TEMA.1 PREPARACION DE MUESTRAS.

1. INTRODUCCION

El objetivo del laboratorio clínico, es la obtención de información sobre el estado de salud de una persona. Esta información puede utilizarse para establecer un diagnóstico, evaluar una evolución y/o pronóstico de una enfermedad, valorar la efectividad de un tratamiento, realizar un cribado en una población, etc. Para ello, a partir de muestras biológicas, se realizan pruebas en las que se miden una serie de magnitudes de diferente índole: bioquímicas, hematológicas, inmunológicas, microbiológicas, parasitológicas, toxicológicas, etc.

Para que el resultado final de una prueba de laboratorio sea correcto, no basta con que la determinación analítica se realice a la perfección, de acuerdo a procedimientos validados adecuadamente y bajo la supervisión de profesionales experimentados. La calidad de la prueba depende del cumplimiento en cadena de una buena práctica que comienza desde el momento mismo de la formulación de la petición y la preparación del paciente para la extracción u obtención de la muestra y termina cuando el resultado llega a manos del profesional que solicitó la prueba.

Así pues, una prueba analítica no es un mero "análisis de sangre", sino un proceso complejo en el que participan diferentes profesionales: los que rellenan el formulario de petición, los que preparan al paciente, obtienen la muestra, la transportan hasta el laboratorio, la reciben, la procesan, validan los resultados y hacen que estos lleguen a su destinatario en tiempo y forma. Todos estos profesionales, los que participan en la fase preanalítica, analítica y postanalítica son corresponsables del proceso y del resultado.

De ahí la importancia de controlar tanto extracción, toma y transporte de muestras biológicas en el laboratorio clínico.

2. FACTORES CONDICIONANTES DE LA MUESTRA

Existen factores preanalíticos que pueden afectar de forma decisiva a la calidad de los resultados finales. Algunos de los factores relacionados con el paciente son inmodificables y por tanto no controlables, es decir, no podemos actuar sobre ellos (sexo, edad, raza, embarazo, etc.), sin embargo la correcta identificación de los mismos puede ayudarnos a evitar interpretaciones erróneas. Existen otro grupo de factores preanalíticos que sí son modificables y sobre los que conviene actuar adoptando medidas de homogeneización que nos van a permitir minimizar la influencia que estos factores ejercen sobre el resultado final.

La determinación de ciertas magnitudes requiere una preparación previa por parte del paciente (dieta, medicación, ayuno, selección de día del ciclo menstrual, etc.) y en algunas ocasiones las muestras son recogidas por el paciente en su propio domicilio (orina, heces, etc.) por lo que es necesario que previamente reciba las instrucciones, verbales y por escrito,

necesarias para asegurar una correcta preparación.

En términos generales:

Ante cualquier extracción sanguínea es recomendable que el paciente realice un ayuno previo de 8-12 horas, si ello no está contraindicado.

Ante una prueba funcional, es recomendable que el paciente realice reposo continuo en cama y ayuno de 8 horas. Estas pruebas se realizarán bajo control médico, disponiéndose de los medios de controles adecuados (esfingomanómetros, tiras para la determinación de glucosa, etc.), y de los fármacos necesarios para interrupción de la prueba funcional si fuera preciso.

2.1 PREPARACIÓN DEL PACIENTE

a) Dieta y ayuno

La dieta y la ingesta de líquidos pueden tener influencia en varias magnitudes bioquímicas y hematológicas. Tras una comida se observan notables variaciones en la concentración de diversos componentes, glucosa, urea, triglicéridos, recuento leucocitario..., que aumentan considerablemente sobre los valores. Así como un incremento en las concentraciones pudiendo dar lugar a interferencias en la medida de algunos parámetros.

Por otra parte, la desnutrición y el ayuno prolongado también pueden alterar algunas magnitudes de manera clínicamente relevante (incrementos de urea, ácido úrico, creatinina..).

b) Ejercicio físico

El ejercicio físico reciente, también puede alterar notablemente el resultado de algunas magnitudes biológicas. Ello es debido a cambios hormonales, cambios en la distribución de volumen entre distintos compartimentos y a pérdida de volumen por sudoración. Entre los parámetros afectados están, entre otros, la urea, el ácido úrico, la glucosa, bilirrubina y recuento de leucocitos. El ejercicio enérgico puede ocasionar que leucocitos o hematíes puedan ser excretados en la orina.

c) Medicación

La toma de determinados medicamentos puede interferir en el resultado de numerosas magnitudes biológicas.

d) Otras interferencias:

La ingesta aguda o crónica de etanol, el hábito de fumar, y las drogas de adicción también provocan interferencias en las determinaciones del laboratorio por lo que deberían ser tenidas en cuenta en la interpretación de los resultados.

e) Determinaciones especiales:

Aparte de las medidas de carácter general existen determinaciones que precisan de una preparación específica y que deben ser consultadas en las Variables clínicas de la Cartera de Servicios del laboratorio.

