

EXPERIMENTACIÓ EN MICROBIOLOGIA: GUIA DE PRÀCTIQUES EN L'ÀMBIT DE L'ALIMENTACIÓ

Núria Piqué Clusella (coord.)
Mercedes Berlanga Herranz
Elena de Mendoza Barberà
Xavier Fernández Cassi
María Jesús Montes López
Pere Picart Faiget

Departament de Biologia, Sanitat i Medi Ambient



EXPERIMENTACIÓ EN MICROBIOLOGIA: GUIA DE PRÀCTIQUES EN L'ÀMBIT DE L'ALIMENTACIÓ

Núria Piqué Clusella (coord.)
Mercedes Berlanga Herranz
Elena de Mendoza Barberà
Xavier Fernández Cassi
María Jesús Montes López
Pere Picart Faiget

Departament de Biologia, Sanitat i Medi Ambient

Berlanga Herranz, Mercedes, autor

Experimentació en microbiologia : guia de pràctiques
en l'àmbit de l'alimentació. — (Textos docents ; 446)

A la portada: Departament de Biologia, Sanitat
i Medi Ambient

ISBN 978-84-1050-040-2

I. Piqué i Clusella, Núria, editor literari

II. Universitat de Barcelona. Departament

de Biologia, Sanitat i Medi Ambient III. Títol

IV. Col·lecció: Textos docents (Universitat
de Barcelona) ; 446

1. Microbiologia 2. Manuals de laboratori

3. Bioseguretat 4. Educació superior

© Edicions de la Universitat de Barcelona

Adolf Florensa, s/n

08028 Barcelona

Tel.: 934 035 530

comercial.edicions@ub.edu

edicions@ub.edu



ISBN

DIPOBIT LEGAL

IMPRESSIÓ I RELLEIGAT

978-84-1050-040-2

B 12246-2024

Gráficas Rey

És rigorosament prohibida la reproducció total o parcial
d'aquesta obra. Cap part d'aquesta publicació, inclòs el
disseny de la coberta, no pot ser reproduïda, emmagat-
zemada, transmesa o utilitzada per cap mitjà o sistema,
sense l'autorització prèvia per escrit de l'editor.

Índex

INTRODUCCIÓ	9
ABREVIATURES	11
 1. ESQUEMA DE LES PRÀCTIQUES	13
 2. SEGURETAT AL LABORATORI DE MICROBIOLOGIA	15
2.1. FORMES D'EXPOSICIÓ ALS MICROORGANISMES	15
2.2. PRINCIPIS DE BIOSEGURETAT	15
2.2.1. Equips de seguretat	15
2.3. NIVELLS DE BIOSEGURETAT	17
2.3.1. Laboratori de bioseguretat 1 (LBS1)	17
2.4. ELEMENTS DE SEGURETAT	17
2.5. ELIMINACIÓ DE RESIDUS	17
2.6. DESCONTAMINACIÓ DE LA TAULA DE TREBALL	19
2.7. NORMES AL LABORATORI	20
2.7.1. Equips de protecció individual (norma 1/98 de la UB)	20
2.7.2. Normes de comportament al laboratori	20
 3. MÈTODES D'ESTERILITZACIÓ	23
3.1. ESTERILITZACIÓ PER MÈTODES FÍSICS	23
3.1.1. Tractaments tèrmics	23
3.1.2. Radiacions	25
3.1.3. Filtració	25
3.2. ESTERILITZACIÓ PER MÈTODES QUÍMICS	26
 4. MATERIAL I MEDIS DE CULTIU MICROBIANS	27
4.1. TIPUS DE MEDIS DE CULTIU	27
4.2. PREPARACIÓ DE MEDIS DE CULTIU	28
4.3. CONTROL DE MEDIS DE CULTIU	29
4.4. SOLUCIONS ISOTÒNIQUES	30
4.5. MEDIS SÒLIDS	31
4.5.1. Agar de triptona de soja	31
4.5.2. Agar MacConkey	31
4.5.3. Agar manitol hipersalí	32
4.5.4. Agar Man-Rogosa-Sharpe	33
4.5.5. Agar Sabouraud-cloramfenicol	34
4.6. MEDIS LÍQUIDS	34
 5. SEMBRA I AÏLLAMENT DE MICROORGANISMES	37
5.1. SEMBRA EN PLACA	38
5.1.1. Sembra en estria per esgotament	38
5.1.2. Sembra en superfície	40
5.1.3. Sembra en tres punts	41

