

LABORATORIO

Desde la antigüedad el hombre, por curiosidad o por afán investigador, ha querido conocer y separar los componentes de un líquido, un sólido, o un gas. En esta vitrina, dedicada al laboratorio, tenemos dos de los primeros métodos de separación: La centrifugación y la cromatografía en columna.

CENTRÍFUGAS DE LABORATORIO

Una centrifugadora (o centrífuga) es un aparato, que pone en rotación una muestra para separar, por sedimentación, los sólidos suspendidos en un líquido o para separar líquidos de diferentes densidades, por medio de la fuerza centrífuga, que se genera al girar rápidamente un tambor.

Uno de los usos más comunes de las centrífugas, en laboratorios clínicos, es la separación de componentes biológicos, tales como células sanguíneas, plasma y suero. Esto es importante para realizar análisis hematológicos y bioquímicos.

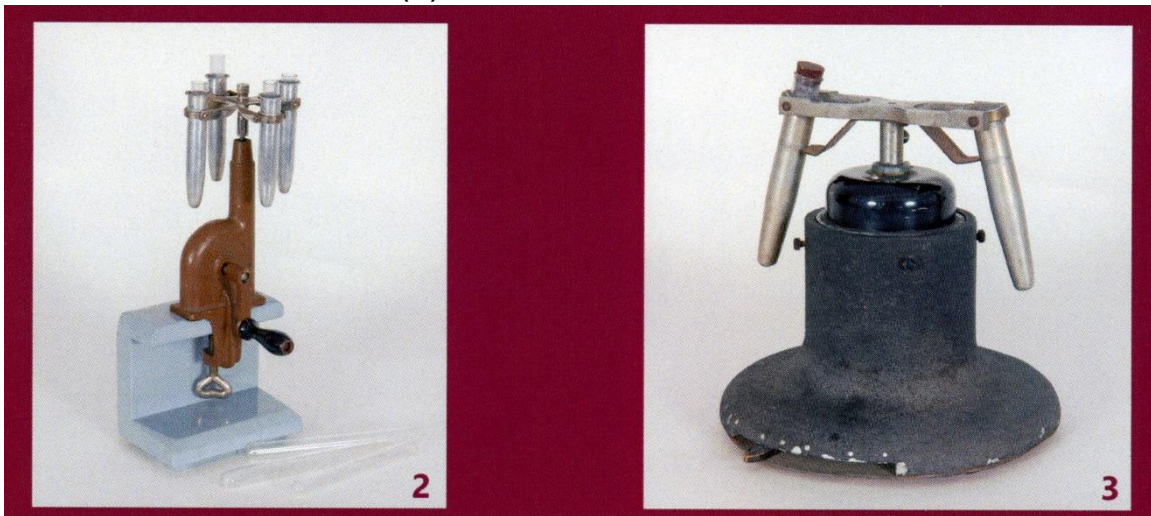
Historia de las centrifugadoras

El principio y necesidad para realizar la primera máquina centrifugadora comenzó con la industria azucarera, buscando un sistema capaz de concentrar los azúcares y eliminar las mieles durante un proceso de centrifugación. En 1848 se creó la primera máquina centrífuga para la depuración de caña de azúcar, atribuida a Shotter y Dubrunfaut, pero la patente fue concedida a David Weston, en 1852. La máquina fue llamada, “Separador centrifugador”, y fue construida en la plantación Lihue, en Honolulu (Hawái). En 1864, Antonin Prandtl propuso la idea de una centrifugadora láctea para separar la nata de la leche. Posteriormente, la idea fue puesta en práctica por su hermano, Alexander Prandtl, quien mejoró el diseño de su hermano y exhibió una máquina de extracción de grasa de mantequilla, en funcionamiento en 1875.

El uso de las centrifugadoras en los laboratorios de química fue introducido, a mediados del siglo XIX, por el químico alemán Lambert Freiherr von Babo (1818-1899).

En 1924, el químico sueco Theodor Svedberg (Nobel de Química 1926) potencia el uso de las ultracentrifugadoras, que alcanzan velocidades de giro de 10.000 rpm (hoy ya alcanzan las 150.000 rpm). Trabajó con ellas de 1926 a 1937, consiguiendo medir las proteínas de la hemoglobina y los ácidos nucleicos. A partir de aquí, el campo médico, físico y químico, nunca sería igual.

