyo mantenimiento es laborioso y se necesita experiencia previa. Todos los aspectos relacionados con los virus los estudiarás en la unidad didáctica correspondiente.

Autoevaluación

Señala aquellas afirmaciones respecto a los microorganismos que sean totalmente ciertas.

- ☐ Las bacterias carecen de mitocondrias y lisosomas.
- ☐ Los virus y los protozoos contienen ADN y ARN en su estructura interna.
- ☐ Las levaduras y protozoos tienen en su estructura una gruesa pared celular.
- ☐ Los virus se reproducen por gemación.
- ☐ Tanto bacterias como mohos contienen peptidoglicano en su pared celular.

Mostrar retroalimentación

Solución

1. Correcto
2. Incorrecto
3. Correcto
4. Incorrecto
5. Incorrecto

1.2.- Taxonomía.

Caso práctico



El grupo pasa en su visita por la Sección de Bacteriología, en un despacho adyacente se encuentra Mónica, la adjunta a cargo de esta sección. Entre sus muchos quehaceres, está la validación de las identificaciones realizadas a partir de las muestras de los pacientes.

Mónica da la bienvenida a Carlos y a Susana y les invita a participar en el último paso del trabajo en el laboratorio. Asignar un nombre al microorganismo encontrado.

- ¿Por qué tienen las bacterias unos nombres tan complicados?-pregunta Carlos.
- A primera vista es cierto que parecen complicados, pero si te fijas bien tampoco lo son tanto.

Mónica explica las reglas básicas de la Taxonomía.

Para asignar un nombre a un microorganismo hay que comparar sus características con las de otros individuos conocidos, pertenecientes a diferentes grupos, y ver cuántas de ellas son comunes.

Identificar supone clasificar a los microorganismos, asignarles un grupo. En la identificación es muy importante la observación.



La ciencia que se encarga del estudio de los microorganismos y de su clasificación se denomina Taxonomía e incluye además de criterios y formas de clasificar, las reglas para asignarles un nombre específico. Estas reglas forman parte de la Nomenclatura.

La taxonomía establece un sistema de clasificación jerárquico, con varios niveles. Los individuos que forman parte del mismo nivel comparten todas sus características. A medida que vamos ascendiendo de nivel los caracteres que se comparten son cada vez menores.

La unidad básica de este sistema es la especie. El sistema de clasificación que más se utiliza es el establecido por Linneo, que consta de los siguientes [taxones](#), ver imagen.

1.2.1.- Clasificación y nomenclatura.

Imagina que tienes que identificar una bacteria desconocida que se ha aislado en tu laboratorio. ¿Por dónde empezarías? ¿Qué rasgos estudiarías en primer lugar?

Generalmente la identificación de un microorganismo comienza estudiando su [fenotipo](#). Forman parte del fenotipo características como su morfología, sus propiedades de tinción, las características de crecimiento, las enzimas que posee. Este es el sistema más utilizado para identificar en los laboratorios de Microbiología Clínica que realizan análisis rutinarios.

Sin embargo en algunas ocasiones, los rasgos fenotípicos no permiten determinar el grupo de bacterias a las que pertenece el individuo que estamos estudiando y es necesario realizar otro tipo de estudios, como:

- El análisis de su composición: Determinar el porcentaje de lípidos que contiene la membrana de la bacteria, la composición de su pared celular o el tipo de ácidos grasos formados durante su metabolismo. Las técnicas que se necesitan para este tipo de estudios son complicadas y caras por lo que solo se realizan en laboratorios de investigación.
- El análisis de su ADN o ARN: El estudio del genotipo es el modo más preciso de clasificar a una bacteria como miembro de un determinado grupo. Requiere la realización de análisis genéticos, como la determinación del contenido en [guanina citosina](#) (%), técnicas de hibridación o técnicas de secuenciación. Este tipo de pruebas se estudian en el módulo de biología molecular.

Nomenclatura: Una vez identificado el microorganismo como miembro de un determinado grupo, es necesario asignarle un nombre. En la asignación se utilizan reglas internacionales.



1. Solo existe un nombre correcto para cada microorganismo que no debe cambiarse.
2. Todos los nombres se escriben en latín y están formados por dos palabras:
 - Género: Escrito con la inicial del nombre en mayúsculas. Generalmente el género de un microorganismo está relacionado con su descubridor (*Escherichia*, descubierta por T. Escherich), con un lugar geográfico u organización (*Legionella*, llamada así porque se aisló por primera vez en un congreso de militares), o con alguna característica especial del microorganismo (*Staphylococcus*, Staphylé en griego quiere decir racimo de uvas.).
 - Especie: Se escribe en minúscula y al igual que el género, el nombre asignado se corresponde con alguna característica típica del microorganismo o de la enfermedad que produce. Por ejemplo *Staphylococcus aureus* (se llama así por su aspecto amarillo, dorado)
3. El nombre debe escribirse en cursiva o subrayado cuando se escribe a mano.
4. Cuando ya se ha nombrado el género anteriormente y no existe riesgo de confusión se puede sustituir el mismo por su inicial por ej. *E. coli*.

Al igual que género y especie, el nombre de cada taxón se escribe también en latín y lleva una terminación específica, que se muestra en la imagen.

1.2.2.- Taxonomía bacteriana.

¿Recuerdas el caso de la epidemia mortal en Alemania que fue achacada inicialmente al consumo de pepinos españoles? Pronto se descubrió que se trataba en realidad de una nueva cepa de la bacteria *E. coli*. Una especie que habita el intestino de los humanos y animales y que en pocas ocasiones causa problemas.

La clasificación de las bacterias, si bien cumple en su mayor parte las normas taxonómicas establecidas por Linneo, tiene sus peculiaridades:

- Por debajo del nivel de especie existen otros niveles como el de cepa. Las cepas se designan con una letra mayúscula seguida de números. Por ejemplo *E. coli* K12.
- Existen bacterias con nombres comunes ampliamente arraigados: neumococo o meningococo.

Se utiliza el término de Cepa para designar al conjunto de individuos genéticamente idénticos que descienden de un individuo común. Pueden tener características semejantes a las de su especie o diferir en alguna de ellas como consecuencia de una mutación.

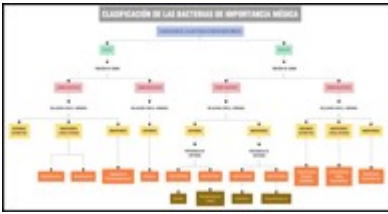
Algunas veces al lado del género de la bacteria encontramos las letras sp o spp. Se utilizan cuando se conoce el género del microorganismo pero no la especie, pudiéndose ser una (sp) o varias especies del mismo género (spp).

En la siguiente imagen puedes ver la clasificación de las bacterias de importancia médica en base a 4 criterios de clasificación:

- Morfología: [Cocos](#) o [bacilos](#).
- Tinción de gram.

La tinción de gram es la tinción microbiológica más importante. Clasifica a las bacterias en gram positivas y gram negativas dependiendo de la composición de su pared celular.

- Relación de la bacteria con el oxígeno.
- Presencia de [esporas](#).



Existen géneros bacterianos de importancia médica fuera de estos criterios de clasificación. Se trata de grupos de bacterias con morfología irregular o que no toman bien la tinción de gram. Algunos de estos géneros son los siguientes:

- *Treponema* ([espiroquetas](#)).
- *Chlamydia*.
- *Mycoplasma*.
- *Rickettsia*.

Todos estos géneros los irás estudiando a lo largo del curso.

Recomendación

Utilizando los datos del esquema anterior, realiza definiciones, lo más completas posibles, de cada uno de los géneros que aparecen en ella.

2.- Técnicas de estudio microscópico de microorganismos.

Caso práctico



Hoy es el primer día de Carlos y Susana en el laboratorio. Llegan puntuales, a las 8 de la mañana ya están cambiados.

Les han asignado la sección de Bacteriología donde estarán 15 días aprendiendo a realizar la identificación de bacterias.

Mónica ya les explicó ayer en qué consistía el trabajo en esta sección, así que hoy les toca trabajar duro.

-¿Conocéis las técnicas de tinción bacteriana?-pregunta Mónica.

-Sí, además hemos a realizado algunas de ellas en el Instituto-contestan ambos.

Mónica presenta a Carlos a la técnica responsable de esa tarea, Coro.

-Coro: Hola Carlos, ¿estás listo para comenzar?

-Carlos: Sí.

