

PROTOCOLO DE PRODUCCION DEL HONGO ENTOMOPATOGEN
BEAVERIA BASSIANA

CEAR TELPOCHCALI-TOTOGALPA

por

Msc. Maryse Boisjoly, SUCO

Ing. Karla Mariana Hernandez, INPRHU Somoto

BIOLOGIA DE BEAUVERIA BASSIANA

Clase: Deuteromycetes

Orden: Moniliales

Familia: Moniliaceae

Genero y especie: *Beauveria bassiana*

Beauveria bassiana es un hongo Entomopatògeno que se usa en agricultura para el control biológico de las plagas. Un hongo Entomopatògeno es un hongo que se crece sobre insectos, y que se desarrolla hasta matarlos. *B. bassiana* se encuentra de manera natural en el campo, en lugares con temperatura fresca, con humedad alta, y con poco sol. El hongo produce estructuras de reproducción asexual llamadas conidias (o esporas) que son responsables de su dispersión en el campo. La dispersión se hace con el viento, o cuando hay contacto entre un insecto infectado y un insecto sano.

Las conidias que colonizan a un nuevo huésped germinan a la superficie de la cutícula, formando tubos germinativos que se desarrollan a dentro del insecto consumiendo los nutrientes del hemolymph. El hongo también produce toxinas que matan al insecto en los 3 a 6 días siguiente la infección. Después de la muerte del huésped, el hongo emerge de nuevo a la superficie de la cutícula donde produce otras conidias que van a dispersarse para infectar otros insectos.

Un insecto infectado con el hongo *B. bassiana* presenta los síntomas siguientes: una disminución de su alimentación, una reducción de movilidad, la parálisis y/o la muerte. La formación de conidias a la superficie del insecto muerto es de apariencia algodonosa y se mira especialmente al rededor de las articulaciones del insecto (Figura 1).

Tabla 1: Plagas que controla *Beauveria bassiana*.

Nombre común de la plaga	Nombre científico de la plaga
Broca de café	<i>Hypothenemus hampei</i>
Gallina ciega	<i>Phyllophaga</i> spp.
Picudo del plátano	<i>Cosmopolites sordidus</i>
Palomilla del repollo	<i>Plutella xylostella</i>
Picudo del chiltoma	<i>Anthonomus eugeni</i>

TRABAJO EN AMBIENTE ESTERIL

Para lograr la producción *B. bassiana* en el laboratorio, siempre está necesario de trabajar en ambiente estéril, con materiales esterilizados para prevenir la contaminación con otros

microorganismos (bacterias o otros hongos). Hay muchas fuentes de contaminación posibles: el aire, el agua, las manos y la respiración de los técnicos, los insectos que vienen del campo, la ropa y los zapatos que vienen del exterior, las cortinas que acumulan los microorganismos. Hay una serie de precauciones que están necesarios para prevenir la contaminación.

Durante el proceso de producción, se usan materiales de vidrio o de metal que son resistentes al calor que debe ser esterilizados antes cada uso. Las pequeñas herramientas como las jeringas, agujas y las espátulas deben ser enrollados en papel aluminio, y los erlenmeyer deben ser tapados con papel aluminio antes de esterilizarlos en el autoclave durante 20 minutos a 15 libras de presión. El papel aluminio sirve para prevenir el contacto entre el material esterilizado y el aire entre el autoclave y la caja de inoculación. Los materiales de plástico tal como las agujas de disección por ejemplo no se ponen en el autoclave. Antes de usarlas en la caja de infección, desinfectar el mango y la aguja con alcohol.

Todas las manipulaciones que implican el uso del hongo se hacen en una caja de inoculación. Cada superficie de esta caja se desinfecta antes cada uso con alcohol de 90% o más. Antes de trabajar en la caja, las manos del técnico deben ser desinfectadas con alcohol también. No introducir en la caja materiales que pueden ser contaminados. Poner todos los materiales necesarios en las cajas antes de empezar las manipulaciones. Esta etapa puede prevenir de entrar y de salir las manos de la caja, o el movimiento del aire al rededor de la caja.

