

2

STERILIZAREA, DEZINFECȚIA ȘI CONSERVAREA

Sterilizarea este distrugerea sau îndepărtarea tuturor microorganismelor, inclusiv a sporilor;

Dezinfecția este distrugerea formelor vegetative ale microbilor patogeni, dar nu obligator și a sporilor, din substanțe sau de pe suprafețe, care încetează astfel a mai fi vehicol al infecției.

Conservarea are două aspecte:

- unul privește prezervarea unor substanțe (alimente, medicamente, cosmetice, reactivi biologici) de degradarea microbiană;
- altul privește păstrarea viabilă a unor microbi în vederea studierii lor (conservarea unor prelevate patologice) sau a utilizării lor repetate la nevoie (tulpini de referință).

2.1. STERILIZAREA

În laboratoarele de microbiologie sterilizarea se obține prin tehnici bazate pe următorii agenți:

- căldură uscată:
 - încălzirea la roșu,
 - flambarea,
 - incinerarea,
 - aer cald;
- căldură umedă:
 - peste 100°C (autoclavare);
 - la sau sub 100°C (tyndallizare);
- filtrare.

Sterilizarea chimică prin oxid de etilen, utilă pentru chirurgie și stomatologie, nu este justificată în microbiologie.

2.1.1. Sterilizări prin căldură uscată

Încălzirea la roșu este indicată pentru firul drept, ansa și spatula de însămânțare.

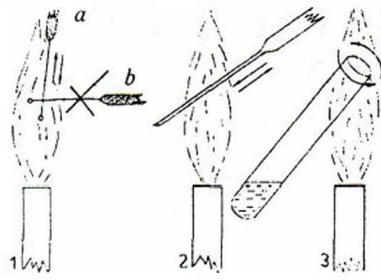


Fig. 2.1. Sterilizarea prin ardere in flacără: 1 — încălzirea la roșu; a — poziția corectă, b — poziția incorectă a ansei in flacără; 2 — flambarea capilarului pipetei Pasteur; 3 — flambarea gurii unei eprubete

Flambarea, adică infierbântarea obiectului de sterilizat prin trecere repetată in flacără timp de câteva secunde, este *indicată* pentru capilarul pipetelor Pasteur, gura eprubetelor și flacoanelor (figura 2.1). Aceste tehnici sunt *contraindicate* pentru sterilizarea obiectelor voluminoase care se încălzesc și se răcesc prea încet pentru a fi utilizate imediat (pipete gradate etc.) sau pe care căldura flăcării le degradează (ace de seringă, instrumentar chirurgical etc.).

Incinerarea este *indicată* pentru sterilizarea materialelor cu unică folosință contaminate prin utilizarea in laborator.

Sterilizarea prin aer cald. *Indicații:* obiecte de laborator din sticlă (eprubete, flacoane, pipete) sau porțelan (mojare, pistile), seringi Luer din sticlă, instrumentar chirurgical, substanțe grase, pulberi termosabile. *Contraindicații:* soluții apoase, obiecte din cauciuc sau cu garnituri din cauciuc, seringi din sticlă cu metal, țesături și vată din bumbac sau fibră sintetică, materiale contaminate din laborator.

Sterilizarea prin aer cald se realizează in etuvă la 160—180°C timp de o oră. Timpul de sterilizare crește peste o oră in cazul ambalajelor voluminoase sau obiectelor și substanțelor care se încălzesc greu (tabelul 2.1).

Etuva este o incintă cilindrică sau paralelipidică cu pereți dubli, din tablă, termoizolați. Rezistențele electrice și un termostat permit menținerea constantă a temperaturii de sterilizare. Un sistem de ventilație pune in mișcare aerul in interiorul incintei pentru uniformizarea temperaturii. Obiectele de sterilizare se așază in etuvă pe rafturi din sită metalică (figura 2.2).

Procedura:

1. Se așază obiectele pregătite pentru sterilizare (vezi mai jos) pe rafturi, fără a umple incinta până la refuz, respectând mici spații între ambalaje pentru circulația nestânjenită a aerului cald.

2. Se inchide ușa aparatului, se deschid orificiile de ventilație și se conectează aparatul la rețeaua electrică. Etuvele mari au ventilator cu palete, care pornește o dată cu rezistențele electrice.

3. Se marchează timpul de sterilizare (conform tabelului 2.1) din momentul in care termometrul indică 160—180°C.

4. Se scot obiectele sterilizate numai după răcirea aparatului.

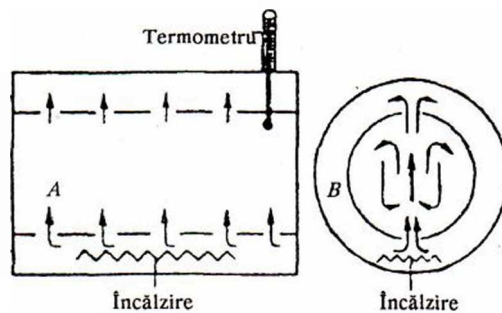


Fig. 2.2. Etuva pentru sterilizarea prin aer cald, schemă: A — secțiune longitudinală; B — secțiune transversală, săgețile marchează circulația aerului cald in incinta de sterilizare

2.1.2. Sterilizări prin căldură umedă

2.1.2.1. Sterilizări la peste 100°C

Aceste sterilizări se fac in autoclave prin vapori sub presiune, care realizează 115°C la 0,5 atmosfere, 121°C la o atmosferă.

Tabelul 2.1. Parametrii sterilizării prin aer cald și prin vapori de apă sub presiune

Materialul și volumul în care este supus sterilizării	Timpu ¹ de egalizare a temperaturii	Timpu ¹ de omorâre a microbilor	Timpu ¹ total al operației ²
<i>Sterilizare în etuvă la 160–180°C</i>			
Sticlărie, instrumentar metalic în ambalaje cu volum redus	35	25	60
Ibid., în ambalaje voluminoase; seringi Luer din sticlă ambalate în tuburi; pulberi în cutii Petri în strat mai subțire de 0,5 cm și nu mai mult de 10 g/cutie	95–125	25	120–150
Ulei (maximum 85% din volumul recipientului): ■ în fiole până la 20 ml ■ în flacoane de 100 ml ■ în flacoane de 300 ml	25	25	50
	45	25	70
	50	25	75
<i>Autoclavare la 121°C</i>			
Soluții apoase (maximum 75–80% din volumul recipientului): ■ volum de 10 ml în eprubete ■ volum de 500 ml ■ volum de 1000 ml ■ volum de 2000 ml	0	18	18
	2–7	18	20–25
	7–12	18	25–30
	17–27	18	35–45
¹ Timpu măsurat în minute. ² Măsurat din momentul în care presiunea din incinta de sterilizare a atins valoarea selectată.			
NOTĂ: Este contraindicat a steriliza concomitent volume mari cu volume mici, pentru că la aceeași durată de expunere volumele mici se supraîncălzesc, iar cele mari pot rămâne nesterilizate (e. g. la o expunere de 25 minute).			

feră și 134°C la 2 atmosfere. Această corespondență temperatură—presiune a vaporilor de apă se realizează numai într-o incintă complet lipsită de aer. Prezența aerului compromite sterilizarea. Vaporii de apă, mai ușori, încălzesc partea superioară a incintei, iar aerul, mai greu, rămâne în partea inferioară cu temperaturi insuficiente pentru sterilizare. Parametrii sterilizării la autoclavă sunt prezentați în tabelul 2.1.