-Coro: Muy bien empezaremos por algo fácil. Tenemos aquí una serie de muestras que han llegado hoy para su cultivo y unos cultivos ya crecidos, queremos comprobar que tipos de bacterias hay en ellos. Me gustaría que les hicieras unas cuantas tinciones como primer paso en su identificación. ¿Crees que puedo dejarte solo?

-Carlos: Por supuesto, si tengo algún problema te llamo. Además he traído los apuntes de clase, así que no me perderé.

-Coro: Está muy bien que hayas traído los apuntes, pero recuerda que en el hospital

existen protocolos de trabajo para cada una de las técnicas que se realizan. Te aconsejo que antes de empezar los leas detenidamente, puede ser que alguna cosa se haga de forma diferente a como lo has aprendido en el instituto.

Carlos decide dar un repaso a la teoría antes de comenzar.

Como has visto en el Caso el primer paso en la identificación de un microorganismo es su examen al microscopio óptico. Este examen es un estudio orientativo que proporciona datos de gran utilidad en la identificación, como son la presencia de microorganismos en las muestras, su morfología, movilidad y las características de tinción de los mismos.

2.1.- Clasificación de las técnicas.

¿Has pensado alguna vez en cuantas técnicas existen para poder ver microorganismos?

Dos son los tipos de métodos que más se utilizan para observar microorganismos al microscopio óptico:

- Observaciones en fresco: Se realizan sobre los microorganismos vivos, sin ningún tratamiento previo.
- Tinciones: Se realizan utilizando [colorantes](#) que se aplican sobre microorganismos que han sido previamente fijados.

Dentro de los exámenes en fresco se pueden diferenciar dos modalidades de observación: Montaje húmedo y gota pendiente. En el laboratorio de microbiología clínica el método más utilizado es el montaje húmedo, consiste en colocar el producto a examinar directamente entre porta y cubreobjetos y enfocar al microscopio óptico.

Los métodos de tinción, complementan los exámenes en fresco y permiten la observación de estructuras celulares y la clasificación de los microorganismos en base a su distinta reacción frente a los colorantes.

Podemos diferenciar 3 tipos de tinciones:

- Simples: Cuando emplean únicamente un colorante. Azul de metileno, safranina, cristal violeta, son ejemplos de tinciones simples utilizadas en microbiología.
- Diferenciales: Emplean dos colorantes, al primero se le llama colorante primario, al segundo contracolorante o colorante de contraste. Generalmente existe un paso de decoloración entre ambos. Las tinciones diferenciales, diferencian o clasifican a las bacterias en dos grupos basándose en el estudio de alguna propiedad, por ejemplo la composición de la pared celular.
- Estructurales: Tinciones que permiten poner de manifiesto estructuras internas o externas de las bacterias.

En el esquema puedes ver la clasificación de las tinciones más utilizadas en los laboratorios de microbiología.



Autoevaluación

Indica la respuesta correcta. Los bacilos gram positivos anaerobios, con capacidad para formar esporas pertenecerán al género

- ☐ *Pseudomonas*.
- ☐ *Bacillus*.
- ☐ *Streptococcus*.
- ☐ *Neisseria*.
- ☐ *Clostridium*.

No es correcto. Las pseudomonas son bacilos gram negativos aerobios, no fermentadores.

No es correcto. El género *Bacillus* es aerobio.

No es correcto. El género *Streptococcus* son cocos gram positivos.

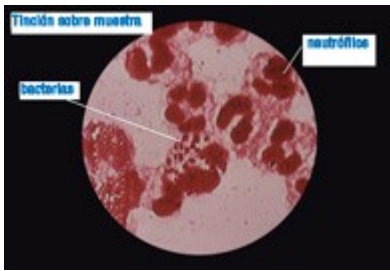
No es correcto. El género *Neisseria* son cocos gram negativos.

Correcta. De los dos géneros de bacilos gram positivos que producen esporas, *Bacillus* y *Clostridium*, solo *Clostridium* es anaerobio.

Solución

1. Incorrecto
2. Incorrecto
3. Incorrecto
4. Incorrecto
5. Opción correcta

2.2.- Utilidad de las tinciones bacterianas.



¿Qué datos podemos obtener de la observación de las preparaciones al microscopio?

¿Cómo influyen esos datos en el diagnóstico?

El estudio microscópico es la primera herramienta que utiliza el laboratorio como ayuda en la identificación. Ayuda a establecer un diagnóstico definitivo de la infección y orienta el tratamiento inicial hasta conseguir la identificación del microorganismo.

Los métodos de estudio microscópico se pueden realizar tanto sobre las muestras biológicas como sobre los cultivos obtenidos en el laboratorio, para confirmar que la bacteria aislada es la esperada.

Tinciones sobre muestras: El estudio realizado sobre las muestras biológicas es de gran utilidad cuando la muestra procede de un lugar estéril, es decir un lugar que en condiciones normales no contiene ningún microorganismo, tampoco flora normal. Las muestras de sangre, líquido cefalorraquídeo y otros líquidos internos son muestras procedentes de lugares estériles.

Este estudio no es tan informativo cuando se hace sobre muestras procedentes de lugares no estériles como orina, esputo, frotis faríngeos etc. ya que no se puede relacionar la observación de bacterias en la muestra con la infección. Sí que es posible realizar una asociación de este tipo cuando se observan en la preparación un gran número de neutrófilos junto a las bacterias, como se puede apreciar en la imagen.

Todos los métodos que vamos a estudiar en esta sección, pueden emplearse para estudiar todo tipo de microorganismos. Nuestro estudio, a partir de este momento, se centrará en las bacterias. Los métodos de examen microscópico de protozoos, hongos y helmintos los

estudiarás en las correspondientes unidades de este módulo.

Autoevaluación

Indica la afirmación correcta en relación a las tinciones diferenciales.

- ☐ Estudian microorganismos vivos.
- ☐ Utilizan un solo colorante.
- ☐ Incluyen en su protocolo un paso de decoloración.
- ☐ La tinción con azul de metileno es un ejemplo de tinción diferencial.

No es correcta. Las tinciones diferenciales se hacen sobre bacterias muertas, fijadas y teñidas.

La respuesta no es correcta, las tinciones que emplean un solo colorante son las tinciones simples.

Efectivamente es correcto. Las tinciones diferenciales utilizan dos colorantes y entre ambos hay un paso de decoloración.

Incorrecta. La tinción con azul de metileno es una tinción simple, emplea un único tipo de colorante.

Solución

1. Incorrecto
2. Incorrecto
3. Opción correcta
4. Incorrecto

2.2.1.- Morfología bacteriana: Forma y tamaño.

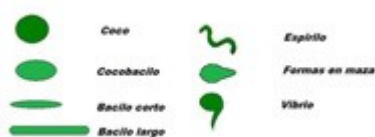
¿Cuándo piensas en bacterias, que forma les adjudicas? Redonda, alargada, espiral, sacacorchos...

Tanto el tamaño como la forma de las bacterias varían enormemente entre los diferentes géneros.

Uno de los grupos de bacterias más pequeñas que se conocen son los micoplasmas, que tienen un tamaño entre 0,2 y 0,8 μm de diámetro, las bacterias más grandes pueden llegar a medir 10 μm . Si tuviéramos que asignar un tamaño medio a las bacterias, podríamos decir que la mayoría miden entre 0,5 y 5 μm .

En relación a la morfología, las bacterias pueden presentar los siguientes tipos de formas básicas:

- Esférica: A las bacterias que presentan esta forma se les denomina genéricamente Cocos.
- Cilíndrica: A las bacterias que presentan este tipo de morfología se les denomina Bacilos.
- Espiral: A las bacterias con esta morfología se les denomina Espirilos.
- Filamentosa: A las bacterias con este tipo de morfología se les denomina bacterias filamentosas.



Pero existen asimismo formas intermedias, que resultan mucho más complicadas de definir.

- Coco-bacilos: Aplicamos este término cuando lo que estamos viendo tiene morfología redondeada, (parecen cocos) pero no son completamente esféricos. También podemos designar con este término a bacilos muy cortos.
- Vibrios: Bacterias con forma de coma.

- Formas irregulares: Bacterias con forma de maza (bacilo con un extremo ensanchado), forma de bastón, alas de gaviota, formas en Y, etc.

En ocasiones, una bacteria puede variar su morfología dependiendo de factores como la presencia de antibióticos y las condiciones de cultivo. A este fenómeno se le denomina Pleomorfismo.