Las primeras centrifugadoras de laboratorio eran mecánicas manuales, que se giraban mediante una manivela (2), como la que mostramos en el expositor, de 1930. Junto a esta, hay una de las primeras centrífugas eléctricas de sobremesa (3), fechada en 1950.



Una aplicación típica de este aparato consiste en acelerar el proceso de sedimentación, separando el plasma sanguíneo y el suero sanguíneo de los componentes celulares (hematíes, leucocitos y plaquetas) en un proceso de análisis de sangre.

También se utiliza para determinar el hematocrito mediante una toma de muestra capilar. En este caso, la máquina utilizada se denomina microcentrifugadora.

En su uso médico, las máquinas centrifugas para laboratorio revolucionaron la forma y creación de vacunas de todos los tipos, en todo el mundo, salvando así millones de vidas. De la misma forma, fue indispensable en los estudios aplicados para el descubrimiento de condiciones sanguíneas, o diferentes bacterias, o patógenos y se convirtió en un aparato de uso cotidiano en cualquier laboratorio de un hospital o clínica de análisis médicos.

CROMATOGRAFIA

El análisis químico no se contenta con descubrir en un cuerpo complejo la presencia de un elemento simple, sino que actualmente consigue identificar unas moléculas orgánicas en medio de otras. La antigua ultracentrifugación, que separaba con rapidez sólidos de líquidos y el fotómetro de llama, cedieron el paso a aparatos complejos, como la cromatografía sobre columnas o papel, o los análisis en fase líquida o gaseosa. El siguiente método fue la “inmunoelectroforesis”. Cuando un componente orgánico se coloca en un campo eléctrico, las proteínas van a situarse de diferente forma según su composición y peso molecular, lo cual les permite ser diferenciadas; este método de inmunoelectroforesis se ha convertido en un procedimiento habitual, en el estudio de todos los líquidos biológicos.

Cromatografía. Del griego *chrōmato-* ‘color’ y *graphiā* ‘estudio’, ‘escrito’; acuñado posiblemente por Bailey en 1731.

Es la técnica física, que permite separar y purificar los componentes de una mezcla compleja y, en especial, de compuestos orgánicos biológicos, tanto sólidos como líquidos, con fines analíticos o preparativos. La técnica se basa en el reparto de las moléculas de la mezcla entre una fase móvil (con frecuencia un gas o un disolvente orgánico) y una fase estable químicamente inerte (por ejemplo, la sílice). Hay una enorme variedad de técnicas cromatográficas para separar los distintos tipos de compuestos.



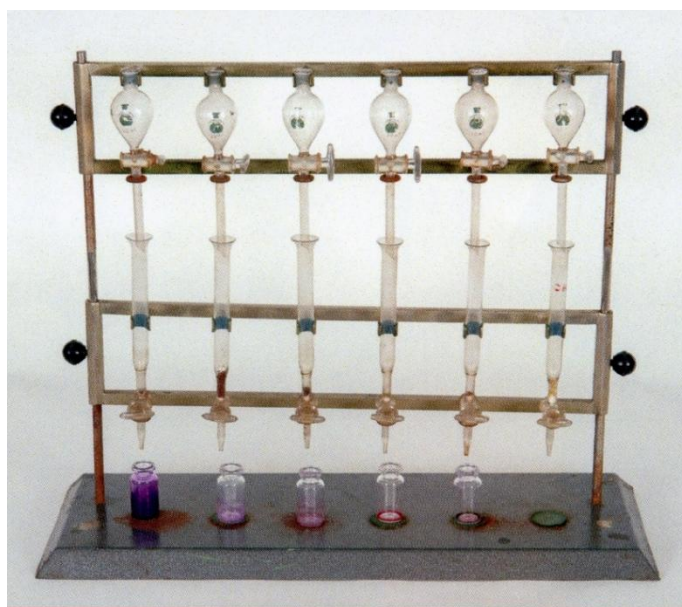
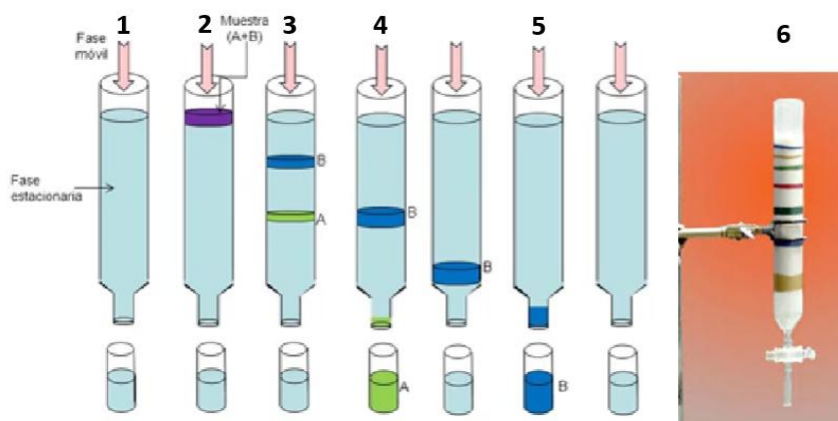
Se habla de cromatografía de gases, cuando la fase móvil es un gas y cromatografía líquida, cuando es un líquido. La combinación de cromatografía y espectrometría de masas, es actualmente una herramienta analítica muy potente.