2.2 CONSIDERACIONES PREVIAS A LA EXTRACCIÓN

a) Postura

Es un hecho bien conocido, que la posición del cuerpo influye en la concentración de los componentes de la sangre. Un cambio desde la posición horizontal a la vertical produce un movimiento de agua desde el compartimiento intravascular al intersticial: la consecuencia es una reducción del volumen plasmático (que puede llegar hasta el 12% en individuos normales), con el consiguiente aumento en la concentración sanguínea de componentes celulares y macromoleculares.

Por tanto, la extracción de sangre al paciente encamado, aumenta entre un 5% y un 15% la concentración de los componentes celulares (hemograma) y de las moléculas de gran tamaño del plasma (proteínas, enzimas, colesterol, triglicéridos...), con respecto a las concentraciones obtenidas en el mismo paciente en posición vertical.

Este efecto de la postura, puede pronunciarse aún más en pacientes con tendencia a presentar edemas (insuficiencia cardiaca, cirrosis hepática...).

b) Infusiones v Transfusiones

La contaminación de las muestras de laboratorio por soluciones de infusión intravenosa, es la forma de interferencia preanalítica más común y más relevante en el paciente hospitalizado. La transfusión sanguínea durante o en las horas previas a la extracción de sangre puede producir cambios en la concentración de potasio, en la LDH y otras magnitudes.

c) Intervenciones diagnósticas y terapéuticas

Numerosas pruebas diagnósticas e intervenciones terapéuticas pueden producir interferencias en las determinaciones analíticas de un laboratorio. La cirugía, punciones, biopsias, inyecciones intramusculares, endoscopia, utilización de medios de contraste, diálisis, radioterapia..., pueden inducir a un aumento de los llamados "reactantes de fase aguda" (Proteína C Reactiva, Fibrinógeno,...) Además, muchas de estas intervenciones diagnóstico- terapéuticas, producen ansiedad y stress emocional en el paciente, y los consiguientes cambios hormonales que pueden ser responsables de alteraciones, muchas veces subestimadas, en los resultados del laboratorio.

3. LA SEGURIDAD EN EL MANEJO DE MUESTRAS BIOLOGICAS.

1. Precauciones generales en el manejo de muestras

1.1 Prevención de la infección por vía aérea:

-Aerosoles: es muy importante prevenir la inhalación evitando la formación de aerosoles o protegiéndose en aquella situaciones, en que es de suponer, que se formen:

- Agitación de líquidos.
- Apertura de cultivos desecados.
- Asas de siembra. Si son grandes o defectuosas, pueden salpicar su contenido.
- Siembra de placas o extensión de muestras en portas, realizado, todo ello, con excesiva energía.
 - Flameado de asas de cultivo con restos de líquidos.
- Pipeteo. Soplar la última gota de la pipeta genera una gran cantidad de micro partículas .
 - Agitación de cultivos. Debe hacerse siempre con tubos cerrados.
- Centrifugación. La centrifugación genera aerosoles. Debe trabajarse con tubos cerrados y preferiblemente dispuestos en cestillos también cerrados. La rotura de un bote en una centrífuga es algo muy peligroso. Si los tubos están en cestillos cerrados, el riesgo disminuye.

- Tubos o placas Petri. La apertura de un tubo de cultivo genera aerosoles, lo que no ocurre con los cultivos en placa.

1.2 Prevención de la infección por vía digestiva:

No se debe fumar ni ingerir alimentos en el interior de los laboratorios. Tampoco deben acercarse a la cavidad bucal los extremos de los lápices ni pegar etiquetas.

En la medida de lo posible no se utilizarán pipetas de boca, estando totalmente prohibido su uso en el manejo de material infeccioso.