Debes conocer

En la siguiente presentación podrás ver distintas imágenes de las diferentes morfologías que presentan las bacterias de importancia clínica.



[Resumen textual alternativo](#)

2.2.2.- Agrupación bacteriana.



¿Sabes qué es la meningitis?

Entre los agentes que la pueden causar se encuentra un diplococo. ¿Sabes qué es esto? No te preocupes en este apartado lo descubrirás.

Muchas veces las bacterias no se presentan en la naturaleza aisladas sino formando agrupaciones. El tipo de agrupación que forman nos ayuda a identificarlas.

En el caso de bacterias con forma de coco, podemos distinguir los siguientes agrupamientos:

- Diplococos: Se forma esta agrupación, cuando la célula madre se divide en un plano y las células hijas permanecen juntas tras la división. *Streptococcus pneumoniae* (neumococo) y *Neisseria meningitidis* (meningococo) son diplococos.
- Estreptococos: Se forma este tipo de agrupación cuando se producen varias divisiones sucesivas en planos paralelos. Es la agrupación característica del género *Streptococcus*.
- Tétradas y Sarcinas: Se forman cuando las divisiones sucesivas se producen en 2 planos perpendiculares entre sí respectivamente. Géneros como *Micrococcus* presentan una agrupación en tétradas.
- Estafilococos: Cuando las divisiones sucesivas se producen en tres planos distintos. Agrupación característica del género *Staphylococcus*.

En el caso de las formas bacilares, podemos encontrar:

- Diplobacilos : Dos bacilos juntos
- Estreptobacilos: Cadenas.
- Cordones: Varias filas de cadenas de bacilos juntas. Agrupación característica del género *Mycobacterium*
- Agrupaciones irregulares: Letras chinas, V, empalizada. Agrupación característica del

género *Corynebacterium*.

Debes conocer

En la siguiente presentación se muestran diferentes tipos de agrupaciones bacterianas que pueden ser observadas al microscopio óptico cuando se examinan las muestras clínicas.

[Resumen textual alternativo](#)

Autoevaluación

Señala entre estos géneros bacterianos los que tengan morfología de coco:

- ☐ *Mycobacterium*.
- ☐ *Neisseria*.
- ☐ *Staphylococcus*.
- ☐ *Corynebacterium*.
- ☐ *Vibrio*.

Mostrar retroalimentación

Solución

1. Incorrecto
2. Correcto

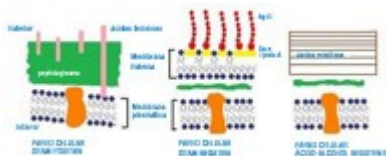
- 3. Correcto
- 4. Incorrecto
- 5. Incorrecto

2.2.3.- Composición de la pared celular.

Algunas tinciones además de darnos información sobre la forma, el tamaño y la agrupación de las bacterias nos hablan acerca de su pared celular. La pared celular proporciona forma y rigidez a la bacteria y le protege frente al medio que le rodea.

¿Conoces alguna bacteria que no tenga pared celular?

Todas las bacterias, con la excepción de los micoplasmas, tienen pared celular y en todas ellas esta pared contiene peptidoglicano o mureína, un [polímero](#) complejo, exclusivo de bacterias, que se distribuye en varias capas que rodean externamente a la bacteria y se entrecruzan formando una especie de malla.



¿Son todas las paredes de las bacterias iguales? No, en las bacterias podemos diferenciar tres tipos de pared celular, en función de su estructura y composición:

- Pared celular gram positiva.
- Pared celular gram negativa.
- Pared celular ácido-alcohol-resistente (AAR)

La pared celular de las bacterias gram positivas contiene varias capas de peptidoglicano (hasta 20) y ácidos teicoicos, polímeros de [glicerol](#) y [ribitol](#) que se unen al peptidoglicano mediante [enlace fosfodiéster](#).

La pared celular de las bacterias gram negativas contiene menos peptidoglicano (una o dos capas) y una membrana externa de estructura y composición única, situada por encima del mismo.

¿Qué hace a esta membrana externa tan especial?

La membrana externa de las bacterias gram negativas se caracteriza por ser asimétrica, la parte de la membrana que está en contacto con el interior de la bacteria tiene una composición similar a la de cualquier membrana plasmática. Sin embargo la parte de la membrana que mira hacia el exterior contiene una gran proporción de una sustancia llamada lipopolisacárido. Esta sustancia está formada a su vez por tres componentes:

- Un lípido, el lípido A, localizado hacia el interior.
- Una parte central o core formado por [polisacáridos](#)
- Una cadena de carbohidratos, que se proyecta hacia el exterior. Esta cadena tiene [propiedades antigénicas](#). Constituye el [antígeno](#) O (somático) cuando se estudia por serología.

La membrana externa de las bacterias gram negativas es tóxica y es la responsable de algunas de las consecuencias más graves de las infecciones como el choque séptico.

Un choque séptico es una complicación grave de una infección por bacterias gram negativas cuando estas pasan a la sangre. La respuesta del sistema inmune frente al lípido A del lipopolisacárido puede desencadenar hipotensión y fallo multiorgánico.

Por último existen algunas bacterias que tienen otro tipo de pared celular, en la que destaca un alto contenido en lípidos complejos o ceras, algunos característicos, denominados ácidos micólicos. Esta estructura vuelve a la bacteria prácticamente impermeable a los colorantes de tinción y le confiere resistencia a la desecación y a muchos desinfectantes y antibióticos. A estas bacterias se les conoce con el nombre de bacterias ácido alcohol resistentes (AAR).

Recomendación

Busca en la web más esquemas en los que se aprecie la estructura de la pared celular de las bacterias gram positivas y ácido-alcohol resistentes y compárala con la de las imágenes anteriores.

2.2.4.- Presencia o ausencia de estructuras.

Por último, existen tinciones que nos pueden ayudar en la identificación al poner de relieve estructuras que nos dan "pistas" sobre de qué tipo de bacteria pudiera tratarse.

Estas estructuras son las siguientes:

- **Cápsulas:** La cápsula es una estructura localizada por fuera de la pared celular que no aparece en todas las bacterias y realiza una función de protección particularmente en condiciones adversas. Está formada por polisacáridos. La cápsula es un factor de [virulencia](#), hace a la bacteria más resistente a la fagocitosis y facilita la adherencia a catéteres y prótesis.
- La composición de la cápsula, hace que ésta sea bastante difícil de teñir. Existen varios métodos para poder demostrar la presencia de cápsulas en bacterias, basados en el procedimiento de tinción negativa (se tiñe el fondo del campo, no la bacteria) Más adelante tendrás la oportunidad de estudiar este método de tinción.
- **Esporas:** Algunas bacterias sintetizan formas de resistencia cuando las condiciones del medio ambiente no les son favorables. En ese momento las bacterias duplican su ADN y lo protegen rodeándolo de una gruesa envuelta y una cubierta resistente. Estas endosporas o esporas internas son metabólicamente inertes y sobreviven a períodos de sequía y condiciones ambientales extremas. Las endosporas son asimismo resistentes al calor y a diferentes condiciones de desinfección.
- La morfología de la espora (esférica, cilíndrica, ovalada), su localización en la bacteria (central, terminal, subterminal) y el hecho de que la espora deforme o no el cuerpo bacteriano, son criterios utilizados en la identificación.
- **Flagelos:** Algunas bacterias poseen unas estructuras externas similares a pelos llamadas flagelos. Estas estructuras pueden observarse aplicando métodos especiales de tinción, utilizando [mordientes](#). Los mordientes se unen a los flagelos aumentando su grosor de forma que se hagan visibles al microscopio óptico. La localización y el número de flagelos son también criterios de clasificación bacteriana. Los flagelos proporcionan movilidad a las bacterias.
- **Inclusiones:** Algunas bacterias contienen en su citoplasma acumulaciones de productos de reserva que se observan en ocasiones al teñir. Estas inclusiones se tiñen con un

color diferente al colorante empleado en la tinción. A esta propiedad se le denomina metacromasia. Los gránulos o corpúsculos metacromáticos son característicos del género bacteriano *Corynebacterium* y su presencia nos puede ayudar en su identificación.

Debes conocer

En la siguiente animación, puedes identificar las diferentes partes de la estructura de la célula procariota.



[Resumen textual alternativo](#)

Autoevaluación

Señala la respuesta correcta en relación a la pared celular bacteriana.

