

UF3

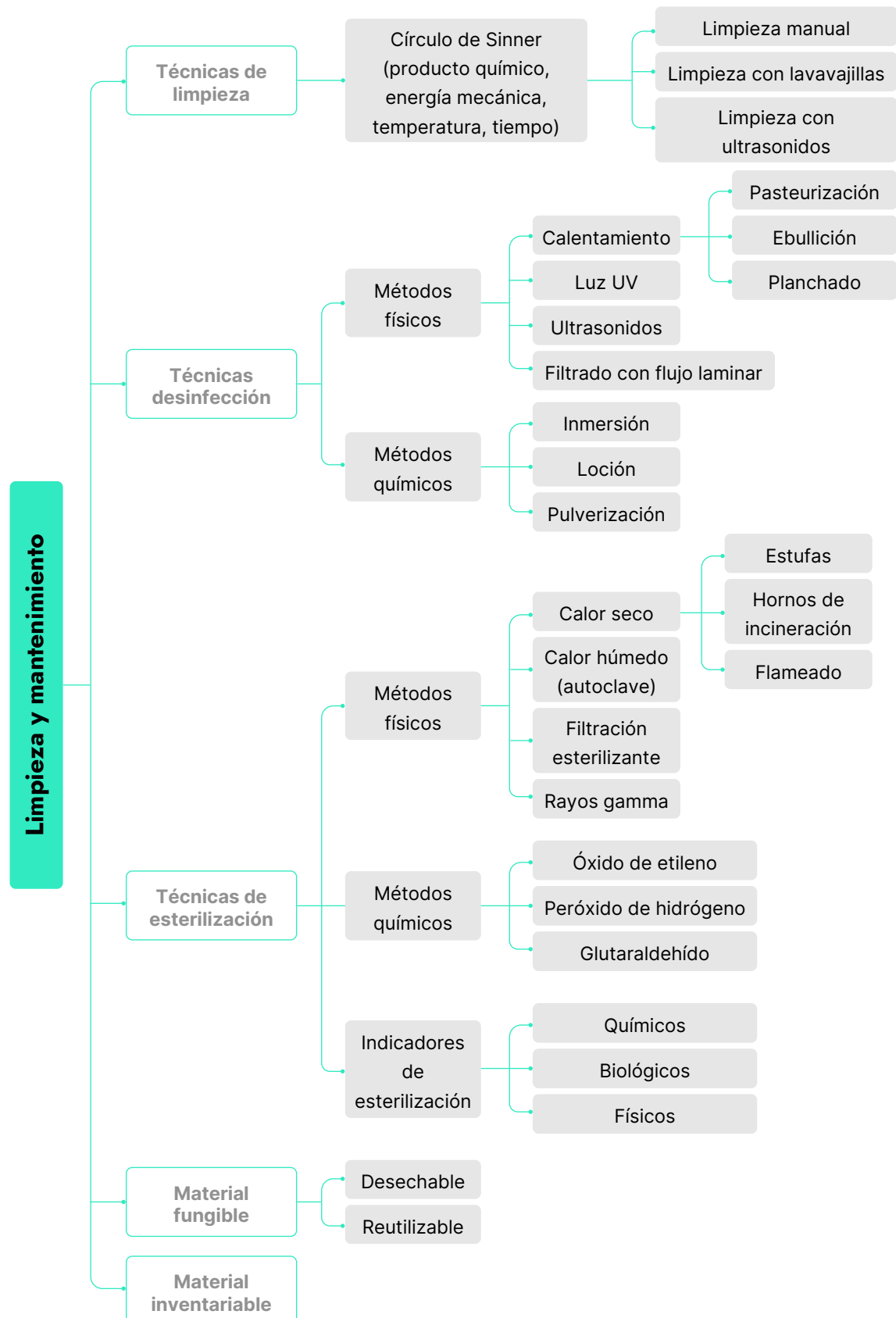
Limpieza y mantenimiento

Técnicas generales de laboratorio

ÍNDICE

Mapa conceptual.....	03
1. Técnicas de limpieza.....	04
1.1. Limpieza manual	05
1.2. Limpieza con lavavajillas	06
1.3. Limpieza con ultrasonidos.....	06
2. Técnicas de desinfección.....	07
3. Técnicas de esterilización.....	10
3.1. Esterilización por métodos físicos.....	10
A. Esterilización por calor seco	10
B. Esterilización por calor húmedo.....	11
C. Filtración esterilizante.....	11
D. Radiación ionizante	12
3.2. Esterilización por métodos químicos	12
3.3. Indicadores de esterilización.....	13
4. Mantenimiento del material fungible	15
4.1. Material desechable	15
4.2. Material reutilizable	16
5. Mantenimiento del material inventariable	18

Mapa conceptual



01 Técnicas de limpieza

La **limpieza** en el laboratorio es un procedimiento que sirve para eliminar la suciedad de un objeto.

La limpieza **no destruye los microorganismos** del objeto a tratar, pero sí reduce la suciedad que hay y también la carga biológica. Con la acción de limpiar conseguimos preparar el material para una posterior desinfección o esterilización si lo que queremos es destruir microorganismos.

IMPORTANTE

Recuerda que siempre hay que **limpiar antes de desinfectar** o esterilizar.

DEFINICIÓN

La acción de limpiar combina un procedimiento de frotación con la acción química de los detergentes.

Los **detergentes** son sustancias tensioactivas o mezclas de estas que pueden disolver la suciedad de un objeto sin dañarlo.

El procedimiento de limpieza puede hacerse de **forma manual, con lavavajillas de laboratorio o con ultrasonidos** (para material que tiene partes muy inaccesibles para poder frotar).

El llamado **círculo de Sinner** es un enfoque en el que hay que tener en cuenta cuatro factores que se combinan entre sí para garantizar una limpieza óptima: **acción mecánica, acción química, temperatura y tiempo**. Si uno de los factores disminuye, deberá estar compensado por uno o varios de los restantes para obtener una buena calidad final en el proceso de lavado.