5.1.4. Sembra en massa o profunditat	41
5.2. SEMBRA EN TUB EN MEDI SÒLID	42
5.2.1. Sembra per estria	42
5.2.2. Sembra per picadura	43
5.3. SEMBRA EN TUB EN MEDI LÍQUID	44
6. OBSERVACIÓ MICROSCÒPICA DE MICROORGANISMES	45
6.1. EL MICROSCOPI	45
6.1.1. Microscopi òptic de camp clar	45
6.1.2. Microscopi invertit	46
6.1.3. Microscopi de camp fosc	47
6.1.4. Microscopi de contrast de fases	47
6.1.5. Microscopi electrònic	48
6.2. EXAMEN MICROSCÒPIC DE BACTERIS SENSE TENYIR	48
6.3. EXAMEN MICROSCÒPIC DE BACTERIS TENYITS	49
6.3.1. Preparació del frotis bacterià	49
6.3.2. Tincions simples	51
6.3.3. Tincions diferencials	51
7. SEMBRA, AÏLLAMENT I OBSERVACIÓ DE FONGS FILAMENTOSOS	55
7.1. CARACTERÍSTIQUES DE LES FLORIDURES	55
7.2. SEMBRA I AÏLLAMENT DE FLORIDURES A PARTIR DE FORMATGE ROCAFORT	56
7.3. OBSERVACIÓ DE FLORIDURES AL MICROSCOPI ÒPTIC	57
8. SEMBRA, AÏLLAMENT I OBSERVACIÓ DE LLEVATS	59
8.1. CARACTERÍSTIQUES DELS LLEVATS	59
8.2. AÏLLAMENT DE LLEVATS	59
8.3. TINCIÓ I OBSERVACIÓ DE LLEVATS	60
9. RECOMPTE D'UNA SUSPENSIO BACTERIANA	63
10. SEMBRA, AÏLLAMENT I IDENTIFICACIÓ DE BACILS GRAMNEGATIUS	67
10.1. SEMBRA, AÏLLAMENT I OBSERVACIÓ	67
10.2. IDENTIFICACIÓ DEL BACIL GRAMNEGATIU	70
10.2.1. Prova de l'oxidasa	70
10.2.2. Prova de la catalasa	71
10.2.3. Prova del PGUA-indole	72
10.2.4. Prova de Kligler	73
11. AÏLLAMENT DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS A PARTIR DE MOSTRES NASALS	77
11.1. CREIXEMENT EN AGAR MANNITOL HIPERSALÍ	78
11.2. PROVES D'IDENTIFICACIÓ	78
11.2.1. Agrupació cel·lular	79
11.2.2. Prova de la catalasa	79
11.2.3. Prova de la DNasa	79
11.2.4. Prova de la coagulasa	80
12. CONTROL MICROBIOLÒGIC AMBIENTAL	83
12.1. CONTROL MICROBIOLÒGIC DE SUPERFÍCIES	83

12.2. CONTROL MICROBIOLÒGIC DE L'AIRE	84
12.2.1. Mètode de sedimentació	84
12.2.2. Collectors d'impacte	85
13. CORBA DE CREIXEMENT BACTERIÀ	87
14. AÏLLAMENT DE BACTERIS DE L'ÀCID LÀCTIC A PARTIR DE IOGURT NATURAL	91
15. COMPOSICIÓ DE MEDIS DE CULTIU, REACTIUS I COLORANTS	93

Introducció

Avui en dia, la microbiologia en l'àmbit de l'alimentació està prenent una gran rellevància per diferents motius: primer, per la preocupació creixent per aspectes de seguretat alimentària en l'era de la globalització i el canvi climàtic; segon, a causa d'un interès destacat pel desenvolupament d'aliments més saludables, amb l'ús de probiòtics i prebiòtics; tercer, pel desenvolupament de nous mètodes de destrucció microbiana en els aliments, que permeten disminuir-ne els processos de deteriorament i augmentar-ne la vida útil; quart, per l'ús de noves eines de detecció de microorganismes, que permeten caracteritzar els ecosistemes microbians presents en els aliments i els efectes de l'alimentació sobre la composició de la microbiota intestinal i, per tant, sobre els estats d'homeòstasi necessaris per preservar la salut i prevenir malalties.