- ☐ Las paredes AAR no contienen peptidoglicano.
- ☐ La pared celular de las bacterias gram positivas contiene lipopolisacárido.
- ☐ El lípido A es el componente del lipopolisacárido situado más internamente.
- ☐ Los ácidos micólicos son compuestos exclusivos de células gram positivas.
- ☐ Las bacterias gram positivas contienen menos peptidoglicano que las gram negativas.

No es correcta. El peptidoglicano forma parte de la estructura de todas las paredes celulares bacterianas.

Incorrecta. El lipopolisacárido es exclusivo de bacterias gram negativas.

Correcta. El lípido A es la porción interna del lipopolisacárido, se ancla en la membrana externa.

Lo siento no es correcta. Los ácidos micólicos son característicos de las bacterias ácido alcohol resistentes.

La respuesta no es correcta. Las bacterias gram positivas tienen una gruesa capa de peptidoglicano en su pared.

Solución

1. Incorrecto
2. Incorrecto
3. Opción correcta
4. Incorrecto
5. Incorrecto

2.3.- Técnicas de examen directo a partir de muestras.

Caso práctico

Una vez repasados los contenidos teóricos, Carlos decide realizar unas preparaciones de las muestras para ir familiarizándose con la observación de las bacterias al microscopio. Prepara un portaobjetos y un cubreobjetos y coloca la primera muestra para su examen. Al principio le cuesta enfocar, no es fácil ver bacterias sin teñir y mucho menos si éstas se mueven, tras ajustar el microscopio para obtener un mayor contraste, Carlos consigue ver las bacterias presentes en la muestra.

Los métodos de examen directo son técnicas sencillas que se realizan colocando la muestra a analizar directamente entre porta y cubreobjetos. Son muy útiles cuando queremos conocer las características "reales" de las células vivas, sin que hayan sido alteradas por los métodos de fijación (adhesión de las bacterias al portaobjetos) y tinción. Permiten también observar el movimiento.

Tienen un inconveniente, el contraste de los microorganismos con el medio que les rodea es mínimo, por lo que a veces resulta difícil su observación. Hay que jugar con la luz, manteniendo el condensador bajo, para lograr contraste. Un exceso de luz, hará que determinadas estructuras de [índice de refracción](#) bajo pasen desapercibidas. La [microscopía de contraste de fases](#) también puede ser utilizada para este fin.

Esta técnica es de gran utilidad en el estudio de parásitos y hongos. Los métodos empleados en el diagnóstico de estos microorganismos los estudiarás con detalle más adelante, en las secciones correspondientes.

Existen dos métodos para realizar exámenes directos: montaje húmedo y gota pendiente. Los pasos a seguir para realizar cada uno de los procedimientos vienen indicados en el esquema. La técnica de gota pendiente utiliza unos portaobjetos especiales con una depresión en el centro llamados portaobjetos excavados.

Para saber más



¿Quieres saber qué es lo que se ve el técnico cuando mira al microscopio un montaje de un microorganismo? Aquí encontrarás unos vídeos que te lo muestran, así como las instrucciones para el correcto manejo del microscopio en el laboratorio.

Espiroquetas, ...	Técnicas Básic...	Hanging drop f...
		

[Resumen textual alternativo](#) [Resumen textual alternativo](#) [Resumen textual alternativo](#)

How to Prepare a Wet Mo...



wet mounts - the wet mou...



2.4.- Preparación de frotis.



Carlos ha estado un buen rato observando a las bacterias presentes en las muestras, estaban continuamente moviéndose y le ha costado un poco hacerse una idea de su forma. Es su primer día de trabajo y quiere quedar bien, por lo que antes de tomar una decisión decide emplear alguna técnica de tinción.

El primer paso en la realización de tinciones es la preparación de un frotis, es decir una extensión de la muestra a estudio sobre un portaobjetos.

Puedes preparar un frotis tanto a partir de una muestra biológica (orina, esputo, heces, líquidos) como a partir de una colonia crecida en una placa de Petri o a partir de un [caldo](#). La preparación tiene dos pasos fundamentales: la transferencia de la muestra que se quiere estudiar y su fijación al portaobjetos.

Transferencia: La forma de realizar la transferencia dependerá del tipo de producto a examinar:

- Si la muestra es líquida: Utilizando una pipeta o el [asa de siembra](#), deposita una pequeña cantidad de la muestra, previamente homogeneizada, en el centro del portaobjetos y extiéndela con el asa de siembra hasta conseguir una capa fina y homogénea.
- Si la muestra proviene de un cultivo en medio sólido: Deposita una gota de agua o solución fisiológica en un portaobjetos y mezcla en ella parte de una colonia. Extiéndela bien en el portaobjetos creando una suspensión de color lechoso y déjala secar al aire.

Fijación: Una vez que la extensión esté seca, fija los microorganismos (en nuestro caso bacterias) al vidrio, pasando el portaobjetos varias veces sobre la llama de un mechero Bunsen. Este proceso recibe el nombre de fijación por calor y aunque no es la única manera de fijar microorganismos (también puede realizarse una fijación con metanol) es la más utilizada en las técnicas microbiológicas de rutina.

Debes conocer

Haz clic en la imagen y verás los puntos importantes que debes tener en cuenta a la hora de realizar la técnica para obtener un resultado óptimo.



[Resumen textual alternativo](#)

En la siguiente presentación se muestran todos los pasos de la preparación de un frotis a partir de una colonia procedente de un cultivo.



[Resumen textual alternativo](#)

2.5.- Técnica de tinción simple.



Una vez que las bacterias han sido fijadas al portaobjetos y por tanto no se van a perder en los pasos de lavado necesarios para la tinción, Carlos decide realizar una tinción simple, que consiste en la aplicación de un único colorante sobre las bacterias fijadas a los portaobjetos. Este procedimiento le permitirá observar mejor la morfología y agrupación de las bacterias.

Fundamento de la técnica:

Los colorantes que se emplean en las técnicas de tinción son sales, (el azul de metileno es en realidad la sal cloruro de azul de metileno) que cuando se disuelven en agua se disocian dando lugar a un ión cargado positivamente (de color azul en nuestro caso) y a un ión cargado negativamente incoloro. Como la parte donde reside el color es, en este caso, el ión positivo, se dice que el azul de metileno es un colorante básico.

Las bacterias, cuando se encuentran en un medio de pH neutro tienen una ligera carga negativa neta en su citoplasma, por tanto el ión positivo del colorante básico se unirá a ellas, quedando homogéneamente teñidas.

Reactivos: Estas técnicas emplean únicamente un colorante, que puede ser, azul de metileno, safranina, cristal violeta a concentraciones entre el 0,5 y el 1%.

Procedimiento:

1. Cubre el frotis con abundante colorante y déjalo actuar entre 1 y 2 minutos.
2. Lava la preparación con agua para eliminar el exceso de colorante.
3. Drena el exceso de agua del portaobjetos apoyándolo por su canto, sobre la superficie de trabajo.
4. Deja secar la preparación y obsérvala al microscopio con el objetivo de 100x.

Resultado esperado: Todas las bacterias presentes en la muestra aparecerán teñidas del mismo color. En algunas ocasiones es posible observar en el interior de las bacterias unos gránulos teñidos de color rojo con la tinción de azul de metileno. Son gránulos metacromáticos característicos del género *Corynebacterium*.

Debes conocer

Haz clic en la imagen y verás los puntos importantes que debes tener en cuenta a la hora de realizar la técnica para obtener un resultado óptimo.



[Resumen textual alternativo](#)

Autoevaluación

Indica cual de las siguientes respuestas relacionadas con el orden de realización de una tinción es correcta.

- ☐ Extensión, fijación y secado.
- ☐ Extensión, coloración y fijación.
- ☐ Coloración, extensión y secado.
- ☐ Extensión, fijación y coloración.

Incorrecta. En esta secuencia falta el paso de tinción.

No es correcta, la fijación debe realizarse tras el paso de extensión y antes de la coloración, de esta manera perderíamos las bacterias durante los pasos de lavado.

Respuesta incorrecta. El paso de coloración es el último en la secuencia de

realización de una técnica de tinción.

Correcta. El orden de realización de una tinción es extensión, fijación para que el producto no se vaya en los lavados, y coloración, la tinción propiamente dicha.