1.3 Prevención de la infección parenteral:

Las pipetas Pasteur pueden romperse, por lo que deben sustituirse por pipetas Pasteur de plástico.

Los tubos de cultivo deben manejarse con cuidado para evitar que se rompan. A veces el cuello del tubo presenta roturas potencialmente peligrosas.

2. Precauciones particulares en el manejo de muestras.

Todas las muestras de sangre y ciertos líquidos corporales son considerados potencialmente infecciosos, por lo que se recomienda que se tenga constantemente precaución ante ellos.

Los líquidos corporales a los que las Precauciones Universales y Standard no se aplican son: saliva, heces, secreciones nasales, esputos, sudor, lágrimas, orina y vómitos, a menos que contengan sangre visible. Las precauciones requieren el uso de barreras apropiadas, lo que incluye guantes, batas, máscaras y protecciones oculares, para prevenir la exposición de la piel y las mucosas cuando existe el peligro del contacto con sangre u otros líquidos corporales.

El personal que trabaja con muestras biológicas en su obtención, transporte y procesado, está sometido a un riesgo especial de adquisición de enfermedades, especialmente enfermedades infecciosas. Por este motivo, el CDC (Centers for Díseases Control and Prevention -Atlanta, USA-) redactó unas normas o guías de actuación para los profesionales de la salud, con la intención de minimizar este riesgo. Estas Precauciones Universales y Standard tomadas por el personal al que van dirigidas, incluyen actuaciones que se dan fuera del laboratorio pero son válidas e importantes para todos aquellos profesionales que manejan muestras biológicas para análisis:

- 1. Todos los trabajadores de la salud deben utilizar, de manera rutinaria, las adecuadas medidas de barrera para prevenir la exposición de la piel y las mucosas al contacto con muestras de sangre u otros fluidos del organismo. Siempre deben usarse guantes para el manejo de muestras orgánicas y para el contacto directo con la piel y las mucosas de los pacientes, así como para practicar venopunción (extracción de sangre). Los guantes deben cambiarse después del contacto con cada paciente. El uso de mascarillas o gafas protectoras se recomienda cuando se practican técnicas de obtención de muestras que incluyen la posibilidad de que salpiquen gotas de sangre u otros fluidos que pueden contactar con la piel y/o mucosas de la boca, ojos y nariz. Cuando se practican técnicas que pueden generar salpicaduras importantes de líquidos biológicos, deben utilizarse batas o delantales adecuados.
- 2. Todas las muestras de sangre y fluidos biológicos deben colocarse en contenedores con cierre de seguridad que impida el vertido durante el transporte. Hay que tener precaución de no contaminar el exterior del envase cuando se toma la muestra y se rellena el impreso de datos que la acompaña.
- 3. Las manos y otras superficies cutáneas deben lavarse inmediata y exhaustivamente si se contaminan con sangre u otros fluidos orgánicos. También deben lavarse cuando se retiran los guantes después de la manipulación de muestras y después de completar la actividad en el laboratorio. Asimismo el personal debe quitarse toda la ropa protectora utilizada antes de abandonar el laboratorio.
- 4. Todos los trabajadores deben tomar precauciones para prevenir las heridas causadas por agujas, escalpelos, hojas de bisturí y otros instrumentos cortantes utilizados para la manipulación, de muestras. Especialmente se aconseja no volver a enfundar las agujas después de su uso. Todos los instrumentos cortantes o punzantes desechables deben depositarse después de su uso en contenedores de desecho adecuados. El uso de agujas y jeringuillas debe limitarse a las situaciones en las que no hay alternativa y, en estos casos, minimizar los riesgos.
- 5. Para algunos estudios de rutina .en infecciosos, como los análisis histológicos o cultivos microbiológicos, se recomienda el uso de cabinas de seguridad, aunque sólo será imperativo cuando la muestra que se maneja pueda generar dispersión por gotas o aerosoles. Esto Incluye el mezclado, sonicación y agitación.
- 6. Para el pipeteo de líquidos de cualquier origen siempre deben utilizarse sistemas mecánicos, nunca pipetear con la boca.
- 7. Los materiales contaminados utilizados para los análisis, deben descontaminarse antes de ser reprocesados o, si son desechables, deben ser eliminados en contenedores adecuados para desechos infecciosos.
- 8. El aparataje o equipamiento del laboratorio que haya podido contaminarse con sangre u otras muestras, debe descontaminarse y limpiarse antes de ser reparado en el laboratorio o de ser trasladado a talleres o servicios técnicos.