Así pues, la **efectividad** de este procedimiento **depende de:**

- » La acción mecánica que se aplique (frotación).
- » La acción química (tipo de detergente).

- » El tiempo de acción del detergente.
- » La temperatura empleada. No es recomendable empezar a limpiar con agua caliente porque se coagulan las proteínas de la materia orgánica y se adhieren más a las superficies.
- » La cantidad y calidad del agua. Un agua que tenga mucha cal dejará restos en el material y habrá que aclararlo más veces o emplear agua destilada para su aclarado final.

Debemos llevar **guantes** para realizar el procedimiento de limpieza y lavarnos las manos al finalizar.

1.1. Limpieza manual

Con el fin de realizar correctamente la limpieza de los materiales, debemos seguir las siguientes **recomendaciones**:

- » Llevar guantes y, preferiblemente, delantal de plástico para evitar salpicaduras en la bata que llevemos puesta.
- » Frotar con agua fría y detergente, empleando escobillas o estropajos. Como hemos mencionado, no se debe empezar a limpiar con agua caliente. Con este paso conseguimos empapar todo el material y que la suciedad se vaya desincrustando.
- » Si la suciedad está muy incrustada, será necesario dejar a remojo el material el tiempo y a la temperatura indicada por el fabricante del detergente que vayamos a emplear.
- » Seguidamente, ya podemos frotar el material con detergente y agua caliente para terminar de eliminar toda la suciedad.
- » A continuación, se realiza el aclarado con agua del grifo.
- » El último aclarado, se lleva a cabo con agua destilada o desionizada para que no se queden restos de cal y otros iones procedentes del agua del grifo.
- » Dejamos secar el material en los escurridores.

1.2. Limpieza con lavavajillas

Si se dispone en el laboratorio de un lavavajillas, es recomendable su uso ya que se consiguen mejores resultados de limpieza.