En aquest sentit, a més de les classes teòriques, la docència pràctica és una eina imprescindible per a l'aprenentatge de la microbiologia en l'àmbit de l'alimentació, en què l'estudiant novell sol entrar en contacte amb aquesta matèria per primera vegada. Per aquest motiu és necessari que les pràctiques de microbiologia en l'àmbit de l'alimentació permetin a l'alumnat aprendre les tècniques microbiològiques bàsiques (com l'aïllament i l'observació de microorganismes i el treball en condicions asèptiques) i adonar-se de la importància que tenen els microorganismes en els aliments. Per això, en aquest text docent s'han inclòs procediments en què s'aïllen els microorganismes directament dels aliments, com ara les floridures a partir de formatge rocafort, bacteris a partir de l'àcid làctic i llevats a partir de fermentats làctics com el iogurt i el quefir. També s'han inclòs procediments usats de manera habitual en el control de qualitat microbiològic dels aliments, com el recompte, l'aïllament i la identificació de patògens que solen estar presents en aliments, com *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus*. Un altre aspecte molt important en aquest àmbit és el control microbiològic ambiental de superfícies i de l'aire de les sales perquè els estudiants entenguin la importància dels procediments d'higiene durant la fabricació i conservació dels aliments. Per acabar, s'ha inclòs un estudi del creixement bacterià i de la influència de factors que habitualment afecten els aliments, com la temperatura o la concentració de conservants, o el clorur sòdic.

Aquest llibre inclou els procediments bàsics de microbiologia que haurien de dotar l'estudiant de les competències per exercir adequadament la professió, tant de Ciència i Tecnologia dels Aliments (CTA) com de Nutrició Humana i Dietètica (NHID), considerant la rellevància dels microorganismes en tots els àmbits.

Les classes pràctiques de microbiologia tenen lloc al llarg de cinc dies consecutius (3 hores per dia). La realització en dies consecutius és imprescindible en microbiologia, ja que el treball amb microorganismes comporta períodes d'incubació ineludibles que fan que els resultats finals s'obtinguin uns quants dies després de començar les anàlisis.

El quadern de pràctiques s'ha estructurat en quinze capítols: 1) esquema de les pràctiques; 2) seguretat en el laboratori de microbiologia; 3) mètodes d'esterilització; 4) medis de cultiu microbians; 5) procediments de sembra i aïllament de microorganismes; 6) tècniques per a l'observació microscòpica de microorganismes; 7) procediments de sembra, aïllament i observació de fongs filamentosos en aliments; 8) sembra, aïllament i observació de llevats; 9) recompte d'una suspensió bacteriana; 10) sembra, aïllament i identificació de bacils gramnegatius; 11) aïllament de *Staphylococcus aureus* a partir de mostres nasals; 12) control microbiològic ambiental; 13) corba de creixement bacterià; 14) aïllament de bacteris de l'àcid làctic a partir de iogurt natural i 15) composició de medis de cultiu, reactius i colorants. El llibre conté imatges reals de

laboratoris de microbiologia, incloent-hi equips com els autoclaus, medis de cultiu i reactius, contenidors per a l'eliminació de residus (com els Chemo-box), taules de treball, etc. En definitiva, s'ha preparat un quadern de laboratori amb tota la informació que necessita l'estudiant per desenvolupar correctament l'experimentació en el camp de la microbiologia en l'àmbit de l'alimentació.

Abreviatures

BAL	bacteri de l'àcid làctic
BHI	infusió de cervell i cor (<i>brain heart infusion</i>)
DNasa	desoxiribonucleasa
EPI	equip de protecció individual
EPS	exopolisacàrid
IAL	infecció associada al laboratori
KIA	agar ferro de Kligler (<i>Kligler iron agar</i>)
LBS	laboratori de bioseguretat
MRS	Man-Rogosa-Sharpe
MSA	agar mannitol hipersalí (<i>mannitol salt agar</i>)
PGUA	àcid p-nitrofenil- β -D-glucopiranosidurònic (<i>p-nitrophenyl-β-D-glucopyranosiduronic acid</i>)
PVC	clorur de polivinil (<i>polyvinyl chloride</i>)
q. s. p. a	quantitat suficient per a
RODAC	recompte directe en agar d'organismes (<i>replicate organisms direct agar count</i>)
SDA	agar dextrosa Sabouraud (<i>Sabouraud dextrose agar</i>)
TSA	agar de triptona de soja (<i>tryptic soy agar</i>)
TSB	brou de triptona de soja (<i>tryptic soy broth</i>)
UFC	unitats formadores de colònies
ULD-UB	Unitat de Laboratoris Docents de la UB