Solución

1. Incorrecto
2. Incorrecto
3. Incorrecto
4. Opción correcta

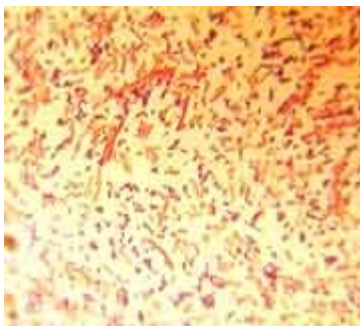
2.6.- Tinción de Gram.

Carlos ya conoce la forma de las bacterias, su tamaño relativo y su disposición, pero estos no son criterios suficientes para poder asignar "presuntivamente" un grupo taxonómico a las mismas. Es necesario conocer también la composición de su pared celular, por lo que debería realizar una tinción de gram.

La tinción de gram es la tinción más importante del laboratorio de microbiología ya que determina el tipo de pruebas que se le harán después a la bacteria. Una interpretación incorrecta de la misma puede alejarnos mucho de la verdadera identificación

Fundamento de la técnica.

La tinción de gram se basa en el diferente comportamiento de los reactivos de tinción dependiendo de la composición de la pared celular de las bacterias.



En las bacterias gram positivas, con mucho peptidoglicano, el colorante se unirá fuertemente

a su pared y quedará retenido tras el proceso de decoloración. En las bacterias gram negativas, con menos peptidoglicano y una membrana externa, el colorante se perderá tras el proceso de decoloración con alcohol-acetona. Un último paso de tinción, la aplicación de un colorante de contraste, teñirá a las bacterias gram negativas, las únicas que no estaban teñidas en ese momento

Reactivos:

- Primer colorante: cristal violeta.
- Solución mordiente: formada por yodo-lugol.
- Agente decolorante: alcohol-acetona.
- Colorante de contraste: safranina.

Resultados esperados: Las bacterias gram positivas aparecerán teñidas de color azul o violeta. Las bacterias gram negativas aparecerán teñidas de rojo. Son ejemplos de bacterias gram negativas, las enterobacterias: *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*. Son ejemplos de bacterias gram positivas los géneros *Staphylococcus* y *Streptococcus*.

Debes conocer

Haz clic en la imagen y verás los puntos importantes que debes tener en cuenta a la hora de realizar la técnica para obtener un resultado óptimo.

[Resumen textual alternativo](#)

En la presentación se muestra todos los pasos del procedimiento de tinción de gram, así como los puntos críticos del procedimiento.

[Resumen textual alternativo](#)

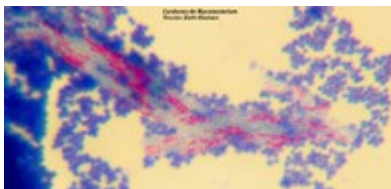
2.7.- Tinción de Ziehl-Neelsen (AAR).

¿Qué sabes acerca de la tuberculosis?

Es una enfermedad infecciosa causada por una micobacteria, el bacilo de Koch, cuyo nombre científico es *Mycobacterium tuberculosis*. Esta infección afecta particularmente a los pulmones pero también a otros órganos.

La tuberculosis representa uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial y la tinción de Ziehl-Neelsen es una de las principales herramientas para su diagnóstico.

Como ya estudiaste antes, la pared celular de las micobacterias contiene una gruesa capa de ceras que las hace resistentes a las condiciones ambientales adversas, a los desinfectantes y también dificulta su tinción. Sin embargo una vez teñidas las micobacterias son capaces de resistir la decoloración por ácidos y alcoholes.



Para realizar la tinción de Ziehl-Neelsen necesitas:

- Un colorante primario: Fucsina fenicada. Es una mezcla de fucsina y fenol capaz de teñir las células cuando se aplica calor. El fenol favorece la penetración de la fucsina en la pared celular.
- Un agente decolorante: Solución de alcohol-ácido clorhídrico.
- Un contracolorante: Azul de metileno.

Pasos del procedimiento:

1. Cubre la preparación con fucsina fenicada y aplica calor durante 5 min. Observa la emisión de vapores durante el procedimiento. Evita que el colorante hierva y se seque. Añade más si es necesario.
2. Lava la preparación con abundante agua.
3. Aplica una solución de alcohol: ácido clorhídrico durante 30 segundos sobre la

preparación.

4. Lava con abundante agua.
5. Aplica azul de metileno sobre la preparación durante 1 minuto.
6. Lava con abundante agua.
7. Seca la preparación y enfócala al microscopio con el objetivo de 100x.

Resultados esperados:

Las bacterias ácido-alcohol resistentes retienen la fucsina y se observarán teñidas de fucsia (rosa oscuro). El resto de las bacterias se decolorarán con la mezcla alcohol-ácido y se teñirán al aplicar el colorante de contraste, por lo que aparecerán teñidas en azul.

En la imagen anterior puedes observar el resultado de una tinción de Ziehl-Neelsen realizada en un frotis en el que había una mezcla de dos bacterias: *Mycobacterium phlei* y *Staphylococcus aureus*.

Autoevaluación

Indica cuál es el agente decolorante utilizado en la tinción de gram.

- ☐ Alcohol: ácido clorhídrico.
- ☐ Alcohol: acetona.
- ☐ Alcohol: agua.
- ☐ Acetona: lugol.

Incorrecto. La mezcla alcohol-ácido se utiliza en la tinción de Ziehl-Neelsen.

Correcto. La mezcla de alcohol y acetona se utiliza para decolorar en la tinción de gram.

No es correcta. No hay ninguna tinción que incorpore esa mezcla.

Respuesta incorrecta. El lugol es un mordiente que se utiliza en la tinción de gram pero no actúa como decolorante.

Solución

1. Incorrecto
2. Opción correcta
3. Incorrecto
4. Incorrecto

2.8.- Tinción de cápsulas.

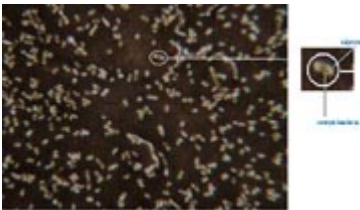


Hasta ahora Carlos ha podido realizar con éxito las tinciones, ya conoce bastantes datos como para poder asignar provisionalmente uno o varios géneros probables a cada una de las bacterias estudiadas.

Existen algunos procedimientos que nos proporcionan una información adicional, útil en algunos casos, como es el caso de la tinción de cápsulas que se dispone a realizar.

Existen algunas bacterias en las que la presencia de cápsula nos sirve para guiar nuestra identificación con mayor probabilidad de éxito. Es el caso de *Streptococcus pneumoniae*: diplococos gram positivos, capsulados, o de *Klebsiella pneumoniae*: bacilos gram negativos que presentan una gruesa cápsula.

La cápsula es una estructura difícil de teñir, por lo que para poder observarla al microscopio es necesario utilizar procedimientos algo diferentes a los utilizados en las demás tinciones.



Uno de ellos consiste en aplicar a las bacterias una técnica de tinción negativa. Se utilizan compuestos como tinta china o nigrosina, que no penetran en las bacterias (solo se depositan en su superficie) pero sí tiñen en el medio que las rodea. El cuerpo de la bacteria queda de un color grisáceo que contrasta con el fondo negro de la preparación. El espacio blanco que queda entre el cuerpo de la bacteria y el fondo corresponde a la cápsula.

Debes conocer

En esta presentación se muestran los pasos del procedimiento de tinción negativa, realizado sobre una muestra tomada a partir de una placa.



[Resumen textual alternativo](#)

Para tener éxito: Conviene no añadir tinta en exceso, un fondo completamente negro dificulta la observación.

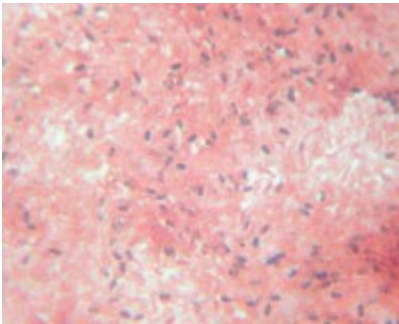
Control de calidad: Es importante incluir en el análisis, junto con las muestras, una muestra control positiva para cápsulas al que se le aplicará el mismo procedimiento. Este control nos permitirá comprobar el buen estado de los colorantes y la ejecución correcta del procedimiento. Sólo así podremos interpretar los resultados obtenidos.

Observaciones: Es una tinción que se realiza con bacterias vivas, sin teñir. Mantener las precauciones apropiadas.