Autoclava este un cazan cu pereți rezistenți, în care, după închiderea etanșă cu un capac masiv, presat cu buloane sau cu un sistem cabestan, vaporii de apă se comprimă la presiunea necesară sterilizării.

A. Autoclavele cu perete simplu pot fi verticale sau orizontale. Sunt cele mai indicate pentru sterilizarea soluțiilor și materialului contaminat din laborator. Aici se mai sterilizează sticlăria pentru culturi de celule și aparatele de filtrare.

La acest tip de autoclave vaporii provin din apa aflată în cazanul de presiune și pătrund în camera de sterilizare de jos în sus prin suportul de tablă perforată pe care se așază obiectele de sterilizat. Un manometru controlează presiunea din interiorul cazanului. Un robinet de vaporii, aflat în partea superioară a autoclavei, pune în legătură cazanul cu exteriorul. Un al doilea robinet, aflat la partea inferioară, permite evacuarea apei din cazan. O supapă de siguranță permite evacuarea vaporilor, când presiunea lor depășește limita de securitate. Cazanul este cuprins într-un manșon de tablă groasă, care la partea inferioară formează un locaș pentru adaptarea sursei de căldură.

Procedura:

1. Se toarnă apă în cazan, prin incinta de sterilizare, până la 2—3 cm sub nivelul suportului.

2. Se așază pe suport obiectele de sterilizat în ambalajul lor. Ambalajele sunt: flacoane, eprubete, coșuri din sârmă pentru eprubete și flacoane mici, cutii, caselete, hârtie pentru împachetarea unor obiecte, găleți sau saci din plastic termorezistent pentru materialul de laborator contaminat. Flacoanele se introduc cu capacul semiînșurubat, cutiile cu capacul întredeschis, caseletele cu orificiile deschise, gălețile fără capac.

3. Se închide etanș capacul strângând buloanele diametral opus, mai întâi cu mâna, apoi complet cu o pârghie.

4. Se conectează sursa de căldură.

5. Se deschide robinetul pentru evacuarea aerului. O dată cu vaporii de apă, prin robinetul deschis, se evacuează și aerul din incinta de sterilizare, asigurând astfel o convecție puternică: vaporii în contact cu obiectele reci le cedează căldura și se condensează; presiunea lor tinde să scadă și atrage altă cantitate de vaporii care transportă și cedează căldura ș. a. m. d. Aprecierea corectă a evacuării aerului se face cufundând într-un vas cu apă un tub de cauciuc adaptat la robinetul de vaporii. Aerul este complet evacuat din incinta de sterilizare, când încetează a mai barbota prin apă.

6. Se închide robinetul de evacuare a aerului.

7. Când presiunea ajunge la valoarea aleasă, se reglează sursa de căldură, pentru a menține această presiune pe toată durata timpului de sterilizare (tabelul 2.1).

8. Se întrerupe sursa de căldură și se lasă aparatul să se răcească până când manometrul indică zero (presiunea atmosferică). Numai în acest moment se deschide lent robinetul de vaporii, apoi capacul. Nu se deschide autoclava cât presiunea este peste zero, pentru că lichidele fierbinți vor fierbe exploziv și pot sparge flacoanele.

9. Se lasă materialele pentru uscare în autoclava deschisă. Când materialele ajung la cca 80°C pot fi scoase. Aceasta durează în funcție de volumul ambalajelor și vâscozitatea soluțiilor. Flacoanele mari cu mediu de cultură agarizat pot necesita și câteva ore.

Dezavantaje: În ambalaje pot persista pungi de aer, precum și o cantitate mare de condens în cursul sterilizării. Uscarea dificilă după sterilizare impune o serie de precauții (e. g. evitarea contactului obiectelor ambalate în hârtie cu suprafețe nesterile până la perfectă uscare a ambalajului).

B. *Autoclavele cu manta de abur* sunt concepute pentru sterilizarea materialelor chirurgicale din bumbac, obiectelor și instrumentelor din cauciuc, instrumentarului metalic, seringilor cu componente metalice etc., pentru că asigură uscarea rapidă și perfectă a materialelor sterilizate. Pot fi verticale sau orizontale.

În lipsa unei autoclave cu perete simplu, pot fi utilizate și pentru sterilizarea soluțiilor sau a altor materiale din laborator.

■ *Autoclava verticală cu manta de abur.* Vaporii de apă provin din rezervorul de apă plasat în partea inferioară a cazanului de presiune și pătrund în incinta de sterilizare, de sus în jos, după ce au trecut prin mantaua de abur și au încălzit-o. Această autoclavă prezintă

următoarele accesorii în plus față de autoclava cu perete simplu: o pâlnie de alimentare și o nivelă pentru controlul apei din sursa de vapori, robinete care pun în comunicare sursa de vapori cu aceste piese, un robinet de evacuare a aburului și un robinet prin care se elimină apa de condens acumulată în partea declivă a incintei de sterilizare.

Procedura:

1. Se deschid robinetele pâlniei de alimentare cu apă și ale nivelei.
2. Se toarnă apă în rezervor până la marca indicată pe nivelă.
3. Se așază în incinta de sterilizare materialele în ambalajele lor.
4. Se închide etanș capacul cazanului.
5. Se conectează sursa de căldură.
6. Se deschide robinetul pentru evacuarea aerului și se închid toate celelalte robinete ale aparatului.

Pentru sterilizarea soluțiilor se procedează în continuare ca la autoclava cu perete simplu (etapele 5—9). În acest caz nu se operează deloc nici cu robinetul de evacuare a aburului, nici cu cel de evacuare a condensului (acestea rămân închise).

Pentru sterilizarea materialelor chirurgicale și a seringilor, după epuizarea timpului de sterilizare:

- se intrerupe sursa de căldură,
- se deschide robinetul de evacuare a aburului și, când presiunea a coborât la 0,5 atmosfere,
- se deschide robinetul pentru evacuarea condensului, iar când presiunea a coborât la zero,
- se deschide capacul autoclavei,
- se scot casoletele și se închid orificiile numai după ce s-au răcit în autoclavă. În caz contrar, prin răcire în exterior, până la o treime din volumul lor va absorbi aer atmosferic contaminat.

■ *Autoclava orizontală cu evacuare gravitațională a aerului poate fi cilindrică sau rectangulară. Ușa se închide cu sistem cabestan (figura 2.3).*

Vaporii proveniți din sursă exterioară cu mare presiune trec spre manta și incinta de sterilizare printr-un regulator de presiune.

Aburul este obligat să pătrundă prin partea superioară a incintei de sterilizare, forșând astfel aerul și condensul să se scurgă gravitațional prin conducta de la partea inferioară a incintei, care este prevăzută cu site pentru reținerea impurităților.

Valvele termostactice (capcane pentru abur pur) asigură reținerea în incinta de sterilizare și manta numai a aburului pur. Ele se deschid când temperatura scade cu peste 2°C sub cea a aburului pur evacuând automat aerul și condensul și se reînchid când temperatura revine la mai puțin de 2°C față de cea a aburului pur.

Un termometru indică temperatura aburului din canalul de scurgere deasupra capcanei de abur, cât mai aproape de partea inferioară a incintei de sterilizare.

Un sistem de vacuum favorizează uscarea finală a materialelor sterilizate, iar un sistem de răcire previne fierberea violentă a lichidelor și grăbește scăderea presiunii la sfârșitul sterilizării.

Procedura:

1. Prin admisie de abur, se încălzește mantaua până la temperatura de sterilizare, reducând astfel formarea condensului în incinta de sterilizare și grăbind uscarea finală.