En la caja, el mechero debe ser encendido (nunca durante la desinfección con alcohol, pero siempre después) cada vez que se manipula el hongo en la caja. El calor producido por el mechero crea una esfera de aire estéril de 25 cm de diámetro alrededor del fuego. Cada manipulación debe ser a dentro del diámetro de esterilidad del mechero. Cada herramienta usada en el proceso de producción de hongo debe ser esterilizada en el fuego antes su uso (la aguja de la jeringa, la aguja de disección, el asa de inoculación...). Después, las herramientas deben enfriarse algunas segundos antes de tocar el hongo. Una herramienta demasiado caliente puede matar al hongo.

El técnico debe poner una máscara para su protección, y también para prevenir de contaminación del medio de trabajo con su respiración.

También, los técnicos y técnicas que trabajan en el laboratorio deben usar zapatos que se usan solo en el laboratorio. Eso sirve para evitar la contaminación del laboratorio con microorganismos del campo, y para evitar que los zapatos que se usan en el laboratorio de hongos son los mismos que se usan en el laboratorio de insectos.

Nunca abrir un plato petri o un erlenmeyer que contiene el hongo a fuera de la caja. Nunca sacar las herramientas de su papel aluminio a fuera de la caja para prevenir la contaminación con el aire.

Después de salir del laboratorio de producción de hongos, es prohibido de ir en el laboratorio de producción de insectos el mismo día. La ropa que se usa en el laboratorio de producción de hongo debe ser limpiada antes de usarla en el laboratorio de insectos. La ropa y los zapatos pueden ser contaminados con conidia y matar a toda la poblaciones de insectos.

PRODUCCION DEL HONGO

El hongo *Beauveria bassiana* se produce en laboratorio con una alternancia de media solido y liquido para que el hongo pueda completar su ciclo de vida. La producción empieza con un insecto muerto encontrado en el campo, o con un hongo patrón que se compra en otras instituciones. A partir de este insecto o hongo patrón, se necesita mas o menos un mes para producir bolsas de arroz contaminados que están listos para el uso en el campo. Empezamos con un cultivo puro sobre un plato petri de PDA (papas, dextrosa, agar) que permite de observar el crecimiento de contaminantes. Esta etapa permite el aislamiento de una cepa de hongo. Desde el cultivo puro, se inocula una matriz de arroz en un erlenmeyer para permitir el desarrollo del hongo. La etapa final es la inoculación de bolsas de arroz que se usan para la venta y distribución a los productores para el uso en el campo.

1 petri = 3 matriz = 30 bolsas

CEPARIO (COLECTA DEL HONGO EN EL CAMPO, AISLAMIENTO, Y OBTENCIÓN DE UN CULTIVO PURO EN EL LABORATORIO)

- 1) Esterilizar la caja de inoculación con alcohol.
- 2) Trabajar en la caja de infección cerca del mechero encendido con materiales esterilizados.
- 3) Esterilizar la aguja de disección en el mechero durante algunas segundas. Esperar que se refría antes de extraer una muestra del hongo.
- 4) Abrir el plato petri que contiene el insecto infectado (Figura 1) cerca del mechero.
- 5) Con la aguja de disección, extraer una muestra de hongo. La muestra no debe ser visible con el ojo nudo. Una muestra demasiado grande contiene una grande cantidad de conidias, y aumenta las probabilidades de extraer conidias de varias especies o cepas. Para disminuir el riesgo de contaminación, simplemente rascar ligeramente la parte del insecto infectada con el hongo con la aguja de disección.
- 6) Usar un petri de PDA refría y estéril. Con la aguja infectada, hacer algunas rayas superficiales sobre el media para la infección.
- 7) Sellar el petri con parafilm y rotular con la fecha de inoculación y el especie del insecto que se uso para la infección.
- 8) Incubar a temperatura ambiente durante 7 a 10 días.
- 9) Asegurarse que el petri no está contaminado con otros microorganismos (Figura 2).
- 10) Si hay contaminación en el petri, extraer una muestra del hongo en la área que parece el más puro posible inocular un nuevo petri con esta muestra. Cualquier presencia de contaminante sobre el petri durante esta etapa de la producción puede disminuir la calidad

del producto, y disminuir la efectividad del hongo en el campo. Las fuentes de contaminación pueden ser bacterias o otros hongos. Forman colonias sobre el medio de cultivo que son de apariencia diferente a las colonias de *B. bassiana*. Las colonias de agentes de contaminación pueden tener una textura, olor o color diferentes.

- 11) Para obtener una cepa pura, se recomienda hacer una segunda inoculación de petri desde el petri original.