Los lavavajillas de los laboratorios suelen llevar un **ciclo de secado** al finalizar el proceso de limpieza que deja el material seco y limpio para su uso.

Al emplear el lavavajillas se reduce además el riesgo de cortes por la posible rotura del material de vidrio en su manipulación.

1.3. Limpieza con ultrasonidos

El **baño de ultrasonidos**, además de ser usado habitualmente en el laboratorio para calentar de manera uniforme muestras y reactivos, también se emplea para tareas de limpieza cuando hay materiales que tienen recovecos a los que es difícil llegar con la limpieza manual o con el lavavajillas.

En este caso, la cubeta se llena con detergente y agua destilada, en la que se sumerge el material y, mediante los ultrasonidos que se generan, se consigue que el agua con el detergente **vibre**, logrando esta vibración un **movimiento de fricción** que consigue desincrustar la suciedad de los materiales.

Es habitual el uso de limpieza por ultrasonidos del **material quirúrgico** (sondas, mangos de bisturí, etc.), odontológico (moldes dentales, apliques ortodóncicos, etc.), lentillas, etc.



Fig. 1. Baño de ultrasonidos.

1 CASO PRÁCTICO



LIMPIEZA MANUAL NO EFICAZ

¿Cómo limpiarías unos tubos de ensayo que con la limpieza manual no han quedado suficientemente limpios para eliminar la suciedad que hay en los bordes del fondo?

SOLUCIÓN

Si la suciedad está tan incrustada que no sale con el frotado mediante el uso de escobillas que pueden acceder a los recovecos, se puede hacer uso del baño de ultrasonidos, ya que con la vibración del agua con el detergente, la suciedad se soltará de las superficies.

02 Técnicas de desinfección

DEFINICIÓN

La **desinfección** es el procedimiento mediante el cual se destruye la mayoría de los microorganismos de un objeto o superficie, pero no se eliminan en su totalidad las esporas bacterianas.

Existen tres niveles de desinfección en función de la contaminación que queramos eliminar:

» **Desinfección de intensidad baja:** puede eliminar la mayor parte de las formas vegetativas bacterianas, algunos virus y hongos, pero no destruye esporas bacterianas.

» **Desinfección de intensidad media:** elimina todas las formas vegetativas bacterianas, la mayoría de los virus y bacterias, pero no destruye esporas bacterianas.

» **Desinfección de intensidad alta:** elimina todos los microorganismos, excepto algunas esporas bacterianas.

El procedimiento de desinfección puede hacerse mediante métodos físicos o químicos.

DESINFECCIÓN POR MÉTODOS FÍSICOS	Calentamiento	» Pasteurización: es la inmersión de un objeto en agua a 70 °C durante 10 minutos. » Ebullición: es la inmersión de un objeto en agua hirviendo (100 °C) durante 10 minutos. » Planchado: habitualmente la ropa se desinfecta planchándola a 100-150 °C durante 15 segundos.
	Irradiación con luz ultravioleta	Se emplea principalmente para desinfectar superficies lisas de trabajo. El tiempo de desinfección dependerá de la distancia de la lámpara de UV a la superficie que se desea desinfectar. Por ejemplo, para una superficie a 45 cm de la lámpara, se necesitan 15 minutos de luz UV. En los últimos años, se están diseñando equipos programados de encendido y apagado con ciclos de entre 15-30 minutos.
	Ultrasonidos	Su uso es el mismo que en el procedimiento de limpieza, pero la cubeta se llena con líquido desinfectante en lugar de agua y detergente.
	Filtrado con flujo laminar	Es el método empleado en las cabinas biológicas para mantener el ambiente aséptico en su interior.
DESINFECCIÓN POR MÉTODOS QUÍMICOS	Se emplean productos desinfectantes, que son sustancias químicas que eliminan la mayoría de microorganismos pero no la totalidad de esporas bacterianas, y pueden aplicarse sobre material inerte sin alterarlo. Cuando empleamos un desinfectante en materia viva, recibe el nombre de antiséptico (por ejemplo: agua oxigenada). Los desinfectantes pueden aplicarse mediante:	
	Inmersión	Se sumerge el objeto en la solución desinfectante el tiempo que indique el fabricante (habitualmente 10 minutos).
	Loción	Se frota el objeto con una esponja o bayeta con un producto desinfectante.
	Pulverización	Se rocían pequeñas gotas de desinfectante de manera uniforme sobre la superficie u objeto a desinfectar.