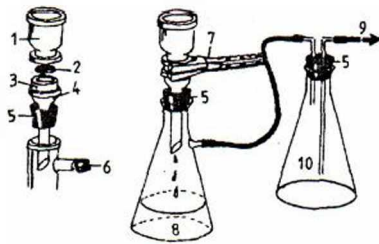


Fig. 2.3. Membrană filtrantă montată în dispozitiv de filtrare prin presiune negativă: 1 — pălnie; 2 — membrană filtrantă; 3 — suportul membranei (sticlă poroasă); 4 — bază (metal sau sticlă); 5 — dop de cauciuc; 6 — dop de vată; 7 — clemă; 8 — fluidul filtrat; 9 — spre pompa de vid; 10 — capcană

2. Se plasează în incinta autoclavei materialele de sterilizat și se închide ușa etanș.

3. Se deschide accesul vaporilor de apă în incinta de sterilizare cu valva canalului de evacuare a aerului și condensului deschisă.

4. Se urmărește termometrul canalului de evacuare a incintei de sterilizare. Când atinge temperatura selectată pentru sterilizare (uzual 5—10 minute), se marchează timpul de sterilizare conform indicațiilor din tabelul 2.1. Indicațiile manometrului sunt mai puțin fidele pentru că nu atestă prezența aburului pur în incintă.

NOTĂ: Se curăță zilnic sitele canalului de evacuare, pentru a-i asigura permeabilitatea perfectă.

5. La epuizarea timpului de sterilizare se oprește accesul vaporilor în incinta de sterilizare, dar se continuă circularea lor prin manta.

La sterilizarea soluțiilor se lasă presiunea să scadă spontan până la zero în incinta de sterilizare.

Pierderea de căldură prin ușa fără manta a autoclavei realizează scăderea presiunii în 10—30 minute, în raport cu volumele de lichid sterilizate. La volume mari de medii agarizate scăderea presiunii poate dura mai mult de o oră, ceea ce poate degrada mediile termosensibile. Autoclavele moderne sunt prevăzute cu sisteme de răcire a flacoanelor fără fierbere explozivă. În lipsa acestora, la sfârșitul operațiunii, răcirea poate fi grăbită prin deschiderea foarte lentă a valvei de evacuare a incintei.

La sterilizarea materialelor chirurgicale și seringilor:

- Scăderea presiunii în incinta de sterilizare este provocată prin deschiderea imediată a valvei de evacuare. Uscarea poate fi grăbită prin acționarea sistemului de vacuum.

- Deschiderea autoclavei se face numai după ruperea vidului din incinta de sterilizare prin deschiderea valvei de acces a aerului filtrat. Casoletele trebuie să se răcească în autoclavă aproape de temperatura camerei.

Protecția operatorului

1. Nu se deschide capacul autoclavei înainte de coborârea presiunii la zero și deschiderea lentă a robinetului de evacuare a incintei. Volumele mari de soluții pot avea însă peste 100°C și la contactul cu aerul la temperatura camerei pot exploda.

2. Pentru deschiderea capacului, se utilizează mănuși protectoare termoizolante și fața se protejează cu un vizor care acoperă de asemenea pielea gâtului și pieptul.

2.1.2.2. Tyndallizarea sau sterilizarea fracționată

Tyndallizarea ori sterilizarea fracționată evită încălzirea la temperaturi de peste 100°C.

Principiu: În medii care permit germinarea sporilor, încălzirile repetate omoară atât formele vegetative existente inițial, cât și pe cele germinate din spori în intervalele dintre încălziri.

Indicații: Sterilizarea unor medii de cultură, a alimentelor.

Necesar: Autoclava pentru tyndallizare la 100°C, în vapori fluenți (autoclavare cu robinetul pentru vapori deschis), baie de apă sau de nisip pentru tyndallizări sub 100°C.

Procedura: Substanțele de sterilizat, în volume mai mici de un litru, se mențin 30—60 minute, 3—8 zile consecutiv, la temperatura impusă de compoziția lor. În intervalele dintre încălziri recipientele cu substanțele supuse sterilizării se mențin la temperatura camerei pentru germinarea sporilor.

2.1.3. Filtrarea

Filtrarea este trecerea unui fluid printr-un corp poros — filtru. Filtrele cu porozități convenabile pot debarasa de microorganisme fluidul filtrat, acestea fiind reținute mecanic și electrostatic în porii filtrului. Metoda este indicată pentru sterilizarea aerului, a unor medii de cultură pentru microbi, a medicamentelor care nu suportă încălziri. Filtrele clasice, din porțelan sau pământ de infuzorii, cu forma unor lumânări goale pe dinăuntru și închise la un capăt (bujii filtrante), plăcile filtrante din azbest impregnat cu caolin (filtre Seitz) sau sticlă poroasă (filtre Schott), sunt astăzi înlocuite prin membrane filtrante din acetat de celuloză cu porozități între 8 și 0,025 μm . O membrană cu porozitatea de 0,22 μm reține toate bacteriile. Filtrarea se face prin aspirație (figura 2.4) sau prin presiune pozitivă (e. g. membrana filtrantă adaptată la o seringă). Pentru a evita colmatarea porilor, suspensiile cu mare densitate a particulelor sunt prefiltrate printr-un material fibros sau granular.

2.1.4. Sterilizarea chimică

Pentru sterilizarea chimică se folosesc gaze. Mai cunoscut este *oxidul de etilen*, un gaz incolor, cu miros ușor eterat (detectabil la concentrații de 700 ppm), ușor solubil în apă și inflamabil (pericol de explozie la concentrații mai mari de 3% în spații închise). Toxicitatea este moderată: după inhalare acută apar greață, vărsături, dezorientare mentală (concentrația maximă admisă în zona de lucru e de 50 ppm), iar soluțiile în contact cu tegumentul au efect vezicant (e. g. după vărsare pe lenjerie).

Indicații: Sterilizarea echipamentului de plastic termosensibil se efectuează în laboratoarele de microbiologie. Mai larg folosit este însă în serviciile de endoscopie (sterilizarea cateterelor și componentelor termosensibile ale endoscoapelor), de chirurgie sau de stomatologie.

Se utilizează în amestec cu 15% CO₂ (pentru a preveni explozii). În incinte etanșe, la 55—60°C și 40% umiditate relativă, în concentrație de 450—800 mg/l oxidul de etilen asigură sterilizarea în interval de 2,5—3 ore. Penetrarea în porozități este slabă.

Alt gaz utilizat pentru sterilizări este β -propiolactona. Formaldehida, deși are bune efecte sporocide, fiind iritantă, se utilizează mai mult ca dezinfectant (vezi mai jos).