1. ESQUEMA DE LES PRÀCTIQUES

Pràctiques de 5 dies (grau en Ciència i Tecnologia dels Aliments)

	Dilluns	Dimarts	Dimecres	Dijous	Divendres
Seguretat	Descontaminació de la taula de treball. Rentada de mans	Descontaminació de la taula de treball. Rentada de mans	Descontaminació de la taula de treball. Rentada de mans	Descontaminació de la taula de treball. Rentada de mans	Descontaminació de la taula de treball. Rentada de mans
Recompte	Recompte en TSA (×4), 37 °C, 24 h	Recompte, càlcul d'UFC/mL			
Aïllament i identificació de bacils gramnegatius	Sembra per esgotament: TSA (×1) i agar de MacConkey (1×), 37 °C, 24 h	Morfologia colonial. Tinció de Gram. Cultiu axènic: TSA (×1), 37 °C, 24 h	Tinció de Gram. Cultiu axènic. Proves d'identificació: oxidasa, catalasa, PGUA-indole, Kligler, 37 °C, 24 h	Lectura de les proves d'identificació	
Portadors de <i>S. aureus</i>		Sembra en MSA (×1, dividir en 2), 37 °C, 48 h		Tinció de Gram. Catalasa. Sembra en DNasa i coagulasa	Lectura de la DNasa i la coagulasa
Ambiental	Aire, collector: TSA i SDA (×1/parella). RODAC: TSA (×1). Sedimentació: TSA (×1/taula)			Lectura de collector. Càlcul d'UFC/L × min. Lectura del RODAC. Càlcul d'UFC/cm ²	
Floridures de rocafort	SDA (×1), 30 °C, 48 h		Morfologia de les colònies. Tinció de blau lactofenol		
Llevats		SDA (×1) a partir de cultiu pur, 30 °C, 48 h			Tinció de blau de metilè
logurt, quefir		Agar MRS (×1), 37 °C, 48-72 h			Tinció de BAL
Corba de creixement			Cultiu d' <i>Escherichia coli</i> (×6)		
Examen					Examen

Pràctiques de 4 dies (grau en Nutrició Humana i Dietètica)

	Dilluns	Dimarts	Dimecres	Dijous
Seguretat	Descontaminació de la taula de treball. Rentada de mans	Descontaminació de la taula de treball. Rentada de mans	Descontaminació de la taula de treball. Rentada de mans	Descontaminació de la taula de treball. Rentada de mans
Recompte	Recompte en TSA (×4), 37 °C, 24 h	Recompte, càlcul d'UFC/mL		
Aïllament i identificació de bacils gramnegatius	Sembra per esgotament: TSA (×1) i agar de MacConkey (×1), 37 °C, 24 h	Morfologia colonial. Tinció de Gram. Cultiu axènic: TSA (×1), 37 °C, 24 h	Tinció de Gram. Cultiu axènic. Proves d'identificació: oxidasa, catalasa, PGUA-indole, Kligler, 37 °C, 24 h	Lectura de les proves d'identificació
Portadors de <i>S. aureus</i>	Sembra en MSA (×1, dividir en 2), 37 °C, 48 h		Tinció de Gram. Catalasa. Sembra en DNasa i coagulasa	Lectura de la DNasa i la coagulasa
Ambiental	Aire, col·lector: TSA i SDA (×1/parella). RODAC: TSA (×1). Sedimentació: TSA (×1/taula)			Lectura del col·lector. Càlcul d'UFC/L × min. Lectura de RODAC. Càlcul d'UFC/cm ²
Floridures de rocafort	SDA (×1), 30 °C, 48 h		Morfologia de les colònies. Tinció de blau lactofenol	
Llevats	SDA (×1) a partir de cultiu pur, 30 °C, 48 h			Tinció de blau de metilè
logurt, quefir		Agar MRS (×1), 37 °C, 48-72 h		Tinció de BAL
Examen				Examen

2. SEGURETAT AL LABORATORI DE MICROBIOLOGIA

Treballar en un laboratori de microbiologia genera uns riscos físics, químics i sobretot biològics com a conseqüència del fet d'estar en contacte amb microorganismes. L'objectiu d'aquest capítol és conèixer els riscos que comporta la feina en un laboratori de microbiologia i aprendre a treballar-hi de manera segura. Una de les conseqüències desafortunades de treballar amb material infecciós és la possibilitat d'adquirir una infecció associada al laboratori (IAL). La història ens demostra que les persones que treballen en un laboratori amb material d'origen biològic tenen un risc més elevat de contraure'n que la població general.