Tabla 1. Métodos de desinfección.

Los desinfectantes (algunos también empleados como antisépticos) más utilizados en el laboratorio son los siguientes: hipoclorito sódico (lejía), alcohol etílico al 70%, povidona yodada, glutaraldehído, clorhexidina, agua oxigenada, clorofenoles y detergentes catiónicos.



Fig. 2. Desinfección de material médico por luz ultravioleta (izda.). Tipos de povidona yodada (dcha., tomado de: www.betadine.es).

2 CASO PRÁCTICO



DESINFECCIÓN DE CABINAS DE SEGURIDAD BIOLÓGICA

Se te ha derramado una muestra de cultivo de *Candida albicans* en la cabina de seguridad biológica clase II, con lo que ya no puedes seguir trabajando porque se ha contaminado la cabina. ¿Qué método de elección emplearás para desinfectarla?

SOLUCIÓN

1. Primero debes limpiar con agua y detergente la superficie de trabajo.
2. Posteriormente, desinfecta por ejemplo con lejía (deja actuar unos 5 minutos).
3. Finalmente, hay que poner la lámpara de luz UV, que lleva incorporada la cabina, y dejarla actuar unos 20-30 minutos.

03 Técnicas de esterilización

La **esterilización** es el procedimiento mediante el cual se destruye la totalidad de los microorganismos de un objeto o superficie, **incluidas las esporas**.

El procedimiento de esterilización puede hacerse mediante métodos físicos o químicos.

3.1. Esterilización por métodos físicos

Existen cuatro tipos de esterilización por métodos físicos: por calor seco, por calor húmedo, por filtración esterilizante y por radiación ionizante.

A. Esterilización por calor seco

Se destruyen los microorganismos porque el calor seco oxida las proteínas y puede carbonizar la materia orgánica. Hay tres tipos:

- » **Estufas de esterilización.** Alcanzan los 200 °C. No pueden emplearse para materiales de plástico, goma, tejidos, etc., que no soporten altas temperaturas.
- » **Hornos de incineración.** Se realiza una carbonización de toda la materia, incluido el objeto. Se emplean para eliminar algunos objetos contaminados o cultivos.
- » **Flameado.** El objeto se expone a la llama de un mechero Bunsen (Figura 3) un mínimo 20 segundos. Se emplea principalmente en microbiología para esterilizar las asas de siembra y las bocas de los tubos o matraces.



Fig. 3. Mechero Bunsen.

B. Esterilización por calor húmedo

El vapor de agua tiene un alto poder de penetración, con lo que con menor temperatura se puede lograr lo mismo que con el calor seco. Además, el calor llega de manera uniforme a todas partes. Es el método de esterilización más usado en un laboratorio. El aparato que se emplea con esta técnica es el autoclave.

El **autoclave** (Figura 4) es un aparato metálico de paredes gruesas que se cierra herméticamente y que, gracias al vapor de agua (destilada) generado, consigue esterilizar los materiales y/o medios de cultivo situados en una cesta en su interior, debidamente embalados y marcados con una cinta de viraje o indicador químico (también se pueden emplear adicionalmente indicadores biológicos) que indicará si el proceso de esterilización ha sido el correcto.



Fig. 4. Esterilización de material en autoclave.