2.1.5. Controlul eficienței sterilizării

Se face prin indicatori fizici (manometru, termometru), chimici (tabelul 2.2) și biologici. *Indicatorii fizici și chimici* nu dau indicații asupra timpului cât s-a menținut temperatura. *Indicatorii biologici*, tuburi cu fire de bumbac impregnate cu spori bacterieni

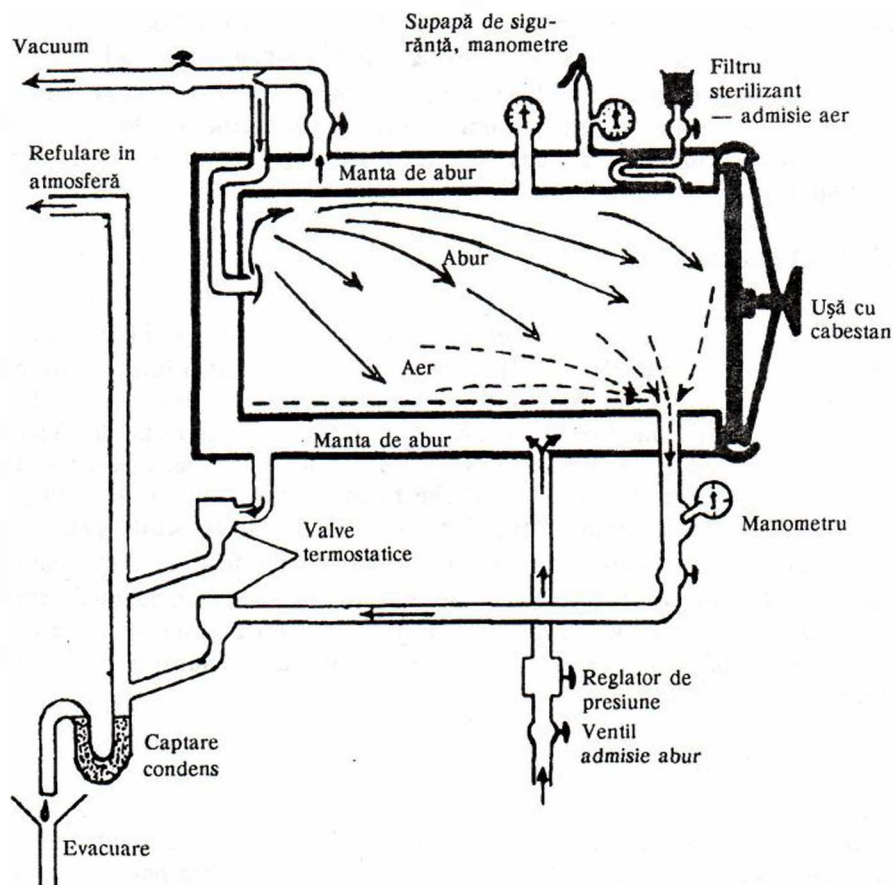


Fig 2.4. Autoclava orizontală cu manta de abur și evacuare gravitațională a aerului, secțiune schematică

și uscate, au o mare fidelitate. După sterilizare se testează viabilitatea sporilor prin însămânțarea lor în medii de cultură adecvate.

Tuburi cu indicatori chimici sau biologici se plasează la diferite niveluri ale incintei de sterilizare, în centrul ambalajului. Uzual sterilizarea fiecărui lot de materiale se testează prin indicatori fizici și chimici, iar săptămânal aparatele sunt verificate prin indicatori biologici.

Tabelul 2.2. Indicatori chimici pentru sterilizarea prin căldură

Pentru autoclavă		Pentru etuvă	
substanță	punct de fuziune	substanță	punct de fuziune
Floare de sulf	115°C	Tiouree	180°C
Acid benzoic	121—122°C	Sulfametoxipiridazină	180—182°C
Fenacetină	134°C		
1,3,5-Tribromfenol	120°C		

2.1.6. Prezervarea sterilității materialelor

Se face diferențiat în funcție de natura materialului și metoda de sterilizare.

Eprubetele și flacoanele se sterilizează prevăzute cu dopuri de vată și tifon, protejate cu capșon de hârtie sau foiță de aluminiu. Foarte eficientă este protejarea prin capac înșurubat.

Tuburile pentru pipete Pasteur se sterilizează cu extremitățile infundate cu filtru de vată. Pipetele gradate se sterilizează prevăzute cu filtru de vată, învelite individual în benzi de hârtie pergament sau grupate în cutii din tablă de aluminiu prevăzute cu capac și amortizor din vată de sticlă pentru protecția vârfurilor.

Plăcile Petri se sterilizează învelite, individual sau grupate, în hârtie pergament. Mojarile și pistilele se învelesc separat în hârtie.

Umezirea ambalajelor de hârtie, a dopurilor și filtrelor din vată compromite sterilitatea. Sporii fungici omniprezenți în pulberile de contaminare a dopurilor și ambalajelor germinează în condiții de umezeală, iar hifele lor se dezvoltă în profunzime, pătrund și eliberează spori care contaminează conținutul.

Instrumentele chirurgicale se sterilizează la etuvă în cutii metalice speciale.

Inventarul chirurgical din bumbac se sterilizează la autoclavă în caselete (cutii cilindrice din tablă prevăzute cu capac și orificii prin care pătrund vaporii de apă în cursul autoclavării și care se obturează la scoaterea din autoclavă).

Seringile cu armătură metalică (Record, Luer) se sterilizează la autoclavă cu manta de abur, demontate, fiecare seringă alături de pistonul ei și 1—2 ace în cutie proprie pentru a evita schimbarea pistoanelor între seringi. Seringile Luer din sticlă se sterilizează la etuvă cu acul montat și introduse într-un tub de sticlă astupat cu dop de vată. Este o greșeală sterilizarea seringilor Luer din sticlă la autoclavă: uleiul cu care este gresat pistonul pentru etanșizarea seringii nu permite udarea suprafeței și face inefficientă sterilizarea.

2.2. DEZINFECȚIA

Pentru dezinfecție în laboratorul de microbiologie se utilizează în principal agenți chimici, substanțe cu efect antimicrobian nespecific. Asemenea substanțe le numim *dezinfecțante*, dacă din cauza efectelor iritante sau toxice le putem aplica numai pe suprafețe inerte, sau *antiseptice*, dacă toxicitatea mai redusă permite aplicarea lor pe tegument, unele mucoase sau plăgi. Uneori, aceeași substanță (e. g. cloramina B) în soluții diluate este antiseptic, iar în soluții mai concentrate dezinfecțant.

Agenții chimici de dezinfecție diferă prin eficiență antimicrobiană, activitatea în prezența substanțelor organice și toxicitate. Cele mai sensibile la substanțele dezinfecțante sunt organismele în formă vegetativă (bacterii, fungi, protozoare) și virusurile cu înveliș lipidic; relativ rezistente sunt micobacteriile și virusurile nude, sporii fiind foarte rezistenți (tabelul 2.3).

2.2.1. Precauții privind siguranța dezinfecției chimice

■ *Necesitatea diferențierii «curat» de «murdar».* Prezența substanțelor organice reduce eficiența antimicrobiană a dezinfecțantelor. De aceea în regimul lor de utilizare diferențiem condiția «curat» de «murdar». Prin «curat» înțelegem lipsa substanțelor or-

Tabelul 2.3. Proprietățile unor substanțe dezinfectante uzuale (după C. H. Collins, 1988)

Substanță	Active contra				
	Fungi	Bacterii		Micobacterii	Spori
		G+	G—		
Fenoli	+++	+++	+++	++	—
Hipocloriji	+	+++	+++	++	++
Alcooli	—	+++	+++	+++	+++
Formaldehidă	+++	+++	+++	+++	+++ ¹
Glutaraldehidă	+++	+++	+++	++	+++ ²
Iodofori	+++	+++	+++	++	+
Compuși de amoniu quaternar	+	+++	++	—	—

¹ Peste 40°C +++ = bun NP = neprecizat
Peste 20°C ++ = mediu G = gram
 + = slab C = cationic
 — = deloc A = anionic

ganice, care poate fi realizată prin spălarea suprafețelor cu apă și săpun sau detergenți. Prin «murdar» înțelegem prezența substanțelor organice (e. g. lenjerie murdară, suprafețe contaminate cu sânge, excreții, produse patologice, culturi microbiene). Frecvent nu putem realiza spălarea înainte de dezinfecție. Ca atare pentru dezinfecție vom utiliza soluții antimicrobiene mai concentrate în circumstanța «murdar» decât în circumstanța «curat».