2.9.- Tinción de esporas.

Para finalizar la mañana a Carlos sólo le queda una cosa por saber acerca de sus bacterias, ¿son capaces de formar esporas? Para ello realiza una tinción de esporas que le va a permitir conocer, en caso de que esta sea positiva su forma y localización dentro de la bacteria.

La tinción de esporas es una tinción muy útil en la identificación de los bacilos gram positivos. Géneros como *Bacillus* y *Clostridium* producen esporas cuando las condiciones del medio se vuelven desfavorables



Las endosporas poseen una gruesa cubierta que las hace resistentes a los factores ambientales adversos. Estas capas hacen también difícil que el colorante se introduzca en ellas, por lo que a menudo se observan al microscopio óptico como estructuras [refringentes](#) sin teñir.

Para teñirlas hace falta utilizar procedimientos especiales que incluyan calor, el calor hace que la membrana de la espora se agriete permitiendo la entrada del colorante. El procedimiento más utilizado para teñir esporas es la tinción de Wirtz.-Conklin que puedes ver a continuación.

Procedimiento:

1. Aplica la solución de verde de malaquita (5%) sobre el portaobjetos y coloca el portaobjetos encima de la llama del mechero durante 5 minutos. Evitar que el colorante hierva y la muestra se seque añadiendo nuevo colorante de vez en cuando.
2. Lava con abundante agua para eliminar el exceso de colorante.

3. Aplica la solución de safranina (0,5%) durante 1 minuto.
4. Lava con agua.
5. Seca y observar al microscopio.

Resultados esperados: Las esporas aparecen teñidas de color verde brillante, el cuerpo de la bacteria aparece teñido de color rojo.

Debes conocer

Haz clic en la imagen y verás los puntos importantes que debes tener en cuenta a la hora de realizar la técnica para obtener un resultado óptimo.



[Resumen textual alternativo](#)

Autoevaluación

Indica qué colorante se utiliza como colorante de contraste en la técnica de tinción de esporas de Wirtz.

- ☐ El azul de metileno.
- ☐ El verde de malaquita.
- ☐ La safranina.
- ☐ Fucsina fenicada.
- ☐ La tinción de esporas no utiliza colorantes de contraste.

Incorrecto. El azul de metileno se suele utilizar como colorante de contraste en la tinción de Ziehl-Neelsen.

Incorrecto. El verde de malaquita se utiliza como colorante primario de la tinción de esporas de WirtzWirtz.

Correcto. El color rojo de la safranina contrasta con el verde brillante de las esporas.

Respuesta incorrecta. La fucsina fenicada es el colorante primario empleado en la tinción de Ziehl_Neelsen para teñir paredes celulares de micobacterias.

Incorrecto. El colorante de contraste empleado tiñe todo lo que no está teñido tras el paso de decoloración, en este caso con agua.

Solución

1. Incorrecto
2. Incorrecto
3. Opción correcta
4. Incorrecto
5. Incorrecto

3.- Bioseguridad en el laboratorio de microbiología clínica.

Caso práctico



Carlos se encuentra con Susana al finalizar la jornada y le cuenta el trabajo que ha realizado esa mañana y como ha conseguido conocer las características de las bacterias que le han entregado para su estudio.

El día ha transcurrido con normalidad pero Carlos parece preocupado. ¿Cómo estar seguro de que no entras en contacto con ningún microorganismo al realizar los procedimientos?

Si bien todas las muestras hay que considerarlas como potencialmente infecciosas, el riesgo en un laboratorio de microbiología, "a priori", parece mucho más alto. La señal de riesgo biológico situada a la entrada del laboratorio le recuerda siempre esa posibilidad.

Susana intenta ayudar a Carlos repasando los principios básicos de seguridad en el laboratorio.

-Susana. El protocolo de prevención de riesgos dice que la primera actuación que debe realizarse ante una situación de riesgo es eliminar ese riesgo. En este caso, está claro que no podemos eliminarlo, las técnicas deben ser realizadas, por lo que solo está la posibilidad de disminuirlo al mínimo nivel posible. Tenemos que intentar realizar las técnicas con precisión y aplicar en cada caso todos los elementos de seguridad disponibles.

-Carlos. Mañana preguntaré quién es la persona responsable de la seguridad en el laboratorio y le solicitaré consultar el Manual de Seguridad, allí vendrán detallados todos los procedimientos y las precauciones que hay que tener para minimizar el riesgo.

-Susana. Recuerda que algunas veces es necesario utilizar la cabina de seguridad. ¿Has preguntado antes de empezar a trabajar qué tipos de bacterias se esperaba encontrar en las muestras? Está bien saber qué es lo que sospecha el médico que tiene el paciente. Para conocer esa información basta con consultar la hoja de solicitud de las pruebas.

Las técnicas que se realizan en un laboratorio de microbiología clínica suponen para el técnico de laboratorio cierto riesgo de infección al entrar en contacto con los microorganismos que estudia.

Este [riesgo biológico](#) es difícil de cuantificar ya que depende de muchos factores: Tipo de microorganismo, su forma de transmisión, el modo de manipulación del mismo y también del sistema inmune de las personas expuestas.

Corresponde al laboratorio la responsabilidad de adoptar un conjunto de Normas de Seguridad que eviten o reduzcan a un nivel bajo el riesgo de infección que conlleva la manipulación de todo material peligroso.

Debes considerar la seguridad en el laboratorio como una de tus principales prioridades al trabajar. Es importante por tanto que prestes una atención especial a este apartado donde conocerás qué microorganismos son los más peligrosos y cuáles son las técnicas microbiológicas que suponen un mayor riesgo de infección. En esta sección se indicarán asimismo qué tipo de barreras puedes utilizar para protegerte durante la realización de los procedimientos.

3.1.- Clasificación de los microorganismos en grupos de riesgo.



¿Piensas que todos los microorganismos son igual de peligrosos? ¿Cómo influye el tipo de microorganismo en las medidas a tomar en el laboratorio?

El RD 664/97 sobre protección de los trabajadores frente al riesgo biológico, clasifica los [agentes biológicos](#) en cuatro grupos en función de parámetros como:

- Su virulencia.
- Su modo de transmisión.
- La disponibilidad de tratamiento.
- El riesgo de difusión a la comunidad.
- La viabilidad del microorganismo en el entorno.

En el Grupo 1 se incluyen a aquellos microorganismos que es poco probable que causen infección en el hombre. Se trata de microorganismos ambientales asociados a plantas o a animales (*E. coli* K12, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*) o que se utilizan en la industria alimentaria (*Saccharomyces cerevisiae*)

Dentro del Grupo 2 de riesgo biológico se encuentran la mayor parte de los agentes de importancia clínica: Son agentes que:

- Pueden causar enfermedad en el hombre de carácter moderado o grave
- Se transmiten fundamentalmente por contacto e ingestión.
- Es poco probable que se propaguen a la colectividad
- Existe un tratamiento o profilaxis eficaz.

En el Grupo 3 se encuentran clasificados aquellos agentes que:

- Pueden causar grave enfermedad.
- De transmisión aérea.
- Es probable que se propaguen a la colectividad.
- Existe tratamiento eficaz.

En este grupo se incluyen bacterias que se transmiten por inhalación como *Brucella* o *Mycobacterium*, además de algunos virus, hongos y parásitos.

Por último, dentro del Grupo 4 se consideran agentes que:

- Causan enfermedad grave o muy grave.
- Suponen un serio peligro.
- Existen muchas posibilidades de que se propaguen a la colectividad.
- No existe un tratamiento o profilaxis eficaz.

El virus Ébola y el virus de la fiebre hemorrágica estarían en este grupo 4 de riesgo.

Para saber más

En el siguiente enlace puedes consultar información sobre la clasificación de los agentes biológicos en grupos de riesgo. Se encuentra en el Anexo II del RD 664/97.

[Real Decreto 664/97](#)

3.2.- Operaciones de riesgo.



Susana y Carlos reflexionan acerca de las operaciones realizadas por éste último para teñir, analizando los principales riesgos asociados a cada una de ellas.

Los riesgos de cada técnica estarán asociados al tipo de microorganismo presente en las muestras, a su modo de transmisión y a las operaciones realizadas en los protocolos de trabajo. Hay algunas operaciones como la homogenización o la [centrifugación](#), que presentan un mayor riesgo de infección para el operador, al estar involucrados en ellas los [aerosoles](#).