C. Filtración esterilizante

Se emplea principalmente para esterilizar líquidos (tampones, medios de cultivo, etc.) que son termolábiles y por ello no podemos emplear el autoclave. Se usan habitualmente filtros de membrana de fibra de vidrio que retienen las partículas y microorganismos no deseados (se estudiarán en la Unidad 8).

D. Radiación ionizante

La radiación ionizante es un tipo de radiación de alta energía con capacidad para ionizar la materia. Este tipo de radiación modifica la estructura celular y el ADN de los microorganismos, inactivándolos e impidiendo su multiplicación. Aunque existen diferentes tipos de radiación ionizante, los **rayos gamma** son los más utilizados para la esterilización de productos sanitarios, ya que son radiaciones muy energéticas y penetrantes, con lo que pueden esterilizar grandes cantidades de material aunque estén envueltos en plástico, cajas de cartón o madera. Por ello, es imprescindible que las instalaciones donde se lleva a cabo este método de esterilización estén muy bien aisladas. Se emplean principalmente en las empresas que fabrican puntas para micropipetas, placas Petri, filtros, jeringas, etc.

3.2. Esterilización por métodos químicos

Hay materiales y equipos que no soportan temperaturas superiores a 60 °C, al igual que quirófanos, suelos, paredes, mesas, armarios, etc., que como es evidente no podemos esterilizar con métodos físicos. En estos casos, se esteriliza mediante productos químicos a las concentraciones y tiempos indicados para que destruyan los microorganismos no deseados. El inconveniente principal es que estos productos son tóxicos para los trabajadores, con lo que hay que extremar las medidas de seguridad para su uso.

Los principales productos químicos que se emplean son los que vemos a continuación:

Óxido de etileno	Se genera gas de óxido de etileno en el interior de una cámara especial. Previamente se coloca en su interior el material empaquetado debidamente (por ejemplo, jeringas, catéteres, placas de Petri, etc.). Una vez generado el gas, se mantiene la cámara cerrada a 40 °C durante 3 a 4 horas.
Peróxido de hidrógeno (agua oxigenada)	Se emplea en forma de plasma (estado intermedio entre líquido y gas) dentro de una cámara muy similar al autoclave. Este método se está utilizando cada vez más, ya que no necesita calor, el proceso dura entre 55-75 minutos y no necesita ventilación posterior, puesto que no es tóxico. Su principal inconveniente suele ser el elevado coste.
Glutaraldehído	Es muy tóxico, por ello se usa en los casos en que es imprescindible, como por ejemplo para esterilizar aparatos y materiales en los que no se puede aplicar hipoclorito sódico (lejía) ni otro método de esterilización. Se suele emplear para esterilización de superficies en quirófanos y zonas de alto riesgo como suelos, paredes, armarios o mesas.

Esquema 1. Productos químicos empleados para esterilizar.

3.3. Indicadores de esterilización

Con el fin de saber si el procedimiento de esterilización se ha llevado a cabo correctamente, existen unos indicadores para verificarlo. Los principales tipos de **indicadores de esterilización** son los siguientes:

Químicos

Son sustancias impregnadas en un papel especial que cambian de color al calentarse. Las cintas de viraje o tiras indicadoras de esterilidad son los indicadores químicos más empleados en los procesos de esterilización. El problema que tienen es que no registran si la temperatura se ha mantenido de manera adecuada durante el tiempo recomendado.

Biológicos

Son envases que contienen esporas de *Bacillus stearothermophilus*. Si el proceso de esterilización ha funcionado correctamente, se consigue destruir todos los microorganismos y esporas y, por tanto, no crecerá nada al incubar estos envases tras el proceso de esterilización (autoclave, estufa, óxido de etileno, etc.).

Físicos

Son los registros que emite el propio aparato en el que se está realizando la esterilización (temperatura, presión, etc.).

Esquema 2. Indicadores de esterilización.



Fig. 5. Cinta de viraje (izda., tomado de: www.3m.com.es). Indicador biológico que contiene la bacteria *Bacillus stearothermophilus* (dcha.).