Din aceleași rațiuni, nu se introduc mâinile în soluția antiseptică, ci se toarnă soluția antiseptică peste mâini.

■ *Necesitatea penetrării agentului dezinfectant în anfractuozitățile și porii echipamentului contaminat impune o bună etalare și dispersie a echipamentului expus la agenții în formă gazoasă (e. g. formaldehidă), scufundarea completă cu îndepărtarea bulelor de aer în soluțiile dezinfectante.*

■ *Necesitatea testelor de eficiență a dezinfectantelor. Testări efectuate de producători și de laboratoare de referință atestă capacitatea antimicrobiană a dezinfectantelor și stabilitatea soluțiilor.*

Coeficientul fenolic arată cu cât este mai activ un compus fenolic în comparație cu fenolul pur. Testul Rideal-Walker determină coeficientul fenolic cu substanțe pure, iar testul Chick-Martin îl determină în prezența de substanță organică. Coeficientul fenolic se exprimă printr-o cifră urmată de inițialele R.M. sau C.M., care precizează condițiile de testare. Substanțele cu coeficienți fenolici mai mari au efect antimicrobian mai mare. Coeficientul fenolic C.M. este mai mic decât cel R.M. din cauza testării în prezența de substanță organică.

Testul de capacitate Kelsey-Sykes este mai adecvat diversității actuale a substanțelor dezinfectante. Testul reproduce circumstanțele de utilizare «curat» și «murdar» prin adă-

Tabelul 2.3 (continuare)

Inactivate de				Toxicitate		
proteine	alte substanțe organice	apă dură	detergenți	piele	ochi	pulmoni
+	+	+	C	+	+	-
+++	+	+	C	+	+	+
+++ ¹	+	+	+	-	+	+
+	+	+	-	+	+	+
NP	+	+	-	+	+	+
+++	+	+	A	+	+	-
+++	+++	+++	A	+	+	-

ugarea de substanță organică la diluțiile testate. Testul Kelsey-Sykes precizează concentrațiile de dezinfectant indicat pentru situațiile «curat» și «murdar». Amănunțele privind testarea depășesc scopurile acestui capitol. Cei interesați pot consulta lucrările de referință ca: Kelsey, J. C., Maurer, I. M.: *An improved Kelsey-Sykes test for desinfectants. Pharmaceutical Journal*, 1974, 213:528—536.

Testarea dezinfectantelor în condițiile de utilizare revine fiecărui laborator și se impune ca test periodic.

Principiu: Prezența unui număr redus de microorganisme viabile în soluția unui dezinfectant este posibilă, depășirea unei anumite limite indică însă deficiențe în prepararea, manipularea sau conservarea soluției.

Necesar:

- pipete gradate de 1 ml sterile,
- flacoane de 25 ml sterile cu capac înșurubat,
- diluent neutralizant (tabelul 2.4),
- pipete Pasteur care picură 50 picături/ml,
- plăci cu agar nutritiv.

Procedura:

1. Se prelevă aseptice 1 ml soluție dezinfectantă din fiecare borcan sau găleată folosind pipete separate.

Prelevările se fac din containerele cu soluții stock diluate pentru utilizare, borcanele și containerele pentru echipament contaminat (pipete, lame de microscop, instrumente etc.), gălețile cu cârpa sau peria pentru podele etc.

2. Se transvazează fiecare probă de 1 ml soluție dezinfectantă în câte un recipient

cu 9 ml diluent neutralizant, marcat pentru identificarea probei, și se omogenizează.

3. În intervalul de cel mult o oră după omogenizarea probelor de dezinfectant, se

Tabelul 2.4. Diluenții neutralizați pentru testarea dezinfectantelor în condiții de utilizare (după C.H. Collins și colab., 1989)

Diluent	Grup de substanțe dezinfectante
Bulion nutritiv	Alcooli Aldehide Hipocloriți Fenoli
Bulion nutritiv + + Tween 80 soluție 3% w/v	Hipocloriți + detergenți, Iodofori Fenoli + detergenți Compuși de amoniu quaternar

prelevă cu pipete Pasteur separate un mic volum din fiecare amestec dezinfectant — diluent neutralizat și se însămânțează în spoturi separate, câte 10 picături pe suprafața bine uscată a două plăci cu agar nutritiv.

4. Se incubează cele două plăci astfel:

■ Una timp de 3 zile la 32 sau 37°C. Bacteriile patogene cultivă optim la 37°C, dar celor afectate de dezinfectant le poate fi mai convenabilă temperatura de 32°C.

■ A doua timp de 7 zile la temperatura camerei pentru cultivarea bacteriilor saprofite și a fungilor.

5. Se numără coloniile dezvoltate pe spoturile de însămânțare.

Interpretare:

$$\frac{\text{Numărul microorganismelor/ml}}{\text{soluție dezinfectantă}} = \frac{N \times D}{\text{volumul însămânțat}}$$

unde:

N — număr de colonii;

D — factorul de diluție (inversul diluției);

volumul însămânțat = 10 picături × 0,02 ml = 0,2 ml.

Deci dacă am numărat 6 colonii, în soluția dezinfectantă verificată au fost: $\frac{6 \times 10}{0,2} = 300$ microorganisme viabile/ml. Peste 250 microorganisme viabile/ml indică o soluție dezinfectantă ineficient.

Protecția personalului. Multe dezinfectante sunt iritante pentru ochi, căile respiratorii, pielea. La manipularea substanțelor stock pentru prepararea soluțiilor operatorul va purta, după caz, mănuși și ochelari de protecție (vezi 2.2.2.).

2.2.2. Dezinfectante uzuale în laboratoarele de microbiologie

Hipocloriți. Sunt comercializați ca soluții pentru uz industrial sau în laboratoare (100 000 ppm clor activ), sau pentru uz casnic (10 000 sau 50 000 ppm clor activ). Pentru uz casnic sunt de asemenea livrați hipocloriți în formă solidă, tabletată. Toate aceste

preparate pot fi utilizate în laborator dacă se ține cont de concentrația în clor activ. Au efect germicid asupra unei game largi de microorganisme: bacterii în formă vegetativă (inclusiv micobacterii), fungi, spori, virusuri. Activitatea antimicrobiană scade mult în prezența proteinelor, altor substanțe organice și maselor plastice. Detergenții îi inactivează.

Indicații: Dezinfecția suprafețelor, borcanelor pentru pipete și echipamentului mic contaminate

Circumstanța	Concentrația indicată a soluției dezinfectante, ppm clor activ
Suprafețe relativ curate	1 000
Borcane pentru pipete contaminate	2 500
Suprafețe contaminate cu sânge	10 000

Soluțiile rămân active 24 ore.

Contraindicații: Corodează metalele. Nu se aplică pe suprafețele metalice ale centrifugilor și aparaturii supuse la solicitări mecanice.

Precauții: Efecte iritante, în funcție de concentrație, asupra pielii, ochilor, căilor respiratorii.

Derivații fenolici. Efectul germicid se limitează la bacterii în formă vegetativă (inclusiv micobacterii) și fungi, nu este afectat de proteine, dar eficiența scade pe suprafețele de cauciuc, lemn sau material plastic. Sunt ineficienți asupra sporilor și virusurilor nede.