Las vías de infección más frecuentes son las siguientes:

- Ingestión.
- Inoculación accidental.
- Contacto: exposición ojos a través de los, transferencia a partir de dedos contaminados o salpicaduras de materiales infecciosos.
- Inhalación del microorganismo transportado por el aire mediante aerosoles.

En el esquema puedes observar los riesgos asociados a cada una de las operaciones realizadas por Carlos para preparar los frotis y teñirlos.



Además de estos, hay que considerar en el laboratorio de microbiología los peligros asociados

a operaciones como centrifugación, transporte y almacenamiento de muestras y cultivos, manejo de pipetas, pinchazos y cortes.

Debes conocer

En esta presentación se analizan los riesgos asociados a las actividades más frecuentes en un laboratorio de microbiología y se proponen medidas correctoras.

[Resumen textual alternativo](#)

3.3.- Barreras primarias.



Carlos habla con el responsable de seguridad del laboratorio y analiza las medidas de seguridad del mismo. Intenta localizar las barreras primarias y secundarias en el laboratorio y dónde están los botiquines y extintores por si algún día durante su estancia ocurriera un accidente.

Se consideran barreras primarias a todos aquellos métodos que se utilizan en el laboratorio para que la manipulación de los agentes infecciosos sea segura.

Estos métodos tratan de confinar el peligro y de reducir al mínimo la exposición a los agentes patógenos.

Constituyen la primera línea de protección frente al riesgo biológico y actúan sobre el personal que trabaja en el laboratorio y sobre el ambiente dentro del mismo.

En la imagen se pueden ver todos los factores a tener en cuenta a la hora de analizar la bioseguridad en un laboratorio de microbiología.



Son consideradas barreras primarias:

- Los protocolos de ejecución de las técnicas de laboratorio, considerados en el punto anterior.
- Los equipos de protección personal.
- Las cabinas de Seguridad biológica.

Para saber más

En estos enlaces encontrarás información detallada de todo lo concerniente a la seguridad en un laboratorio de microbiología clínica

[Protocolo nº 10. Seguridad en el laboratorio de microbiología clínica.](#)

[Prevención de riesgos biológicos en el laboratorio de microbiología.](#)

[Diseño de un laboratorio de microbiología clínica.](#)

3.3.1.- Equipos de protección personal.



¿Cuáles son los equipos de protección personal que es necesario utilizar en el laboratorio de microbiología?

Se define equipo de protección individual o EPI, como "*cualquier equipo destinado a ser llevado o sujetado por el trabajador para que le proteja de uno o varios riesgos que puedan amenazar su seguridad o su salud, así como cualquier complemento o accesorio destinado a tal fin.*"

En el laboratorio de microbiología clínica EPIs son:

1. Los equipos protectores de los ojos y cara:
 - Gafas de seguridad.
 - Pantallas faciales.
2. Los equipos protectores de las vías respiratorias:
 - Mascarillas frente a aerosoles.
3. Los equipos protectores de manos y brazos:
 - Guantes: de un solo uso, ajustados a las manos del trabajador.
 - Manguitos.
4. Los equipos protectores de la totalidad del cuerpo:
 - Batas: cerradas por delante y con los puños cerrados.
 - Calzado (es recomendable evitar modelos que no cubran por completo el pie)

Todos estos elementos protectores deben ser cómodos para el personal y no dificultar sus manipulaciones. Los EPIs deben ser seleccionados en función del máximo nivel de riesgo

que se espera encontrar al desarrollar la actividad.

La utilización de un equipo equivocado creará un riesgo adicional al operario al inspirar en éste un falso sentido de seguridad.

Autoevaluación

En Prevención de Riesgos Laborales, se denomina EPIs:

- ☐ A los equipos personales individuales.
- ☐ A los guantes, gafas, mascarillas, pantallas y ropa de trabajo en general.
- ☐ A los equipos de protección individual.
- ☐ A los equipos de prevención individual.

Incorrecto. No todos los equipos personales protegen.

Incorrecto. El equipo debe tener una finalidad protectora.

Correcto. Se denomina EPI a cualquier equipo destinado a proteger al trabajador

Incorrecto. Los EPIs están relacionados con el concepto de protección, no de prevención.

Solución

1. Incorrecto
2. Incorrecto
3. Opción correcta
4. Incorrecto

Son microorganismos clasificados dentro del grupo 3 de riesgo biológico.

- ☐ *Streptococcus pneumoniae*.
- ☐ *Mycobacterium tuberculosis*.
- ☐ El virus Ébola
- ☐ *Bacillus subtilis*

Incorrecto. Aunque es de transmisión aérea esta bacteria está clasificada en el nivel 2 de riesgo, como la mayoría de las bacterias de importancia clínica.

Correcto. Esta especie de *Mycobacterium* se transmite por inhalación y está clasificada en el nivel 3 de riesgo.

Incorrecto. El virus Ébola pertenece al grupo de agentes biológicos clasificados en el nivel 4 de riesgo.

Incorrecto. No se ha demostrado que *Bacillus subtilis* cause ninguna enfermedad. Pertenece al grupo de bacterias que están en el nivel 1 de riesgo.

Solución

1. Incorrecto
2. Opción correcta
3. Incorrecto
4. Incorrecto

3.3.2.- Cabinas de seguridad biológica (CBS).



Las cabinas de Seguridad biológica son asimismo una barrera de contención que protege al operador.

Son recintos de circulación forzada de aire, con presión negativa y constituyen el principal elemento de protección frente a aerosoles, por lo que es obligatorio su uso cuando la muestra con la que se trabaje contenga microorganismos que se transmitan por inhalación. Estos microorganismos están clasificados en el grupo 3 de riesgo.

Las cabinas de seguridad biológica disponen de dos elementos de protección:

- Barreras: Establecen una cortina o flujo de aire que circula en una dirección determinada, evitando el riesgo de diseminación.
- Filtros: Utilizan filtros HEPA. Filtros de alta eficiencia en el filtrado de las partículas del aire. Retienen el 99,7% de las partículas mayores de 0,3 μm y son adecuados para trabajar con microorganismos de los grupos 1, 2 y 3.

Existen 3 tipos de cabinas de seguridad biológica que se utilizarán dependiendo del tipo de microorganismos con los que se trabaje en el laboratorio.

Clase I Son adecuadas para trabajar con microorganismos de riesgo 1,2 y 3. "Aspiran" el aire de la habitación y lo mandan al exterior a través de un filtro HEPA. Estas cabinas sólo protegen al operador pero no a la muestra, filtran únicamente el aire de salida de la cabina.

Clase II: Son llamadas cabinas de flujo laminar. Contienen dos filtros HEPA, uno que filtra el aire que sale al exterior y otro que crea una cortina de aire que incide directamente sobre la muestra, protegiéndola de la contaminación. Existen varios tipos de cabinas de clase II, que varían en características como el tipo de salida del aire extraído de la cabina, la proporción de aire recircularizado y la velocidad de flujo del mismo. Estas cabinas protegen tanto al

operador como a la muestra.

Clase III: constituyen el máximo nivel de seguridad. Son recintos de presión negativa completamente aislados del entorno. Tienen 3 filtros HEPA, uno que filtra el aire en contacto con la muestra y 2 filtros colocados en serie, que filtran el aire que sale al exterior. Se recomiendan para trabajar con agentes del grupo 4 de riesgo.

Peligros asociados a la mala utilización de las cabinas de seguridad.

Las cabinas de seguridad biológica pueden dar al trabajador una falsa sensación de seguridad, que piensa que por trabajar en una cabina ya está protegido y no es así. Existe un protocolo de trabajo que es necesario seguir para poder trabajar en condiciones de seguridad.

Debes conocer

En esta presentación se describen los principales aspectos a tener en cuenta cuando se van a utilizar cabinas de seguridad biológica en el trabajo.



[Resumen textual alternativo](#)

3.4.- Barreras secundarias.



Otro punto importante por el que Carlos se interesa a la hora de consultar el Manual de Seguridad es el relacionado con los métodos de contención secundaria.

Los métodos de contención secundaria tienen por objeto la protección del ambiente exterior al laboratorio. Protegen tanto al personal que trabaja en el laboratorio como al personal que trabaja en el Hospital como a toda la comunidad.

Los métodos de contención secundaria combinan el diseño de las instalaciones y los hábitos de trabajo seguros.