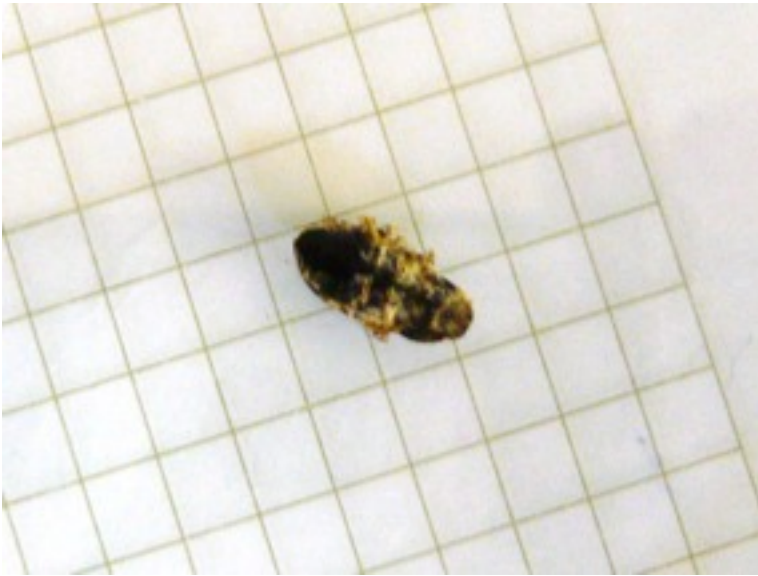


Figura 1: Insecto muerto infectado con el *B. bassiana*. Se observa la forma algodonosa del hongo a la superficie de la cutícula. Este insecto se usa para la preparación del petri a partir de un insecto.

PREPARACIÓN DEL MEDIO DE PDA

PDA (300g de papas, 20g de dextrosa, 20g de agar) = 1L de medio

- 1) Coser 300g de papas cortadas en pedacitos en 1L agua, y filtrar con embudo y algodón para recolectar la totalidad del jugo de cocción en un erlenmeyer de 1L. Si hay evaporación de agua y que no recolectamos 1L, añadir agua en el erlenmeyer.
- 2) Poner 20g de agar, 20g de dextrosa y dos cápsulas de amoxiciclina en el erlenmeyer de 1L, y mezclar hasta la obtención de una solución homogénea. Para facilitar la mezcla, echar la solución en dos erlenmeyers. Sellar herméticamente el erlenmeyer con papel aluminio y masking tape. El papel aluminio se dobla 4 veces, se presiona sobre la boca del erlenmeyer y luego se quita, se recorta y se vuelve a poner y se sella con maskintape de modo que quede bien sellado.
- 3) Esterilizar en el autoclave (con platos petris). Esperar que la temperatura sube hasta 250°F (121°C) y 15 libras de presión, y esterilizar durante 15 minutos.
- 4) Dejar el autoclave enfriarse antes de abrirlo.

- 5) Dejar la solución enfriarse antes de echar en un petri para que no se forma humedad, pero echar antes que la solución se solidifica.
- 6) Desinfectar la caja de inoculación con alcohol, y encender el mechero. Trabajar a dentro de un diámetro de 25cm del mechero.
- 7) Abrir el erlenmeyer y echar la solución en algunos petris. Cerrar los petris antes de salirlos de la caja de inoculación, o de apagar en fuego del mechero.
- 8) Dejar los petris enfriarse.
- 9) Después de 24h, inspeccionar los petris para denotar presencia de contaminación. Botar los medios de cultivos que son contaminados.



Figura 2: Cultivo de hongo puro sobre PDA en un petri.

INOCULACIÓN DEL PETRI CON *B.BASSIANA* DE PETRI A PETRI (FIGURA 3)

- 1) Escoger un petri el mas puro posible.
- 2) Trabajar en la caja de inoculación, cerca del mechero encendido.
- 3) Esterilizar la aguja de disección en el mechero durante algunas segundas. Esperar que se refría antes de extraer una muestra del hongo.
- 4) Abrir el petri contaminado cerca del mechero. Buscar a la parte del cultivo de hongo que esta mas puro. Extraer una muestra con la aguja de disección. La muestra no debe ser visible con el ojo nudo. Una muestra demasiado grande contiene una grande cantidad de conidias, y aumenta las probabilidades de tener conidias de varias especies o cepas. Para disminuir el riesgo de contaminación, simplemente rascar ligeramente la parte del insecto infectada con el hongo con la aguja de disección.
- 5) Usar un petri que contiene PDA refría y estéril. Con la aguja de disección infectada, hacer algunas rayas superficiales sobre el petri para transferir las conidias sobre el media.
- 6) Sellar el petri con parafilm. Rotular con «Petri a Petri» y con la fecha.
- 7) Incubar a temperatura ambiente durante 7 a 10 días.