Indicații: Dezinfecția suprafețelor, borcanelor pentru pipete și echipamentului mic contaminat. Soluțiile 1% sunt indicate pentru circumstanțe «curate», cele 2—5% pentru circumstanțe «murdare». Soluțiile se schimbă la 24 ore.

Precauții: Efect iritant posibil asupra ochilor și pielii.

Formaldehida este un gaz foarte iritant, stabil numai la temperaturi peste 80°C; la temperatura camerei polimerizează repede și formează pe suprafețe un depozit alb. Se comercializează sub două forme:

- paraformaldehida, polimer solid, alb cu miros ușor înțepător din cauza degajării de formaldehidă;

- formolul, soluție apoasă de 37—40% formaldehidă stabilizată cu 8—15% metanol contra polimerizării la temperaturi mai joase.

Efectul germicid puternic se extinde asupra tuturor microorganismelor, fără a fi inactivat de proteine sau detergenți.

Forme de utilizare și indicații:

1. *Forma gazoasă* este indicată pentru dezinfecția suprafețelor, echipamentului și efectelor care nu pot fi udate (saloane de spital, saltele, perne, păături, haine groase, cărți, lână etc.), instrumentarului termosensibil. Principala indicație în laboratorul de microbiologie este dezinfecția periodică a incintelor de securitate microbiologică.

Are efect antimicrobian mai puternic la temperaturi peste 20°C și umiditatea mai mare de 60% (cea optimă fiind de 80—90%). Se obține prin încălzirea formolului (1 volum formol + două volume apă în fierbător electric) sau paraformaldehidei (pe reșou electric). Concentrații maxime de 2 g formaldehidă/m³ se obțin, la 20°C, dar suficientă pentru dezinfecție este concentrația de 0,05 g/m³. Pentru dezinfecția unei incinte de securitate (cca 0,3—0,4 m³) sunt suficienți 25 ml formol sau 3—4 g paraformaldehidă, iar pentru

incăperi 15 ml formol/m³ aer.

Penetrabilitatea formei gazoase este redusă, deci suprafețele supuse dezinfecției trebuie bine etalate. Formaldehida fiind foarte iritantă, incintele de dezinfecat vor fi închise etanș. Paraformaldehida depusă pe suprafețele dezinfectate emite timp îndelungat vapori iritanți, ceea ce impune fie aerisire prelungită, fie neutralizarea paraformaldehidei prin vapori de amoniac.

2. *Soluții* cu 4% formaldehidă (formol diluat de 1/10) sau mai concentrate, până la 10%, sunt indicate pentru dezinfecția suprafețelor sau culturilor. Soluțiile 0,04—1% sunt folosite pentru inactivarea suspensiilor bacteriene aglutinabile.

Glutaraldehida are *efect antimicrobian* foarte bun (inclusiv asupra virusurilor hepatitelor B și C), neinfluențat de proteine. Se utilizează în concentrații de 2% activată în soluție alcalină (tamponată cu bicarbonat de sodiu la pH 7,5—8,5). Este *indicată* pentru dezinfecția suprafețelor metalice pe care nu le corodează. Deși este mai puțin iritantă decât formaldehida, contactul cu pielea și conjunctiva trebuie prevenit.

Detergenții cationici sunt compuși de amoniu quaternar activi asupra bacteriilor (mai ales grampozitive), mai puțin asupra fungilor și inactivi asupra micobacteriilor și sporilor. Sunt inactivați de proteine, alte substanțe organice, mase plastice, detergenți anionici și săpunuri. Soluțiile apoase de 1—2% sunt larg utilizate pentru spălarea (agenți tensioactivi de udare și spumanți) și dezinfecția suprafețelor. Nu corodează metalele, nu sunt toxici, nici iritanți.

Alcoolii utilizați pentru dezinfecție sunt etanolul și propanolul în soluții apoase de 70—80%. Au efect antimicrobian relativ lent și sunt ineficienți asupra fungilor și sporilor. Nu sunt inactivați de proteine sau detergenți, iar activitatea antimicrobiană crește mult prin asociere cu hipocloriți (la concentrație finală de 2 000 ppm clor activ) sau cu formol (10% formol în alcool de 70%).

Sunt utilizați ca atare, mai bine în amestec cu hipocloriți sau formol, pentru dezinfecția suprafețelor și pentru echilibrarea cupelor de centrifugă. Alcoolii sunt iritanți pentru conjunctivă, dar nu afectează pielea normală.

Iodoforii (*iodo* = iod; *phor* = purtător, purtător de iod) sunt detergenți neionici din clasa propilenglicolilor, care complexează iodul și, în soluții apoase, îl eliberează lent cu efecte germicide asupra bacteriilor (inclusiv micobacteriile), fungilor, sporilor și virusurilor cu înveliș lipidic sau nude. Sunt însă inactivați de proteine și alte substanțe organice, mase plastice și detergenți anionici. În soluții apoase cu 75—150 ppm iod pot fi utilizați, în borcanele pentru pipete și echipament contaminat, pentru dezinfecția suprafețelor, iar soluțiile în 50% alcool cu 1.600 ppm iod au efecte sporocide și sunt utilizate pentru antiseptizarea mâinilor. Petele lăsate de iodofori pe piele și suprafețe sunt ușor îndepărtate cu o soluție de tiosulfat de sodiu.

La manipularea iodoforilor trebuie evitat contactul cu conjunctiva.

2.3. DECONTAMINAREA ȘI CIRCUITUL MATERIALELOR ÎN LABORATORUL DE MICROBIOLOGIE

Este interzis ca materiale contaminate să părăsească laboratorul sau să pătrundă în ariile cu activitate «curată» din laborator.

Prima barieră de apărare antiinfecțioasă care se aplică este dezinfecția echipamentului contaminat de la masa de lucru, cât mai curând completată prin autoclavare sau incinerare finală. Culturile bacteriene nu trec prin dezinfecție, barieră cu eficiență greu de controlat în această condiție, ci trec direct la autoclavare.

2.3.1. Colectarea materialelor contaminate

Gălețile cu capac pentru colectarea recipientelor cu culturi sau resturi de prelevate patologice, trebuie să fie lipsite de fisuri sau găuri pentru a evita scurgeri contaminante periculoase. Sigure sunt gălețile din tablă de cupru, din tablă emailată sau din plastic rezistent la autoclavare (polipropilenă). Nu trebuie să fie mai adânci de 25 cm, pentru a permite o bună penetrare a vaporilor de apă, cu diametrul corespunzător unei manipulări facile în autoclavă. Niciodată nu se vor umple până la refuz.

Pungi din plastic autoclavabil este de dorit să dubleze interiorul găleților. Trebuie să fie rezistente și manipulate atent, pentru a evita spargerea sau ruperea. Legate la gură cu sârmă, vor fi transportate în camera de sortare împreună cu găleata suport. Gălețile și pungile colectoare vor fi marcate distinct pentru materialul reutilizabil și pentru cel disponibil.

Borcanele cu soluție dezinfectantă stau pe masa de lucru pentru colectarea echipamentului mic contaminat și, separat, a pipetelor contaminate. Prea frecvent sunt alese și manipulate incorect.

Alegerea borcanelor. Cele din sticlă sunt casabile și, ca atare, periculoase. De dorit sunt recipiente rezistente din polipropilenă. Pentru *echipamentul mic* convin borcane de 1 litru cu capac înșurubat (permite în final înclinări repetate, pentru imersarea completă a articolelor supuse dezinfecției). Borcanele înalte permit imersarea completă a *pipetelor* fără riscul scurgerilor contaminante.