- 9. Las superficies de trabajo del laboratorio deben descontaminarse adecuadamente con un, germicida químico después de vertidos de sangre u otros fluidos y siempre después de terminar el trabajo del laboratorio.
- 10. En caso de derrames o vertidos accidentales de sangre o fluidos que contienen sangre, se debe proceder de la siguiente manera:
- Ponerse unos guantes y, si es necesario, utilizar otros mecanismos de barrera (mascarilla, gafas...).
- Secar el derrame con toallas desechables y colocar estas en un contenedor para esterilización.
- Desinfectar la zona con un germicida o con lejía diluida entre 1/100 (para superficies lisas) y 1/10 (para porosas o sucias). La dilución de lejía no debe tener más de 24 horas.
- Cuando el vertido es muy extenso o contiene material punzante o cortante, cubrir primero todo el vertido con toallas desechables empapadas en germicida o lejía diluida 1/10 y dejar actuar por lo menos durante 10 minutos. A partir de este momento proceder como se ha descrito anteriormente.
 - En el laboratorio no se debe comer, beber o fumar en las zonas de trabajo.

TEMA 2.- OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

1. IDENTIFICACIÓN DEL PACIENTE Y DE LA MUESTRA

Antes de proceder a extraer la muestra se debe examinar solicitud para constatar que ha sido correctamente cumplimentada. En una solicitud debe constar, como mínimo, el nombre y dos apellidos del paciente, su edad o fecha de nacimiento, el código del médico peticionario y la firma del mismo, la fecha de extracción o recogida de la muestra, el diagnóstico o sospecha diagnóstica y las pruebas de laboratorio que se solicitan. Lo ideal es utilizar etiquetas identificativas del paciente, ya que esta incluye todos los datos que identifican inequívocamente al paciente.

La correcta cumplimentación de estos datos facilitará las actuaciones del Laboratorio y la correcta interpretación de los resultados. La no cumplimentación de estos datos podrá ser motivo de rechazo por parte del Laboratorio.

Recuerda que toda solicitud incompleta conlleva un retraso en la recepción de los resultados y puede hacer necesaria una nueva extracción en caso de que haya dudas sobre la identidad del paciente o de la muestra. La confusión en los nombres o el intercambio de peticiones o muestras entre dos pacientes puede tener muy serias consecuencias en su diagnóstico o/y tratamiento.

En el momento de la extracción de sangre, es necesario cerciorarse, sin lugar a dudas, de que el paciente al que se va a realizar la extracción es el mismo cuyos datos figuran en la solicitud.

Cuando se solicitan en la misma hoja de petición determinaciones en muestras de sangre y orina u otros líquidos biológicos se esperará a tener todas las muestras para remitirlas al Laboratorio o se cumplimentará una solicitud para cada una de ellas.

En las hojas de petición en que se soliciten determinaciones analíticas seriadas (perfiles glucémicos, pruebas de estimulación—supresión, etc.) debe constar la hora en que han de realizarse las mismas y el tipo de sobrecarga si procede.

La muestra debe quedar perfectamente identificada en el momento de la extracción, con la misma etiqueta de código de barras de la solicitud correspondiente a ese paciente o, en su defecto, el nombre y dos apellidos.

2. TUBOS Y CONTENEDORES

Dependiendo de las determinaciones analíticas solicitadas la muestra se recogerá en diferentes tubos y contenedores:

- TUBOS DE SANGRE

a. Tubo sin aditivos: Utilizados para la obtención de suero (pruebas de Bioquímica, serología, metabolismo del hierro...); no llevan anticoagulante aunque sí contienen (no obligatoriamente) activadores, que facilitan la retracción del coágulo, y gel separador, que facilita la separación de suero y coágulo tras la centrifugación.

Con ella se obtiene el suero, tras dejar reposar la sangre recién extraída al menos 10 minutos a temperatura ambiente para que se forme el coágulo y centrifugar.

b. Tubo EDTA: Contiene como anticoagulante el EDTA K3 (sal tripotásica del ácido etiléndiamino-tetraacético). Es el tubo utilizado para la hematimetría (hemogramas), Banco de Sangre y otras pruebas.

Con ella se obtiene sangre total anticoagulada.