En aquestes pràctiques, els microorganismes que es fan servir no produeixen infeccions en persones adultes sanes i la seva manipulació té la finalitat d'aprendre les tècniques microbiològiques bàsiques.

2.1. Formes d'exposició als microorganismes

En un laboratori de microbiologia hi ha quatre maneres d'entrar en contacte amb els microorganismes. Una de les rutes més freqüents d'exposició és la inoculació percutània (agulles, xeringues, talls o abrasions amb material contaminat). La inhalació d'aerosols generats per accidents o per la manera de treballar també és freqüent, i és especialment important perquè moltes vegades passa desapercebuda. Una altra manera d'adquirir una infecció és per contacte del material contaminat (mans, superfícies, etc.) amb les membranes mucoses (ulls, nas, boca, etc.). La infecció també es pot produir per ingesta, com a conseqüència de treballar de manera incorrecta, i per posar-se objectes contaminats a la boca (llapis, dits, etc.). Finalment, també es poden adquirir infeccions a la pell per contacte directe amb els microorganismes o per la contaminació d'objectes quotidians com el mòbil.

2.2. Principis de bioseguretat

La bioseguretat és el procés que inclou els principis, les tècniques i les pràctiques de contenció que es duen a terme al laboratori per evitar l'exposició involuntària al material biològic o el seu alliberament accidental, a fi de reduir al màxim el risc biològic.

El terme contenció s'utilitza per descriure els mètodes segurs que cal fer servir per manipular agents infecciosos al laboratori durant el treball diari. El propòsit de la contenció és reduir o eliminar l'exposició dels treballadors i de les persones que es troben a l'exterior, als agents potencialment perillosos.

2.2.1. Equips de seguretat

Els equips de protecció es classifiquen en barreres primàries i barreres secundàries. Les barreres primàries permeten separar el microorganisme de la persona que el manipula i inclouen les cabines de seguretat biològica i els equips de protecció individual (EPI), com ara guants, bates, ulleres de seguretat o mascaretes.

Les barreres secundàries impedeixen que els microorganismes puguin passar a l'exterior del laboratori i fan referència principalment al disseny de l'edifici. El disseny de l'edifici és important, per tant, per protegir tant les persones que hi treballen com les que es troben a l'exterior, ja que evita que els agents infecciosos es vessin de manera accidental fora del laboratori. Les barreres secundàries recomanades depenen del risc de transmissió dels agents específics. A mesura que s'incrementen el risc de transmissió per aerosols i la gravetat de la malaltia que pot produir el possible microorganisme, és necessari intensificar les barreres primàries i també les secundàries per tal d'evitar que els agents infecciosos passin al medi ambient. Això inclou sistemes de ventilació especialitzada per assegurar el flux direccional de l'aire, sistemes de tractament de l'aire per descontaminar-lo o per eliminar els agents a la sortida de l'aire, accés controlat de la zona, pressió d'aire interna negativa i doble porta d'entrada. En alguns casos, el laboratori també ha d'estar en un edifici aïllat.

Les cabines de bioseguretat són els aparells que s'utilitzen més per conferir protecció (contenció) contra les esquitxades o els aerosols infecciosos generats per alguns procediments emprats en microbiologia. Hi ha tres tipus de cabines de seguretat: dins de les cabines de seguretat amb frontal obert, la classe I és una barrera primària que ofereix un bon nivell de protecció al personal del laboratori i a l'ambient quan les tècniques microbiològiques es fan bé; les cabines de la classe II (figura 2.1), a més a més, confereixen protecció a la mostra davant la contaminació externa; les cabines de la classe III són totalment hermètiques i donen el nivell de protecció més alt. Les cabines de seguretat biològica de les classes II i III presenten un flux d'aire vertical, que protegeix l'operari enfront del microorganisme. Les cabines de seguretat biològica de la classe I tenen un funcionament semblant al d'una campana de gasos: són una cabina que treballa a pressió negativa, de manera que tot l'aire que és extret per l'obertura frontal passa per un filtre HEPA (*high efficiency particulate air*). Ofereix cert grau de protecció al treballador, però no protegeix la mostra.