- 8) Asegurarse que el petri no está contaminado con otros microorganismos.
- 9) Si hay contaminación en el petri, extraer una muestra del hongo en la área que parece el más puro posible inocular un nuevo petri con esta muestra.



Figura 3: Infección de petri a petri. Con la aguja de disección infectada por el hongo, hacer rayas sobre un nuevo PDA.

PREPARACIÓN DE LA MATRIZ (FIGURA 4)

- 1) Dejar el arroz remojando durante 20 minutos
- 2) Precocer el arroz (80/20) en excedente de agua durante 5 minutos.
- 3) Filtrar el arroz precocido con un tamis.
- 4) Poner el arroz sobre papel de empaque absorbente para que se seca y refría.
- 5) Poner entre 160 y 200g de arroz precocido en un erlenmeyer de 500mL.
- 6) Sellar el erlenmeyer herméticamente con papel aluminio y masking tape.
- 7) Poner en el autoclave. Esperar que la temperatura sube hasta 250°F (entre 121 y 126°C) y 15 libras de presión, y esterilizar durante 15 minutos.
- 8) Dejar el autoclave enfriarse antes de abrirlo.
- 9) Dejar el arroz reposando 24 h antes de la inoculación.

INOCULACIÓN DE LA MATRIZ A PARTIR DEL CULTIVO PURO

- 1) Poner una cápsula de amoxiciclina en 2L de agua esterilizada.
- 2) Trabajar en la caja de inoculación desinfectada con alcohol, cerca de un mechero encendido.
- 3) Trabajar con materiales esterilizados (asas, jeringa, agujas, erlenmeyers) enrollados en papel aluminio (Figura 5).
- 4) Escoger el petri con el cultivo más puro posible para la infección del a matriz.

- 5) Para preparar la suspensión a partir del cultivo puro, extraer todo el hongo del petri raspando la superficie del medio (recolectar solo el hongo, y no el PDA). Se usa todo un plato petri de hongo para la preparación de una suspensión que puede infectar 7 matriz.
- 6) Disolver el hongo recolectado en agua esterilizada, y mezclar para obtener una solución homogénea.
- 7) De aquí, extraer una muestra de la suspensión para contar las conidia con la cámara de Neubauer. Estamos buscando a 10^6 hasta 10^8 conidias en el erlenmeyer.
- 8) Tomar muestra de agua infectada con el hongo con un jeringa de 20mL esterilizada. Esterilizar la aguja de la jeringa con el mechero antes cada inoculación de matriz.
- 9) Con una cantidad de 10^8 conidias en la solución, extraer 15mL con la jeringa. Con una cantidad de 10^6 , extraer 20mL.
- 10) Perforar el papel aluminio que sirve de tapa al erlenmeyer con la aguja de la jeringa para la infección del arroz de la matriz. Echar la solución sobre todo el arroz. Cerrar el hoyo con sellador claro. Mezclar el arroz para uniformizar la suspensión de conidias.
- 11) Incubar la matriz a temperatura ambiente (la temperatura optima es de 27°C) con humedad de 75% y en un lugar oscuro durante una semana.
- 12) Durante la incubación, revisar la matriz cada día (a partir del tercero día) para observar anormalidades o presencia de contaminantes.



Figura 4: Matriz. Antes de infectar la matriz, cerrar el erlenmeyer con papel aluminio y masking tape y esterilizar en el autoclave. La matriz se infecta en la caja de infección, perforando el papel aluminio con la jeringa.

INFECCIÓN DE LAS BOLSAS

- 1) Precocer el arroz en agua (ver preparación de la matriz).
- 2) Poner 200g de arroz refrió en una bolsa autoclavable, vaciar el aire, y cerrar la bolsa.
- 3) Esterilizar la bolsa en el autoclave.