VÍDEO LAB

Para consultar el siguiente vídeo sobre la esterilización de materiales de laboratorio, escanea el código QR o [pulsa aquí](#).

3 CASO PRÁCTICO



ESTERILIZACIÓN MEDIO DE CULTIVO

Tras el ciclo de esterilización en el autoclave, la cinta de viraje indicadora no ha cambiado de manera uniforme de color. ¿Qué harás para asegurarte de que el material está estéril?

SOLUCIÓN

Hay dos opciones por las cuales la cinta de viraje podría no haber virado correctamente:

- La cinta de viraje no está en buenas condiciones.
- El ciclo de esterilización ha sido incorrecto por un problema con el autoclave.

En ambas opciones, para comprobarlo, hay que repetir el programa de esterilización y poner un indicador biológico. Si al incubarlo crece *Bacillus stearothermophilus*, el problema está en el autoclave; si no crece, es la cinta de viraje la que contiene el error.

04 Mantenimiento del material fungible

Como hemos estudiado, el material fungible es aquel que es de un solo uso o bien que, por su naturaleza, tiene una vida útil determinada. Para hacer un buen uso de este material, es importante saber cómo debemos realizar su mantenimiento, siguiendo las buenas prácticas de laboratorio y trabajando con las medidas de seguridad adecuadas.

IMPORTANTE

Para garantizar una limpieza óptima, debemos tener en cuenta los cuatro factores del **círculo de Sinner**: acción mecánica, acción química, temperatura y tiempo.

Recordemos que hay dos tipos de material fungible: el desechable y el reutilizable.

4.1. Material desechable

DEFINICIÓN

El material desechable es el de un solo uso, es decir, **de usar y tirar**.

Habitualmente, este material suele venir en envases que conservan su **esterilidad**, por lo que hay que tener en cuenta que en el momento de su apertura, pierde sus condiciones de asepsia. Por ejemplo, agujas, jeringas, cuchillas de bisturí, etc. Respecto a estos materiales desechables que son **punzantes** o **cortantes**, dado el riesgo que implican, deberemos depositarlos en contenedores rígidos específicos.

Si además llevan restos de alguna muestra biológica, como por ejemplo sangre, deberán desecharse al contenedor de riesgos biológicos. También se pueden someter a un proceso de desinfección o esterilización para posteriormente gestionarlos como residuos asimilables a urbanos.

La mayor parte del material desechable suele estar fabricado en **plástico** debido a que se abarata el coste y la gestión de residuos es más fácil de realizar.

4.2. Material reutilizable

El material reutilizable se engloba dentro del material fungible, puesto que, aunque **su vida útil es más larga** que la del material desechable, el uso en el tiempo y la limpieza continuada tras su uso lo van deteriorando. Además, su precio no es tan elevado como el del material inventariable.

El material reutilizable suele ser de **vidrio** o bien de plástico de alta calidad.

Tras cada uso, siempre hay que someterlo a un procedimiento de limpieza, el cual debe realizarse de forma correcta con el fin de eliminar la suciedad. Si no se lleva a cabo de manera adecuada, los restos de suciedad se irán acumulando, reduciendo su tiempo de vida útil y pudiendo dar lugar a resultados erróneos, bien por no poder hacer lecturas exactas del material volumétrico, bien por generar reacciones cruzadas en el análisis de muestras posteriores al uso inicial.

Si el material se emplea para la manipulación y análisis de muestras biológicas o microorganismos, además de la limpieza, hay que someterlo a un procedo de desinfección y esterilización si es necesario. De lo contrario, los resultados posteriores serán erróneos debido a las reacciones cruzadas, como acabamos de mencionar.

IMPORTANTE

Durante este proceso de mantenimiento, hay que tener especial cuidado con la **posible rotura** de los materiales, ya que nos podemos cortar y correr un riesgo biológico si el material ha estado en contacto con muestras biológicas y/o microorganismos.