Cromatografía en columna

Es la cromatografía en la que la fase estacionaria o adsorbente se introduce pulverizada, en un tubo de vidrio o columna (1), en cuya parte superior se sitúa la muestra cuyos componentes se quieren separar (2). El disolvente (eluyente) se hace correr hacia abajo, por gravedad o bajo presión, a través del adsorbente y los distintos compuestos de la muestra, que avanzan a diferente velocidad según su estructura química (3), se

recogen separados en distintas fracciones a la salida de la columna (4) (5). Es una técnica de purificación, puesto que permite aislar los compuestos

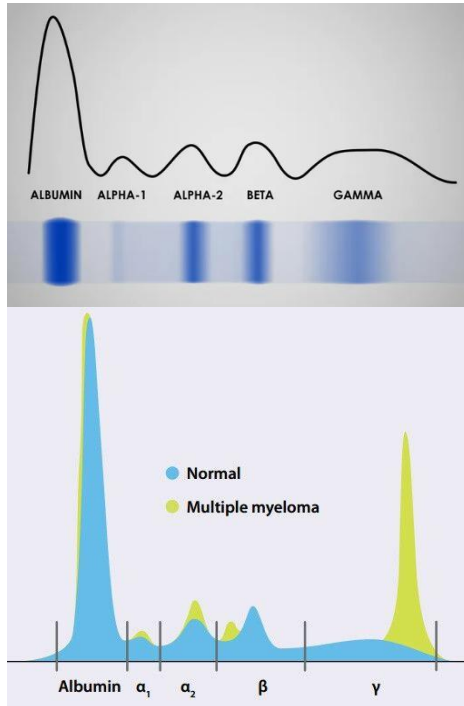
deseados de una mezcla, cuyos componentes coloreados vemos en la columna de la derecha (6).



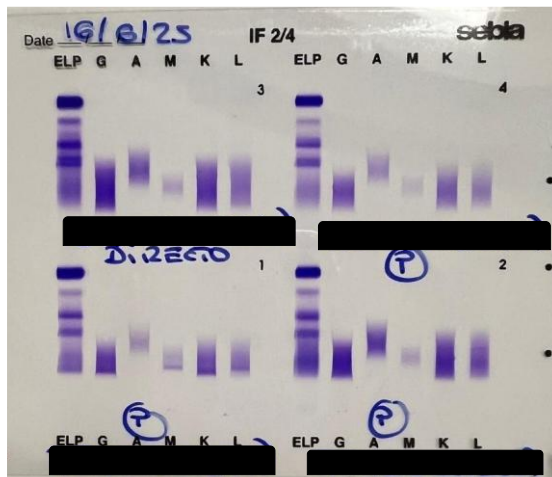
En la vitrina del Museo, tenemos un equipo de cromatografía en columna, de 1930, Una frágil columna de vidrio de 5 a 30 mm. de diámetro y sorprendentemente conservado integro.