Umplerea cu soluție dezinfectantă. Borcanele pentru echipamentul mic vor fi marcate cu vopsea la nivelul de 750 ml. Cu o măsură se introduce în borcan dezinfectant în cantitate suficientă să asigure concentrația recomandată pentru «circumstanța murdar» după completarea volumului la 750 ml cu diluent.

La fel se procedează și cu borcanele pentru pipete, ținând cont de volumul lor. Adăugarea unui detergent compatibil cu dezinfectantul utilizat (vezi tabelul 2.3) ușurează spălarea finală a pipetelor.

Utilizarea corectă a soluțiilor dezinfectante:

1. Borcanul nu se supraîncăcă, pentru a evita scurgeri contaminante la mobilizare.
2. Nu se introduc obiecte care plutesc, decât dacă pot fi umplute și imersate complet sau dacă borcanul are capac și poate fi înclinat repetat.
3. Nu se introduc materiale cu conținut proteic mare, ci se colectează separat pentru autoclavare directă.
4. Nu se diluează dezinfectantul prin scurgeri de lichide. Pentru supernatantul din tuburile de centrifugă se folosește un borcan separat cu soluție mai concentrată de dezinfectare și prevăzut cu până pentru reținerea aerosolilor contaminanți.
5. Nu se lasă mai mult de 24 ore materialele în soluția dezinfectantă și nu se refolosește soluția, pentru că se pot selecta și înmulți bacterii de contaminare rezistente.
6. Soluțiile dezinfectante nefolosite 24 ore se aruncă.

2.3.2. Tratarea materialelor pentru reutilizare sau dezafectare

Barierile antiinfecțioase prin care trece materialul contaminat din laborator în vederea reutilizării sau dezafectării sunt marcate în figura 2.5. Incinerarea este admisă numai sub supravegherea laboratorului. Dezinfecția cu șuntarea autoclavării este admisă numai pentru pipetele gradate.

Circuitul materialelor contaminate de la mesele de lucru până la dezafectare sau

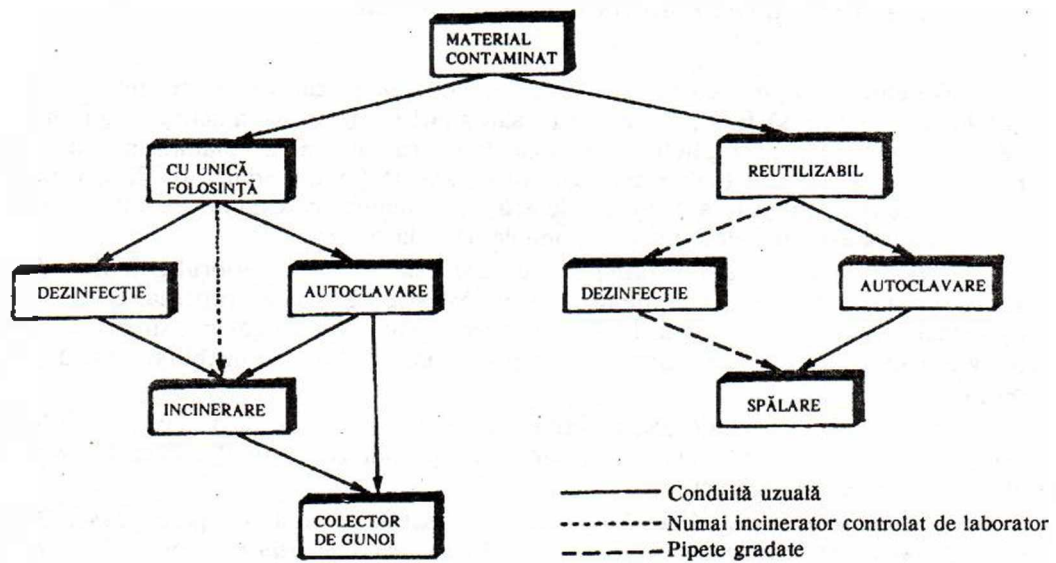


Fig 2.5. Barierele antiinfecțioase prin care trece materialul contaminat din laborator (după C.H. Collins, 1989)

reutilizare (figura 2.6) este organizat și supravegheat de șeful laboratorului, pentru a preveni încrucișări cu materialele decontaminate sau sterile și ieșirea din laborator a unor materiale contaminate.

La intrarea în sectorul de pregătire a materialului (vezi figura 1.1) se rezervă o masă pentru recepția containerelor cu materiale contaminate.

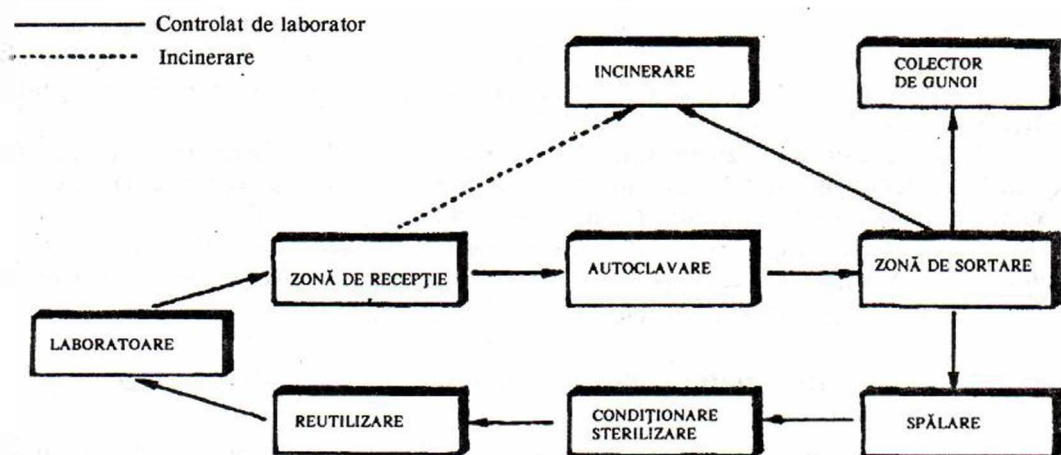


Fig. 2.6. Circuitul materialelor contaminate de la mesele de lucru până la dezafectare sau reutilizare (după C.H. Collins, 1989)

Autoclave separate sunt prevăzute pentru sterilizarea materialelor contaminate de aruncat și a materialelor reutilizabile. Gălețile se introduc în autoclavă fără capac, iar pungile dezlegate, deschise la gură și menținute în containerul lor. Dispunerea containerelor în incinta de sterilizare trebuie să asigure acces liber vaporilor de apă.

Sticlăria contaminată. După autoclavare mediul de cultură este scurs sau raclat din recipiente. Urmează spălarea mecanică sau manuală cu apă caldă și detergent. Pentru spălarea manuală este necesar un set de perii adaptate fiecărui tip de recipient (eprubete, baloane etc.), o chiuvetă adâncă (bac) cu două compartimente: unul pentru spălare, altul pentru clătire, și lighene din plastic pentru clătirea finală cu apă distilată sau deionizată.

Garniturile din cauciuc pentru etanșarea capacelor înșurubate vor fi scoase, spălate separat într-o strecurătoare și reasamblate după uscarea ambelor piese.

Sticlăria calcosodică nouă poate elibera alcali în cursul autoclavării, ceea ce alterează pH-ul conținutului. Poate fi neutralizată prin imersare câteva ore în soluție 2—3% de acid clorhidric. Pentru verificare, un eșantion din fiecare lot va fi umplut cu apă neutră plus câteva picături dintr-un indicator adecvat; pH-ul trebuie să rămână neschimbat după autoclavare. **Sticlăria din borosilicat** nu impune aceste precauții.