- **c. Tubo Heparina de Litio**: Contiene como anticoagulante la Heparina de Litio. Se utiliza para realizar determinaciones bioquímicas y algunas técnicas especiales. Con ella se obtiene sangre total anticoagulada.
- **d. Tubo Citrato (para coagulación)**: Contienen como anticoagulante citrato trisódico. El citrato viene en una cantidad prefijada para mezclarse con un volumen fijo de sangre; la exacta proporción de sangre y anticoagulante es crucial en la realización de las pruebas de coagulación, ya que si no es la adecuada, los resultados se alteran.

Con ella se obtiene el plasma, tras centrifugación de la sangre anticoagulada.

e. Tubo Citrato (para VSG): Contiene también como anticoagulante citrato trisódico, aunque la concentración es distinta que en el citrato de coagulación. Se utiliza exclusivamente para la determinación de la Velocidad de Sedimentación Globular.

Con ella se obtiene sangre total anticoagulada.

3. EXTRACCIÓN DE SANGRE

Una correcta extracción de sangre es parte fundamental del proceso analítico. Y se debe incidir en la importancia de registrar las "incidencias de extracción" en el lugar adecuado de la Historia Clínica. Una de las incidencias de extracción más importantes de registrar, es la hora exacta de extracción, pues puede ser importante en la interpretación de los resultados y en la adopción de medidas terapéuticas.

Repasemos las distintas formas de extracción de sangre, haciendo hincapié en aquellos pasos que puedan tener especial trascendencia en el posterior proceso analítico.

Recuerde que una extracción mal realizada, o realizada en el momento equivocado, puede ser peor que no tomar ninguna muestra.

a) Extracción Venosa

- <u>El Torniquete</u>: se realiza para facilitar la localización de una vena apropiada para realizar la punción. Normas para la realización del torniquete:
- 1) Aplicar el compresor en el brazo a una distancia de unos 8–10 cm. de la zona de punción.
- 2) El objetivo es suprimir completamente el flujo venoso sin interrumpir el flujo arterial: el pulso debe ser palpable en la arteria radial y, desde luego, no se debe observar cianosis distal. Un torniquete demasiado prieto puede ocasionar una falsa hiperpotasemia.
- 3) No mantener el torniquete durante mucho tiempo: tiempos de compresión prolongados (más de 3 minutos) pueden producir cambios significativos en la concentración de células y macromoléculas en la sangre extraída, especialmente si se mantiene el torniquete durante la extracción. Lo ideal es un tiempo de compresión no mayor de un minuto con liberación del compresor cuando la sangre comienza a fluir.

Recuerde que torniquetes demasiado prietos y prolongados pueden producir alteraciones de determinadas magnitudes bioquímicas y hematológicas.

- La Flebotomía: Los pasos imprescindibles para una buena extracción venosa son:
 - 1) Leer atentamente las hojas de petición y preparar el material necesario (aguja, portatubos, compresor, tubos de vacío necesarios, desinfectante, gasas...).
 - 2) Posicionar al paciente (sentado o tendido).
 - 3) Antes de iniciar las extracciones preguntar al paciente su nombre y apellidos, comprobando que coinciden con los indicados en las hojas de petición.
 - 4) Preguntar al paciente si ha realizado ayuno de 8-12 horas, así como la cumplimentación de la preparación previa si es necesario.
 - 5) Explicar el proceso de extracción.
 - 6) Inspección y palpación de la vena: El brazo del paciente debe estar estirado. Examine el brazo y seleccione una vena mientras el paciente aprieta el puño con fuerza.