También hay que tener especial cuidado con el material de vidrio que contenga alguna **grieta o golpe**, ya que se podría romper durante su manipulación y exponernos, al igual que antes, a un riesgo biológico o a un riesgo químico. Por ello, antes y después de cada uso, hay que revisar que el material no haya sufrido ningún daño.

Con respecto al material reutilizable de **plástico**, tenemos que tener en cuenta que su vida útil es mucho más corta que la del material de vidrio, ya que se degrada antes. Hay que vigilar el tipo de producto químico que ponemos en su interior, ya que el plástico no suele ser tan inerte como el vidrio. Además, los restos de muestras biológicas y microorganismos pueden quedar incrustadas en el plástico. Es por ello que para el tratamiento de este tipo de muestras se emplea material desechable preferiblemente y, en su defecto, material reutilizable de vidrio debidamente desinfectado y/o esterilizado.



Fig. 6. Material fungible desechable (izda.) Material reutilizable (dcha.).

4 CASO PRÁCTICO



COMPROBACIÓN DE LIMPIEZA

¿Cómo puedes comprobar que un vaso de precipitados está realmente limpio y en condiciones para su uso?

SOLUCIÓN

Para comprobar que un material volumétrico está limpio, además de la óptica, podemos llenarlo con un volumen exacto conocido, de tal forma que debería coincidir la lectura de dicho volumen. Además, las gotas de agua al vaciarlo no deberían quedar pegadas en las paredes, sino que deberían deslizarse fácilmente.

05 Mantenimiento del material inventariable

DEFINICIÓN

El material inventariable es aquel que tiene una vida útil larga, como pueden ser los **equipos de laboratorio** (centrífugas, neveras, balanzas, microscopios, etc.) y el **mobiliario** y otros equipos (taburetes, bancos de trabajo, mesas, ordenadores, etc.).

Para realizar un mantenimiento adecuado de este material y evitar que se estropee, se ha de cuidar debidamente. Para ello:

- » Se debe hacer un uso adecuado del material, siguiendo las instrucciones del fabricante.
- » Hay que limpiarlo correctamente si se derrama algún producto químico o muestra biológica. Además, hay que mantenerlo protegido del polvo, cubriéndolo con una funda adecuada.
- » Se deben realizar los mantenimientos oportunos que requiera cada equipo, mediante pruebas de verificación (verificaciones) y calibraciones:
 - Habitualmente, antes de cada uso se deben realizar verificaciones con productos patrón o de referencia que nos indican si el equipo está realizando las mediciones correctas. Por ejemplo medir el pH de una disolución conocida, medir la absorbancia de un patrón en el espectrofotómetro, pesar en la balanza pesos conocidos, etc.
 - De forma periódica o cuando se detecta que el equipo da lecturas erróneas durante las verificaciones, hay que hacer calibraciones, es decir, se regulan los equipos con productos patrón para que hagan lecturas correctas. Por ejemplo, se calibra un pH-metro diariamente con unas disoluciones de pH conocido (a su vez sirve de verificación).
- » Es necesario que queden registradas todas las operaciones de mantenimiento llevadas a cabo y deben ser planificadas acorde a las instrucciones del fabricante (mensual, trimestral, anual...).



Fig. 7. Ejemplos de calibración de material inventariable: balanza (izda.) y pH-metro (dcha.).

5 CASO PRÁCTICO



RIESGO BIOLÓGICO EN LA CENTRÍFUGA

¿Qué harías si se rompe un tubo con una muestra de sangre en la centrífuga?

SOLUCIÓN

Habría que limpiar y desinfectar de inmediato la centrífuga, ya que supone un riesgo biológico. Se retirarían las vainas del rotor donde se ha roto el tubo y primero se limpiarían con agua y detergente; posteriormente, se desinfectarían con lejía. Si hay algún otro elemento de la centrífuga que se haya podido contaminar debido a este accidente, se procedería de la misma manera, empleando paños o esponjas si son piezas o elementos pesados que no podemos llevar a la pila.

UAX FP