Materialele colectate în soluție dezinfectantă. După ce au fost menținute peste noapte imersate în soluția dezinfectantă, sunt manipulate în continuare cu mâna protejată cu mănușă de cauciuc.

Pipetele gradate sunt scoase din soluția dezinfectantă, dopul de vată este aspirat printr-un tub de cauciuc cu capcană conectat la trompa de apă sau este scos cu un cârlig fin și sunt introduse în dispozitivul de spălare prin apă sub presiune sau prin sifonări repetate.

Echipamentul mic este reținut într-o strecurătoare din polipropilenă după scurgerea borcanului în chiuveta conectată la o fosă septică. În aceeași chiuvetă se scurg și borcanele din care au fost scoase pipetele. Strecurătoarea cu conținutul ei este apoi plasată într-un container pentru autoclavare.

Borcanele colectoare, golițe de soluția dezinfectantă, sunt autoclavate pentru distrugerea contaminanților reziduali.

Incinerarea. Cât timp laboratoarele noastre nu dispun de incinerator special supravegheat de personal calificat corespunzător, este precaut a incinera numai materiale autoclavate, care nu sunt acceptate de serviciul de salubritate. Pentru a preveni poluări periculoase, este de dorit ca masele plastice să fie sub 20% din materialul incinerat.

2.4. CONSERVAREA

2.4.1. Conservarea prin agenți fizici

Pasteurizarea folosește acțiunea combinată a căldurii umede și frigului pentru conservarea lichidelor alimentare. În laboratorul de microbiologie nu are aplicații. Încălzirea lichidelor alimentare la temperaturi între 62° și 85°C (tabelul 2.5) distruge formele vegetative, dar nu omoară sporii și nici enterovirusurile. Refrigerarea imediată la 4°C completează, prin șoc termic, efectul microbiocid al căldurii și împiedică multiplicarea microorganismelor.

Tabelul 2.5. Tipuri de pasteurizare și aplicațiile lor

Tip de pasteurizare	Temperatură	Timp pentru		
		lapte	sucuri de fructe, vin	alte alimente
Inaltă	85°C	8—15 secunde	2 minute	—
Mijlocie	71—74°C	40—45 secunde		15 minute
Joasă	62—65°C	30 minute		30 minute

Refrigerarea la 4°C este larg folosită pentru conservarea alimentelor și a unor medicamente. La 4°C se conservă majoritatea prelevatelor patologice care nu pot fi examinate imediat și, pentru perioade de 3—6 luni, tulpinile de referință însăși înțate în coloană de agar nutritiv moale.

Congelarea este o excelentă metodă de conservare a alimentelor. Efectele congelării asupra microbilor sunt minime când se realizează brusc la temperaturi inferioare punctului eutectic (−21,3°C), care evită formarea cristalelor de gheață și hiperconcentrarea salină, nocive pentru structurile celulare și starea coloidală a proteinelor. Congelarea în azot lichid (−196°C) conservă indefinit proprietățile biologice ale microbilor, iar congelarea între −70°C și −80°C (amestec de alcool cu gheață carbonică) sau la −25°C (congelatoare de laborator) conservă câteva luni viabilitatea virusurilor și reactivitatea anticorpilor.

Desicarea este folosită în microbiologie pentru conservarea indefinită a tulpinilor unor bacterii sporulate și, pentru perioade limitate, a unor bacterii (langhete din hârtie de filtru impregnate cu suspensie microbiană și uscate). Numeroase alimente sunt conservate în stare desecată.

Liofilizarea este o excelentă metodă de conservare a microorganismelor, a serurilor imune și a unor reactivi biologici (e. g. alexina). În esență este o criodesicare: suspensia microbiană într-un mediu protector este congelată brusc în amestec de alcool cu gheață carbonică, uscată în vid și păstrată în fiole ermetic închise în atmosferă de gaz inert.

2.4.2. Conservarea chimică

Exemple de conservanți chimici cu utilizările lor apar în tabelul 2.6.

Tabelul 2.6. Domenii și modul de utilizare a unor prezervanți

Substanță	Domeniu de aplicare	Concentrație, %
Fenol	Seruri imune Vaccinuri	0,3—0,5
Mertiolat de sodiu	Seruri imune Preparate injectabile	0,004—0,02
Fenol + mertiolat	Seruri imune Colire	0,2 + 0,005 0,002 + 0,01
Benzoat de sodiu	Unguente Emulsii Alimente	0,2—1 0,2—1 0,1—1

2.5. ASEPSIA ÎN MICROBIOLOGIE

Asepsie înseamnă manipularea la adăpost de microorganisme.

Pentru o manipulare aseptică uzuală de material microbial se lucrează la adăpost de curenții de aer și se respectă următoarele exigențe (figura 2.7):

1. Se orânduiește pe masă echipamentul strict necesar.
2. Se așază comod pe scaun cu antebrațele complet pe blatul mesei și se fac toate mișcările sub controlul vederii.
3. Se ține ansa în mâna dreaptă, ca pe un creion, de extremitatea opusă firului.
4. Se ține în mâna stângă recipientul din care se prelevă sau în care urmează să se introducă materialul de manipulat, cât mai aproape de extremitatea inferioară, încât conținutul și traiectul ansei să rămână sub controlul vederii.
5. Se scoate dopul recipientului, cuprinzându-l între auricularul, inelarul și palma mâinii drepte. Se menține înclinat recipientul fără dop pentru a preveni depunerea de pulberi în interior. Similar, se evită expunerea orizontală a suprafeței plăcilor cu mediu agarizat.
6. Se sterilizează prin flambare gura recipientelor bușate cu vată.
7. Se introduce ansa în recipient pentru prelevarea sau depunerea materialului microbial. Se evită cu atenție atingerea cu ansa a gurii și pereților în zona superioară a recipientului.
8. Imediat după retragerea ansei, se flambează gura recipientului și se introduce dopul sau se înșurubează capacul.
9. Se resterilizează ansa.

Repartizarea aseptică a mediilor de cultură se face, ideal, în incinte sterile cu flux de aer laminar.

NOTĂ: Este interzisă utilizarea acestor incinte în scopul manipulării prelevatelor patologice și culturilor microbiene, deoarece fluxul de aer sterilizat este proiectat spre operator. În lipsa unei incinte sterile cu aer laminar, pentru repartizarea aseptică a mediilor de cultură se pot folosi incintele de siguranță microbiologică de clasa II.

Descrierea manipulărilor aseptice în condiții maxime de exigență (incintele pentru condiționarea medicamentelor injectabile etc.) depășește obiectivele acestui manual.

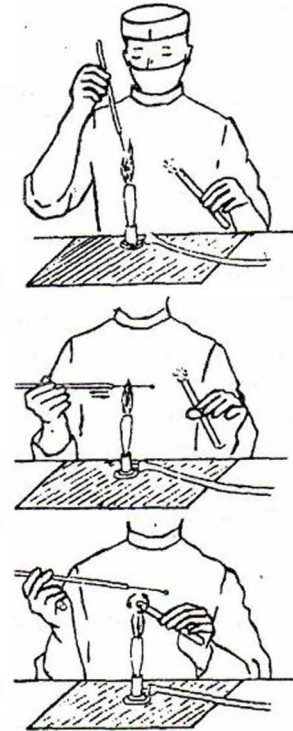


Fig 2.7. Etapele succesive ale unei manipulări aseptice de material microbial