- 7) La inspección debe realizarse con un orden predeterminado:
- a. Fosa antecubital de ambos brazos (venas medianas, venas basílicas, venas cefálicas)
 - b. Antebrazo (vena cefálica)
 - c. Dorso de las manos (venas del dorso de las manos).
- 8) Las venas son, en general, fácilmente palpables. Un minucioso examen visual acompañado de una palpación cuidadosa proporciona datos sobre la constitución y el tipo de vena, así como sobre su localización y dirección. En caso de que las venas del antebrazo y fosa antecubital no sean bien visibles ni palpables, se recomiendan las siguientes medidas que dilatan las venas y aseguran una mejor circulación sanguínea:
 - Abrir y cerrar el puño varias veces después de aplicar el torniquete,
- Colocar el brazo del paciente hacia abajo y dar masaje desde la muñeca hasta la fosa antecubital,
 - Golpear ligeramente con los dedos índice y medio la zona de punción,
 - Aplicar calor en el brazo.
 - 9) Desinfectar el lugar de la flebotomía con alcohol del 70%, excepto en el caso de la determinación de alcoholemia que se utilizará cualquier desinfectante que no contenga alcohol. Una vez desinfectada la zona de punción ya no se debe palpar de nuevo la vena.
 - 10) Aplicar el torniquete mientras canalizamos la vena, excepto para el Acido Láctico. Retirarlo en el momento que la sangre comienza a fluir en el primer tubo, pues se debe evitar la estasis venosa.
 - 11) Punción Venosa: durante la punción el portatubos debe estar colocado en un ángulo aproximado de 15º con respecto al brazo. La aguja debe introducirse a lo largo del curso de la vena hasta que su apertura esté totalmente en el interior de la vena. La punción en el dorso de la mano debe realizarse con una aguja de tamaño y grosor adecuado; en caso de venas muy finas, debe utilizarse una aguja fina de palomilla, en cuyo caso el sistema de extracción se conecta a la palomilla por medio de un adaptador.
 - 12) Extracción de Sangre: Se introduce el tubo en el portatubos. El dedo índice y medio se sitúan en las aletas del portatubos y el pulgar presiona completamente el tubo dentro del portatubos. En venas normales, en cuanto la sangre comienza a fluir dentro del tubo, el torniquete puede retirarse. Si la vena es muy fina, el torniquete debe mantenerse. Se pedirá al paciente que abra el puño. Para extraer el tubo lleno del portatubos, ejercer una presión contraria con el pulgar sobre las aletas del portatubos; esto evita que la aguja cambie de posición y facilita la extracción del tubo.

- 13) Mezclado: Asegurarse de que el sistema de vacío ha recogido el volumen de sangre adecuado: una exacta proporción de sangre y anticoagulante es fundamental en el proceso analítico. Mezclar los tubos recién extraídos varias veces por inversión para asegurar una perfecta mezcla de la sangre con el anticoagulante o los activadores de la coagulación.
- 14) Prevención de hemorragia: mientras se retira la aguja se aplicará una gasa o algodón, haciendo presión, sobre la zona de punción. A continuación, se aplicará un apósito y se indicará al paciente que mantenga el brazo levantado durante unos minutos.
- 15) Eliminación de residuos peligrosos: La aguja se depositará en una unidad de recolección y eliminación de residuos de seguridad.
- 16) Identificación de la muestra: bien con una etiqueta de código de barras, bien con el nombre y apellidos del paciente, procedencia e identificación numérica se realizará en el mismo lugar de la extracción. La persona que realice la extracción deberá firmar la solicitud, anotando cualquier incidencia ocurrida en la extracción.

b) Extracción Arterial

Los sitios más comunes de punción arterial son las arterias femoral, braquial o radial.

En recién nacidos o en lactantes pueden utilizarse otros lugares, como la arteria umbilical o las arterias del cuero cabelludo.

La punción arterial es necesaria fundamentalmente para la realización de gasometrías, ya que los resultados de la gasometría venosa son generalmente poco valorables.

La punción arterial es un procedimiento delicado, que requiere notable experiencia. La sangre obtenida por punción arterial debería procesarse inmediatamente después de extraída, por lo que, lo ideal, es contar con equipos de gasometría en la propia sala donde se realiza la extracción. En todo caso, el traslado al laboratorio debe ser lo más rápido posible, pues los resultados son tanto más fiables cuanto con mayor rapidez se analice la muestra.

c) Extracción Capilar

La obtención de sangre por punción cutánea es el procedimiento de elección en niños pequeños en los que la venopunción puede ser difícil y traumática. Además, de esta manera, se extraen pequeñas cantidades de sangre: hay que tener en cuenta que en recién nacidos, especialmente si son de bajo peso, la extracción repetida de muestras analíticas es causa de anemización significativa que, no infrecuentemente, pueden obligar a transfundir para reponer las considerables pérdidas sanguíneas. También en <u>adultos</u> puede ser el procedimiento de extracción de elección en algunos casos (por ejemplo para control de la glucemia a la cabecera del paciente).

La sangre obtenida por punción cutánea <u>es una mezcla</u> de sangre procedente de arteriolas, vénulas y capilares con mayor o menor dilución con fluido intersticial e intracelular.