Cromatografía eléctrica o electroforesis (del griego *ēlektro-* ‘electricidad’ y *phor* ‘llevar’; documentada en inglés desde 1911).

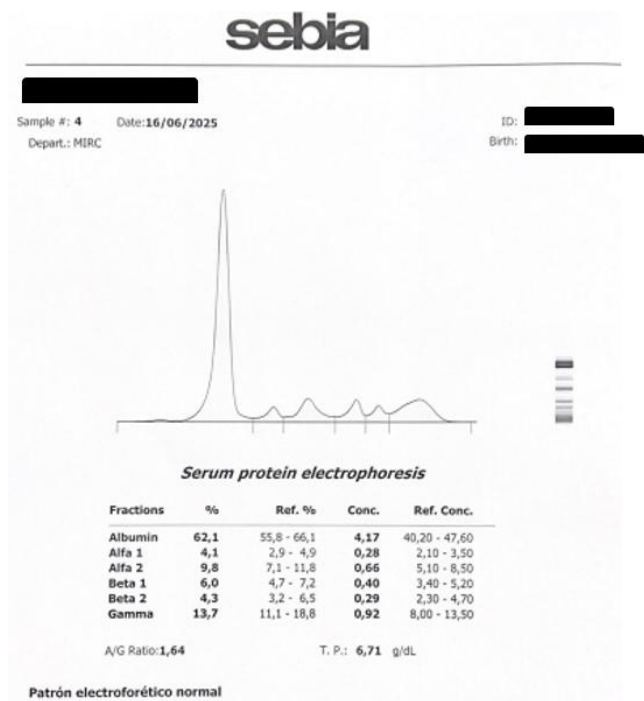
Está basada en el transporte de partículas cargadas o iones, a través de una disolución por acción de un campo eléctrico. Se emplea para separar sustancias con carga eléctrica, especialmente proteínas, sometiendo una



disolución de las mismas a un potencial eléctrico, de modo que el movimiento de las moléculas de cada compuesto presente en la mezcla, depende de su carga y tamaño, lo que permite diferenciarlos con fines analíticos, o separarlos para su aislamiento por su diferente velocidad de migración sobre un material de soporte. El análisis de las diferentes proteínas del suero sanguíneo se realiza por esta técnica y se utiliza para identificar anomalías en las proteínas, detectar enfermedades y monitorizar el tratamiento.



En la vitrina exponemos la actual electroforesis de proteínas en gel de agarosa de cuatro pacientes y la electroforesis capilar de otro paciente.



MICROBIOLOGÍA

Un servicio de gran importancia hospitalaria dentro del laboratorio, es el departamento de Bacteriología o Microbiología, en el que se realiza, no solo el diagnóstico de las enfermedades infectocontagiosas y la selección del antibiótico específico, sino también, la prevención y seguimiento de las infecciones adquiridas en el entorno hospitalario y que se conocen con el nombre de “nosocomiales” (palabra que deriva del griego antiguo "νοσοκομειῶν" (nosokomeîon), formado por "νόσος" (nósos, "enfermedad") y "κομέω" (koméō, "cuidar"). Estas infecciones tienen como característica común la múltiple resistencia a los antibióticos y el aumento de la morbilidad y mortalidad hospitalaria. Este servicio también vela por la esterilidad de los quirófanos y otros lugares de aislamiento.

Cultivo microbiológico

En el Diccionario de Términos Médicos de la Real Academia Nacional de Medicina de España, se define cultivo microbiológico: Técnica microbiológica que permite, mediante la utilización de diferentes sustratos nutritivos, el crecimiento, aislamiento e identificación de diferentes microorganismos, tales como bacterias, virus, hongos y parásitos.

En el departamento de microbiología es indispensable el uso del microscopio, como el del expositor, pero dado que tenemos otra vitrina, con varios modelos y dedicado en exclusiva al microscopio donde, en los textos del código QR, relatamos la historia de este instrumento, aquí no vamos a volver a describirla. En este expositor vamos a ver y revisar la historia de los cultivos de gérmenes, representados en el recipiente específico que se conoce como “placa de Petri”.