Figura 2.1. Cabines de seguretat biològica de classe II. Confereixen protecció a la mostra davant la contaminació externa i també inclouen un flux d'aire vertical que protegeix l'operari enfront del microorganisme.

2.3. Nivells de bioseguretat

Hi ha quatre nivells de bioseguretat establerts, que s'aconsegueixen modificant les tècniques i les pràctiques de laboratori, el tipus d'equipament que es fa servir i la infraestructura que posseeix el laboratori, segons la via de transmissió dels agents infecciosos amb els quals es treballa, la gravetat de la malaltia que produeixen i el fet d'haver-hi o no tractament i/o prevenció (taula 2.1).

Taula 2.1. Característiques dels nivells de bioseguretat. Hi ha quatre nivells de bioseguretat segons la via de transmissió dels agents infecciosos amb els quals es treballa, la gravetat de la malaltia que produeixen i el fet d'haver-hi o no tractament i/o prevenció.

LBS ₁	LBS ₂	LBS ₃	LBS ₄
Sense contenció.	Contenció.	Alt nivell de contenció.	Màxima contenció.
Microorganismes ben caracteritzats, que no produeixen malalties en els humans	Microorganismes de risc moderat, que poden produir malalties en els humans	Microorganismes que poden produir malalties greus. Perill de transmissió aèria	Microorganismes que produeixen malalties greus i per als quals no existeix ni profilaxi ni tractament eficaç

LBS: laboratori de bioseguretat.

2.3.1. Laboratori de bioseguretat 1 (LBS₁)

El laboratori de bioseguretat 1 és el tipus de laboratori adequat per a la docència a la universitat. S'hi treballa amb microorganismes ben caracteritzats, que no produeixen malalties en adults sans i que representen un risc mínim per al personal del laboratori i per a l'ambient. Aquest laboratori té els nivells bàsics de contenció necessaris per a les pràctiques microbiològiques bàsiques, i no s'hi recomanen barreres primàries o secundàries especials.

2.4. Elements de seguretat

El laboratori de microbiologia disposa d'elements de seguretat que cal identificar i saber on estan situats:

- Sortida d'emergència.
- Extintors i mantes contra incendis.
- Dutxa i rentaüls d'emergència.
- Farmaciola.
- Informació sobre el pla d'emergència.

2.5. Eliminació de residus

Abans d'eliminar qualsevol residu és necessari classificar-lo per dipositar-lo al contenidor adequat. Podeu consultar l'aplicació sobre els residus de la Unitat de Laboratoris Docents de la Universitat de Barcelona (ULD-UB) per conèixer com s'han d'eliminar els diferents residus: <https://apps.apple.com/es/app/residus-uld-ub/id1441300497>.

Els colorants utilitzats en les tincions s'han d'eliminar segons la classificació següent:

- Residus citotòxics: amb cristall violeta, verd de malaquita, blau de lactofenol.
- Residus halogenats: amb safranina.

El laboratori de microbiologia es caracteritza per generar residus biològics, és a dir, residus que poden contenir microorganismes vius i productes microbians, que es consideren residus sanitaris específics (grup III).

Els materials contaminats generats al laboratori s'han de descontaminar seguint el mètode adequat; per exemple, amb l'esterilització en autoclau.

Els materials que s'han de descontaminar fora del laboratori s'han de disposar als contenidors adequats per ser esterilitzats després, habitualment a l'autoclau (figura 2.2):

- Chemo-box: contenidors de plàstic dur de color groc per eliminar material tallant o punxant contaminat, com ara pipetes, xeringues, portaobjectes, cobreobjectes o tubs de vidre trencats. Són resistents i, un cop plens, es tanquen hermèticament i s'esterilitzen a l'autoclau.
- Bossa de residus biològics: s'hi dipositen tots els materials contaminats que no són punxants, com ara les plaques de medis de cultius sòlids o els tubs de plàstic contaminats, després d'haver fet la lectura o l'assaig corresponent, etc. Aquesta bossa es diposita en un contenidor de plàstic dur per ser esterilitzada a l'autoclau.
- El material de vidre contaminat, com tubs de vidre o erlenmeyers amb cultius líquids, també s'esterilitza a l'autoclau, prèviament rentat i col·locat als cistells metàl·lics adequats.

Qualsevol material que hagi entrat en contacte amb microorganismes ha de ser esterilitzat adequadament. No és permès emportar-se material o cultius del laboratori.