Normas para la extracción de sangre capilar:

- 1) Seleccionar el lugar de la punción: Los lugares para la obtención de sangre capilar son la superficie palmar de la falange distal de cualquier dedo (mayores de 1 año) y la superficie plantar lateral o medial del talón (menores de 1 año). No se hará la extracción en un dedo frío, cianótico, hinchado o con una cicatriz.
- 2) Desinfectar la zona dejando que se seque el líquido desinfectante, ya que puede causar hemólisis.
- 3) Realizar la punción con una lanceta desechable.
- 4) Recogida de la sangre. La primera gota que fluye después de la punción cutánea deberá ser descartada, retirándola con una gasa estéril. Aplicando una ligera presión, pero sin exprimir el lugar de la punción, se irán recogiendo las gotas de sangre (que debe fluir libremente) tocándolas con el borde del recolector, dejándolas que fluyan por capilaridad al tubo de micromuestra.
- 5) Al terminar la recolección (el tubo tiene una suficiente cantidad de sangre) se cerrará con firmeza. Los tubos que contienen anticoagulante deben mezclarse muy bien invirtiéndolo al menos 10 veces. Si se trata de capilares, éstos deben estar libres de burbujas de aire. Prevención de la hemorragia: presionar la zona de punción con una gasa estéril hasta que deje de sangrar.
- 6) Depositar la lanceta usada en un contenedor de seguridad.
- 7) No olvidar hacer una correcta identificación del paciente (especialmente importante en niños pequeños con los que no nos podemos comunicar) y de la muestra.

d) Toma de muestra de sangre en recién nacidos (prueba del talón):

- 1) Rellenar toda la información. Para evitar la contaminación de los círculos del papel de filtro, no se permitirá que los círculos entren en contacto con derrames ni tampoco se tocarán ni antes ni después de la toma de sangre. Si corresponde guardar la "COPIA DEL REMITENTE".
- 2) La extracción se realizará en una de las zonas laterales del talón (superficie plantar lateral o medial del talón). Calentar el área durante tres a cinco minutos con un paño suave, humedecido con agua tibia a unos 41°C.
- 3) Limpiar el área con una toallita empapada en alcohol. Secar con una almohadilla de gasa estéril.

- 4) Haga una punción en el talón con una lanceta. Limpiar la primera gota de sangre con una almohadilla de gasa estéril. Dejar que se forme otra gota grande de sangre.
- 5) Tocar la gota grande de sangre levemente con el papel de filtro. Dejar que la sangre se absorba y que se llene el círculo por completo con una sola aplicación a la gota grande de sangre. (Para aumentar el flujo de sangre, puede aplicarse una muy leve presión de forma intermitente en el área que rodea el sitio de punción). Aplicar la sangre solamente a uno de los lados del papel de filtro.
- 6) Llenar los círculos restantes de la misma manera que se hizo en el paso anterior, con gotas de sangre sucesivas. Si se reduce el flujo de sangre, repetir los pasos 3 a 5.
- 7) Secar los puntos de sangre en una superficie plana no absorbente, que esté seca y limpia, a temperatura ambiente, evitando exposición al sol o foco de calor.
- 8) Enviar el formulario relleno al Laboratorio dentro de las 24 horas siguientes a la toma de sangre.

TEMA 3. EXTRACCION DE MUESTRAS EN BIOQUIMICA.

1. EXTRACCIÓN DE MUESTRAS: ORINA, LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO Y OTROS LÍQUIDOS ORGÁNICOS, HECES, SALIVA, MUESTRAS ESPECIALES

a) Orina

- Orina de una sola micción (Elemental de orina)

La muestra idónea es la primera micción de la mañana, ya que es la más concentrada. No obstante, en determinaciones urgentes, se recogerá la primera orina que realice el paciente. Es suficiente un volumen de orina de 5-10 ml.

Normalmente el propio paciente recogerá la muestra de orina por lo que se le debe explicar los pasos a seguir:

- 1) Se lavará las manos con agua y jabón.
- 2) A los hombres, se les indicará que deben retraer completamente el prepucio, manteniéndolo retraído hasta que se haya recogido la muestra de orina. A las mujeres se les explicará que deben sujetar el frasco sin que éste tome contacto con la vulva, la pierna o la ropa.
- 3) La orina debe recogerse, tras desechar los primeros 20-25 ml., en recipientes estériles.