- 4) Dejar enfriarse durante 24h.
- 5) Marcar cada bolsa con un circulo para identificar el lugar donde vamos a perforar con la aguja para la infección.



Figura 5: Ejemplo de materiales listo para ser esterilizados en el autoclave. Los erlenmeyer están tapados y las espátulas están enrolladas en papel aluminio.

- 6) Para la preparación de la suspensión, usar 1L de agua con una cápsula de amoxiciclina, y 1g de extracto de malta.
- 7) Trabajar en la caja de inoculación desinfectada con alcohol, cerca de un mechero encendido.
- 8) Trabajar con materiales esterilizados.
- 9) Echar el agua esterilizada en el erlenmeyer que contiene la matriz de arroz. Mezclar para poner las conidias de la matriz en suspensión.
- 10) Filtrar la solución con un embudo y con malla fina (Figura 6). La solución filtrada se usa para la infección de las bolsas de arroz. Con 1 matriz, se produce entre 25 y 30 bolsas de arroz.
- 11) Esterilizar la aguja de la jeringa con el mechero antes cada inoculación de bolsa.
- 12) Extraer una muestra de 20mL de la suspensión de conidias con la jeringa, perforar la bolsa de arroz con la aguja de la jeringa donde la bolsa fue marcada (Figura 7), y echar la suspensión sobre todo el arroz.
- 13) Cerrar el hoyo de la aguja con sellador claro.
- 14) Incubar las bolsas de arroz a 27°C y 80% de humedad. Después 7 días en la bolsa, podemos observar crecimiento del hongo. El hongo está utilización después 2 semanas.
- 15) La bolsa puede conservarse en el refrigerador durante 1 mes.
- 16) Cada bolsa debe contener 5×10^{11} conidias, y se vende a 15\$ la bolsa.



Figura 6: Filtración del arroz. El arroz de la matriz se pone en suspensión en agua esterilizada para recolectar las conidias. Este solución se filtra para recolectar una solución que se usaría para la infección de las bolsas de arroz.



Figure 7: Infección de las bolsas de arroz. Perforar las bolsas con la aguja de la jeringa para infectar el arroz con la solución obtenida en la figura 6.

CONTEO DE CONIDIAS CON LA CÁMARA DE CONTEO NEUBAUER (HEMATOCIMETRO)

Se usa la cámara de Neubauer para contar la cantidad de conidias en la bolsa. La cámara está un porta objeto donde se incierta una muestra de una suspensión de conidias. La cámara está dividida entre cuadros principales los cuales son divididos en 25 cuadros secundarios. Cada cuadro secundario está dividido en 16 cuadritos menores. Para contar las conidias, usamos el cuadro principal central, si hay de 10^8 conidias por campo, aplicamos 20 cc de solución.



Figura 8: Cámara de conteo de Neubauer.

APLICACIÓN EN EL CAMPO

Hay dos tipos de utilización en el campo: inoculativa, y inundativa. Una aplicación inoculativa se usa cuando la población de plaga está baja, el hongo se aplica a baja dosis cada tres días hasta que el hongo se mantiene en el campo de manera natural. Una aplicación inundativa se usa cuando la población de plaga esta alta para bajar rápidamente la población. Se usan alta dosis de hongo.

La suspensión de conidia que se usa para la aplicación en el campo se prepara el mismo día de la aplicación para tener una calidad optima del producto. Se usan dos bolsas de polvo de *B. bassiana* por manzana. Echar 2 a 3 litros de agua en un recipiente que contiene una bolsa de arroz y un adherente (detergente 1%). Mezclar para separar las conidias del arroz. Separar la suspensión del arroz, y distribuye la suspensión en partes iguales en bombas para la aplicación en el campo.

La aplicación se hace temprano en la mañana o después de las 4 de la tarde. Los rayos UV del sol y las temperaturas altas son dañinos y pueden desactivar al hongo. No se aplica el hongo en día de lluvia, y no se usan fungicidas o otros productos que pueden dañar al hongo al mismo tiempo.

Para optimizar la efectividad de un tratamiento, está recomendado de hacer un recuento de plagas antes y después del uso de *B. bassiana*. El seguimiento de poblaciones de plaga permite de evaluar la efectividad del producto, y de ajustar la dosis de hongo usada si está necesario.