Historia

En el siglo XIX, el descubrimiento de la teoría microbiana de las enfermedades, permitió identificar los gérmenes causantes de muchas enfermedades, y en esta historia tuvo gran relevancia el cultivo microbiológico.

Los primeros microorganismos fueron identificados en 1674, por el constructor de microscopios Antonie van Leeuwenhoek (1632-1723), que no conocía la relevancia de su descubrimiento, al ser un vendedor de paños. Bartolomeo Bizio (1791 -1862) y Christian Gottfried von Ehrenberg (1795-1876), lograron cultivar una bacteria en una rodaja de patata. El botánico alemán Julius Oscar Brefeld (1839-1925) consiguió cultivar esporas de hongos en medios sólidos. Con posterioridad, Joseph Listen (1827-1912) y John Tyndall (1820-1893), trabajando en cultivos mixtos de infusiones de caldo de carne caliente y heno mejoraron los resultados, pero sin conseguir un medio de cultivo idóneo. Por entonces, Robert Koch (1843-1910), que junto a Luis Pasteur (1822-1895) son considerados los padres de la Bacteriología, trabajaba realizando cultivos en rodajas de patatas al aire libre e incubándolas a 37°, observó la aparición de diferentes colonias que, cultivadas nuevamente, originaban otras colonias idénticas. En 1881 se obtuvieron mejores resultados, al añadir al medio de cultivo carne y gelatina. También a esta mejoría contribuyó el entonces asistente de Koch, Julius Richard Petri (1852-1921), que en 1877 inventó unas placas de cristal de 10 cm de diámetro y que contaban con una tapa para aislar los cultivos. Estos recipientes, que podemos ver en la vitrina, recibieron en su honor el nombre de “placas de Petri”. Otro hito en los cultivos fue en 1882, cuando Walther Hesse (1846-1911), con la participación de su esposa, Fannie Hesse (1850-1934), que trabajaba como su ayudante, se le ocurrió introducir como agente solidificante el agar-agar, que utilizaba para confeccionar sus flanes.

Fue una aportación crucial en la historia de la Microbiología, que hizo posible el cultivo de múltiples microorganismos, y que Robert Koch incorporó inmediatamente.

A partir de esos años se suceden aportaciones muy diversas por diferentes investigadores, tendentes a proponer nuevos medios de cultivo.



El siguiente importante paso fue, en 1892, cuando Robert Théodore Würtz (1858-1919) añadió al medio de cultivo indicadores de PH, que mediante el cambio de coloración diferenciaban las colonias.

Hoy día, los medios de cultivo siguen usando como solidificante el agar y la gelatina, y los nutrientes utilizados son similares a los líquidos y componentes orgánicos, conteniendo carne y peptona enriquecidas con hidratos de carbono, bilis o sangre. También en la actualidad, al medio de cultivo le siguen añadiendo colorantes, que nos indican el grado de formación de ácido de la colonia bacteriana.

Para el estudio, y mejor visualización, de los gérmenes en el microscopio, ha tenido gran importancia la realización de tinciones con colorantes, como los expuestos en el panel de microscopios.

La placa de Petri, que vemos en la vitrina, es un recipiente doble, de base



circular y paredes de poca altura, hecho de vidrio o de plástico. Su uso es muy frecuente en laboratorios de Microbiología, principalmente para el cultivo de bacterias y otros microorganismos en medio líquido o sólido. Sus ventajas frente a las láminas de cultivo usadas por Koch son, que pueden ser fácilmente almacenadas y esterilizadas independientemente del medio de cultivo y, después de añadirlo fundido a la más pequeña de las dos partes circulares, la mayor puede ser usada como tapadera para evitar contaminaciones.

En otro estante inferior de la vitrina tenemos una pieza exclusiva, una Poyectina (1), aparato óptico fabricado por la casa Wild, con los mismos componentes que un microscopio convencional, para visualizar tejidos o gérmenes. Se utilizaba para discusión y demostración didáctica. Está compuesto por un estativo o cuerpo, cable y una caja de accesorios ópticos. Procedente del Laboratorio de Microbiología del Hospital Central de la Cruz Roja y utilizado entre 1925 y 1960.