En el diseño del laboratorio se debe especificar los siguientes aspectos:

- La separación de zonas: mejor que el laboratorio se localice fuera del tráfico del hospital, en un lugar que no sea de paso.
- Las superficies de trabajo y paredes interiores deben ser lisas y resistentes a [ácidos](#) y [álcalis](#).
- Es aconsejable que el laboratorio mantenga una presión negativa con respecto al exterior del mismo, para lo cual es necesario que las ventanas del laboratorio estén cerradas.

El laboratorio debe disponer de sistemas de filtrado del aire, no es aconsejable que éste se recircule y también de sistemas de descontaminación, por ejemplo, [autoclaves](#).

Autoevaluación

Relaciona el equipo del laboratorio con el tipo de barrera (contención) con el que se corresponda.

Ejercicio de relacionar.

Equipo		Relación Barrera
Guantes	☐	1. Primaria
Cabina de seguridad	☐	2. Secundaria
Mascarilla	☐	
Autoclave	☐	
Ducha	☐	

Enviar

Los guantes y mascarilla son EPIs clasificados como barreras primarias que protegen al trabajador. El autoclave y la ducha son considerados barreras secundarias que protegen a la comunidad y al ambiente exterior al laboratorio.

3.5.- Niveles de seguridad.

NIVELES	REQUISITOS ESPECIALES
Nivel 1 (P1) Virus de baja virulencia Laboratorios de referencia y experimentación.	Nivel 1 = eliminación especial de residuos.
Nivel 2 (P2) patógenos de alto riesgo. Bacterias, hongos, virus, parásitos, Quemaduras.	Nivel 2 = ropa especial + doble puerta (salida + presión negativa) + filtro de aire de entrada y de salida.
Nivel 3 (P3) patógenos moderados. Tuberculosis, hepatitis, VIH, SIDA, Escarlatina, Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).	Nivel 3 = áreas señalizadas + CDS + autoclave.
Nivel 4 (P4) microorganismos patógenos.	Normas generales de protección.

Se pueden definir para los laboratorios de microbiología 4 niveles de seguridad que combinan en mayor o menor medida todos los elementos de contención expuestos anteriormente.

En el Nivel 1 se contemplan las medidas generales que se deben poner en práctica en todos los laboratorios.

- Regulación del acceso del personal.
- Desinfección de superficies de trabajo con lejía al 10% o etanol al 70%.
- Medidas higiénicas: Se prohíbe comer, fumar, aplicarse cosméticos, morder los lápices o bolígrafos y tener alimentos en el laboratorio.
- Lavarse las manos: Será obligatorio al terminar de trabajar con microorganismos y al terminar la jornada.
- Realización de técnicas intentando a reducir los riesgos de generación de aerosoles, inoculación y contacto.
- Obligación de llevar ropa protectora (bata) así como guantes, y gafas cuando sea necesario. Los guantes serán siempre desechados antes de salir del área de trabajo. Tras quitarse los guantes se realizará un lavado de manos.
- Eliminación de los residuos: Los residuos que van a ser incinerados deben ser transportados en contenedores cerrados resistentes e impermeables.

Nivel 2 de Seguridad. Se debe instaurar cuando se trabaja con microorganismos de peligrosidad moderada (es el nivel de seguridad de los Hospitales y Centros de Salud de nivel primario).

Este nivel incorpora las medidas del nivel 1 y otras adicionales que puedes ver en la imagen anterior.

Niveles 3 y 4 de seguridad: Caracteriza a estos niveles:

- La separación de las áreas de trabajo.
- El acceso al laboratorio controlado con doble puerta de entrada y habitación para cambiarse de ropa y ducha.
- Descontaminación de los residuos infecciosos en el propio laboratorio.
- Flujo de aire negativo.

Para saber más

En este vídeo podrás ver las medidas de un laboratorio de nivel 3 que se dedica a investigación en Sanidad animal.

[Resumen textual alternativo](#)

3.6.- Gestión de los residuos.



¿Has pensado alguna vez que se hace con todos los residuos que se generan en un hospital? ¿Cómo se recogen? ¿Dónde van?

¿Qué ocurrirá con los residuos de laboratorio? ¿Cómo se eliminarán todos los millones y millones de bacterias que se obtienen tras los cultivos?

El protocolo de gestión de residuos exige las siguientes acciones:

1. Identificarlos.
2. Segregarlos.
3. Almacenarlos, transportarlos y eliminarlos.

Los residuos sanitarios están clasificados en dos grupos:

- Residuos inespecíficos.

Grupo I: Sanitarios asimilables a urbanos: cartón, papel, material de oficina, basura orgánica.

Grupo II: Inertes generados en la actividad sanitaria (gasas, apósitos, ropa de un solo uso manchada de sangre). Eliminados utilizando bolsas de basura de [galga](#) superior a la habitual.

- Residuos de riesgo o específicos.

Grupo III: Residuos especiales que por sus riesgos sobre la salud laboral o comunitaria requieren unas medidas especiales de recogida, almacenamiento, transporte y eliminación.



Grupo IV: Residuos de alto riesgo no incluidos en el grupo III y los citostáticos, que tienen una normativa especial y deben ser eliminados aparte. Sustancias cancerígenas, de elevada toxicidad, compuestos como el bromuro de etidio, pilas de "botón", mercurio...

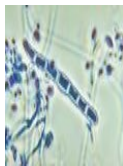
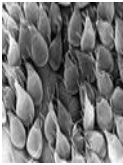
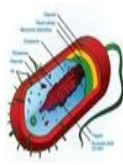
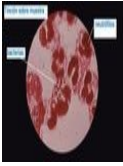
La mayoría de los residuos que se generan en el laboratorio de microbiología pertenecen al grupo III: cultivos, reservas de agentes infecciosos, sangre, agujas, material punzante o cortante, animales infectados.

¿Cómo se eliminan estos residuos?

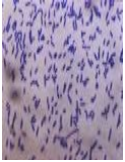
- Los materiales cortantes y punzantes se depositan en contenedores rígidos no superiores a 2 litros, que se deben manejar con cuidado para no generar aerosoles. Como el que se muestra en la siguiente imagen.
- Los cultivos líquidos (caldos) con microorganismos se autoclavan antes de descartarlos por el fregadero. Otra posibilidad es inactivarlos con lejía antes de tirarlos.
- Cultivos sólidos: Con respecto a los cultivos sólidos existen dos posibilidades de eliminación:
- Incineración: Los residuos se colocan en bolsas rojas que se almacenan en contenedores rígidos y se transportan hasta la planta incineradora.
- Esterilización por autoclavado en bolsas abiertas y posterior descarte como basura asimilable a urbana.

Anexo.- Licencias de recursos.

Licencias de recursos utilizados en la Unidad de Trabajo.

Recurso (1)	Datos del recurso (1)	Recurso (2)	Datos del recurso (
	Autoría: CDC/ Janice Haney Carr/ Jeff Hageman, M.H.S. Licencia: Dominio público. Procedencia: http://phil.cdc.gov/phil/details.asp?pid=10046		Autoría: Dr. Libero , Licencia: Dominio p Procedencia: http://phil.cdc.gov/phil/details.asp?pid
	Autoría: Dr.Stan Erlandsen. Licencia: Dominio público. Procedencia: http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Giardia-spp.-infected--gerbil-intestine.jpg?uselang=es		Autoría: Mariana Ru por JMPerez. Licencia: Dominio pu Procedencia: http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Average_
	Autoría: Dr.Erskine.L.Palmer; Dr.M.L. Martin. Licencia: Dominio público. Procedencia: http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Influenza_virus_particle_color.jpg?uselang=es		Autoría: L.Pengo Licencia: CC by-sa Procedencia: http://commons.wikimedia.org/wiki/Archivo:Categ
	Autoría: Mª Dolores Sola Larraya. Licencia: Uso Educativo no comercial. Procedencia: Modificada a partir de la imagen:		Autoría: CDC/ Matth Licencia: Dominio p Procedencia: http://phil.cdc.gov/phil/details.asp?pid

Autoría: Muntasir du.



Licencia: Dominio público.

Procedencia: http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Bacteria_photomicrograph.jpg

Autoría: Andrés Ru



Licencia: CC by

Procedencia: <http://andresrueda/29831>

Autoría: Laura R. Zambuto



Licencia: Dominio público.

Procedencia: <http://phil.cdc.gov/phil/details.asp?pid=10757>

Autoría: CDC/ Grah



Licencia: Dominio Pu

Procedencia: Monta
<http://phil.cdc.gov/p>