CONTROL DE CALIDAD

Trabajando con una producción de hongo sobre media de cultivo artificial, el hongo pierde su virulencia. La virulencia de un patógeno se define como su nivel de patogenicidad para un grupo de especies. Una disminución de la virulencia significa también una efectividad mas baja del producto en el campo para matar a las plagas. Para reactivar la virulencia del hongo, tenemos que infectar insectos en el laboratorio para que el ciclo del hongo se completa en media natural también. La infección de insectos en el laboratorio se hace cada 3 meses. Con los insectos infectados muertos en el laboratorio, se inocula nueva PDA para producir nuevos cultivos puros. El problema con la reactivación de la virulencia es que los insectos del campo son una fuente de contaminación en el laboratorio. Para disminuir la contaminación durante la producción de un cultivo puro, se desinfectan los insectos con hipoclorito de sodio antes de su inoculación. La inspección para la presencia de contaminantes sobre el plato petri producido a partir de insectos del campo está crucial.

Existen varias cepas de *B. bassiana* en Nicaragua, y en general, cada cepa es especificada y tiene una virulencia diferente para cada especie de plaga. Usando la misma especie de insecto en el laboratorio para la reactivación de la virulencia, el hongo puede perder efectividad para otras especies, pero desarrollar una efectividad mas grande para esta especie especifica. Entonces, proponemos dos opciones para la producción del hongo. La primera es de producir un hongo especifico para cada especie que queremos controlar en el campo. La otra opción es de producir una mezcla de hongo con varias cepas y mantener la generalidad del producto, usando insectos de especies diferentes en el laboratorio para la reactivación de la virulencia.

Para el control de calidad del producto en el campo tenemos que saber el peso de polvo de hongo producido por cada bolsa, y el numero de conidias producidas en cada gramo de polvo. Queremos conocer la cantidad de conidias en cada bolsa, porque por un uso efectivo en el campo, se debe conocer la concentración del producto usada. Cada especie de plaga o cada cepa de hongo usada necesita su cantidad propia de conidia para tener un control optima. Para recolecta el polvo de una bolsa de arroz, simplemente filtrar la bolsa con un tamiz de 1mm. Se mezcla y frota el arroz para extraer el polvo del arroz. Las conidias se cuentan con la cámara de conteo. Está recomiendo de conocer la patogenicidad de la cepa del hongo producido para el

control de cada plaga. Este conocimiento puede permitir de ajustar la concentración del hongo usado en el campo.

La viabilidad del hongo es un otro parámetro que se evalúa durante el control de calidad. La viabilidad se define como la proporción de conidias que germinan (ver Monzón 2001 para detalles de la metodología). Está preferible de conocer la viabilidad del hongo para ajustar la cantidad de conidias activas que se libera en el campo.

AGRADECIMIENTO

Ing. Luis Moreno y Lic. Marcia Gómez Vega de la UNAN-León para la capacitación del primero de noviembre 2012, para compartir su conocimiento. El protocolo fue escrito siguiendo las informaciones obtenidas durante la capacitación.

BIBLIOGRAFÍA

Castillo Altamirano P. Moreno L. y Gómez M. 2005. Hongo entomopatogeno *Beauveria bassiana*; Bioinsecticida para el manejo de plagas. Guía Técnica. Centro de Investigaciones y Reproducción de Controladores Biológicos (CIRCB), Departamento de Agroecología UNAN-León.

Feng M.G. Poprawski T.J. y Khachatourians G.G. 1994. Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status. *Biocontrol Science and Technology*. 4: 3-34.

Monzón A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)*. 63: 95-103.

Zimmermann G. 2007. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria Bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology*. 17(6): 553-596.

USO DEL AUTOCLAVE

Advertencia

- ❖ Después de cada esterilización, esperar que la presión baja naturalmente hasta 0 MPa para abrir el autoclave.
- ❖ No dejar el autoclave conectado cuando no se usa.
- ❖ Verificar el nivel del agua entre cada uso. Si necesario, añadir agua.
- ❖ Vaciar el agua del autoclave entre cada uso. Secar el interior del autoclave antes de cerrar la tapa.
- ❖ Usar agua destilada. Si no está posible, limpiar el autoclave entre cada uso.
- ❖ Electricidad.
- ❖ Válvulas.
- ❖ Abrir la tapa con cuidado después cada uso
- ❖ Siempre conectar con tierra.
- ❖ No usar para productos inflamables, o explosivos.
- ❖ No poner su cara o manos arriba de la ventilación (hoyo en el mango izquierda). No tapar este hoyo tampoco.
- ❖ Solo vaciar el agua del autoclave cuando la presión baja hasta 0MPa. No abrir la llave antes que baja la presión.
- ❖ No tocar el autoclave cuando esta encendido. Hay riesgo de quemarse.
- ❖ Instalar el autoclave en un lugar donde hay suficiente espacio al rededor del autoclave.
- ❖ Cerrar la llave cuando el autoclave está en uso para prevenir la escapa de agua.



Figura 9: Tapa del autoclave. Antes de encender el autoclave verificar que las válvulas están bajadas.



Figura 10: Llave del autoclave. Debe ser cerrada antes de encender el autoclave.



Figura 11: Tablero de control del autoclave

Tabla 2: Descripción de los diferentes componentes del tablero de control y de la tapa.

Componente	Descripción
Set (arreglo)	Se usa para arreglar la temperatura y el tiempo de esterilización.
Temp (temperatura)	La luz encendida indica que la pantalla indica la temperatura del autoclave.
SP: arreglo de parámetros	La letras SP sobre la pantalla indican que se puede cambiar la temperatura.
Time (tiempo)	La luz encendida indica que la pantalla indica el tiempo de esterilización
ST (set time: arreglo del tiempo)	La letras SP sobre la pantalla indican que se puede cambiar el tiempo.
Heating (Calentando)	La luz encendida indica que el autoclave esta calentando.
Sterilizing (Esterilizando)	La luz encendida indica que el autoclave llegó hasta la temperatura apropiada y que está en proceso de esterilización.
End (Fin)	El proceso de esterilización está terminado.
↑↓	La flechas se usan para modificar los parámetros de temperatura o de tiempo
Water (agua)	La luz encendida indica que el nivel de agua está suficiente alto. Cuando la luz está FLASHING, apagar el autoclave, esperar que la presión baja, abrir el autoclave, y añadir agua.
Pressure Gauge (Indicador de presión)	Indica la presión. Empieza a subir después que la temperatura llega hasta 100°C.

Uso del autoclave

- 1) Poner la plancha de drenaje en el fondo del autoclave.
- 2) Cerrar la llave (figura 10) antes de encender el autoclave.
- 3) Echar agua en el autoclave, hasta que el indicador (en el fondo del autoclave, a la derecha) flota hasta el máximo. Entre cada uso del autoclave, está importante de verificar el nivel del agua. Cuando el autoclave está funcionando y que no hay suficiente agua, la luz «water» empieza a parpadear. Apagar el autoclave, y echar mas agua.

- 4) Poner las muestras en la canasta. No poner las muestra para que obstruyen a las válvulas o a la ventilación de la tapa.
- 5) Cerrar la tapa.
- 6) Usar la tecla «SET» para cambiar la luz verde hasta temp (temperatura) para arreglar la temperatura. Las letras SP (set parameters) aparecen sobre la pantalla. Las flechas se usan para cambiar la temperatura.
- 7) Usar la tecla «SET» para cambiar la luz verde hasta time (tiempo) para arreglar el tiempo. Las letras ST (set time) aparecen sobre la pantalla. Las flechas se usan para cambiar el tiempo.
- 8) Usar la tecla «SET» otra vez para confirmar la temperatura y el tiempo.
- 9) El proceso de esterilización empieza automáticamente.
- 10) La luz «Heating» indica que el autoclave está calentando, y la pantalla indica la temperatura de la olla hasta que llega hasta la temperatura apropiada y que empieza la esterilización. A este momento, la luz «Sterilizing» se enciende, y la pantalla indica el tiempo de esterilización que queda.
- 11) Cuando se termina la esterilización, la luz «End» se enciende, un timbre se escucha y el autoclave termina automáticamente la producción de calor.
- 12) Apagar el autoclave.
- 13) Esperar que la presión baja antes de abrir el autoclave.
- 14) Abrir el autoclave y esperar un poco que se refrián los materiales.
- 15)



Ventilación

Figure 12: Ventilación situada en el mango izquierda. Verificar que se sube cuando la temperatura llega hasta 98°C. Si la ventilación no sube, el autoclave no acumula vapor de agua, la presión de la olla no sube, y la temperatura no pasa los 98°C.