En niños y niñas mayores, la recogida se realiza de forma similar a la de los adultos. En los niños más pequeños se recogerá en colectores o bolsas estériles especialmente diseñadas para ello. La sistemática es:

- 1) Lavado de los genitales y área perineal con agua y jabón.
- 2) Colocar la bolsa de plástico o el colector.
- 3) Vigilar la bolsa cada 30 minutos, y tan pronto como el niño haya orinado, se retirará y enviará al laboratorio. Si la micción no se ha realizado en una hora, se repite la operación colocando una nueva bolsa.

En pacientes ingresados con imposibilidad de recoger la muestra por sí mismos, se procederá a realizar sondaje vesical con las medidas asépticas habituales.

En pacientes con sonda vesical permanente la recogida de orina se realizará de la siguiente manera:

- 1) Limpiar una zona del catéter con una gasa humedecida en alcohol o solución yodada; dejar secar completamente.
- 2) Pinchar directamente el catéter con aguja y jeringa a través de la zona desinfectada, aspirando 5-10 ml.

3) Pasar la orina a un recipiente estéril. No recoger <u>nunca</u> orina de la bolsa de recolección.

- Orina de 24 horas:

La orina excretada durante 24 horas se utiliza para la determinación de algunas magnitudes bioquímicas cuyo cálculo depende de la cantidad exacta de orina emitida en ese período de tiempo.

La recogida se realiza en contenedores de 2.000 ml de capacidad, de boca ancha, especialmente diseñados para tal fin. No son válidos otro tipo de recipientes.

Si el paciente va a recoger la orina en su casa, es fundamental explicarle claramente el procedimiento que debe seguir para hacer una correcta recogida de la muestra.

b) Líquido Cefalorraquídeo (LCR)

La obtención del LCR la debe realizar personal facultativo experimentado, por punción lumbar. Se recogerá en tubos estériles de tapón a rosca.

Generalmente, el primer tubo será para estudio bioquímico, el segundo para estudio microbiológico y el tercero para investigación de células (éste suele ser el más transparente aunque la punción haya sido traumática). No obstante, es buena práctica enviar a microbiología "el tubo más turbio".

Para el estudio bioquímico rutinario es suficiente un volumen de 1 ml, aunque es preferible disponer de mayor cantidad. Para microbiología, especialmente si se van a investigar hongos, micobacterias o virus, es deseable extraer volúmenes de más de 2 ml.

c) Otros Líquidos Orgánicos (Peritoneal, Pleural, Articular, Pericárdico)

La obtención la realiza personal sanitario experimentado por punción percutánea, con las debidas medidas asépticas y recogiéndose en frasco estéril.

Para determinaciones bioquímicas el volumen mínimo necesario oscila entre 2 y 10 ml. Si es necesario evitar la coagulación de alguno de estos líquidos se utilizará heparina libre de conservantes (5-10 unidades/ml). El recipiente idóneo es un tubo estéril de tapón de rosca.

Para determinaciones hematológicas (leucocitos, hemoglobina, hematocrito...) se recogerá en un tubo de tapón malva (anticoagulante: EDTA), indicando muy claramente en la solicitud de qué líquido orgánico se trata. El volumen, en este caso, será el que marca la etiqueta del tubo.

Para determinaciones microbiológicas: se depositará el líquido en frasco

estéril con cierre hermético y se enviará lo antes posible al Laboratorio.

d) Heces

Las heces deben recogerse en frascos, bien limpios, de boca ancha y cierre hermético o en los recolectores específicos destinados al efecto.

Las pruebas más frecuentemente realizadas en heces es la determinación de sangre oculta en heces: Se deben recoger tres muestras seriadas de días diferentes en tres frascos distintos.

e) Saliva

- 1. Utilizar tubos de 14 x 75 mm.
- 2. Aspirar la saliva con pipeta Pasteur y depositar en el tubo, hasta aproximadamente un volumen de 1 ml.

f) Muestras especiales

En esta sección consideraremos otras muestras que, al ser menos habituales, pueden ser objeto de consultas frecuentes al laboratorio. Se trata de las siguientes:

- Amniocentesis:

La obtención de líquido amniótico debe realizarse por personal facultativo experimentado con amplios conocimientos de ecografía precoz.

En todo momento deben observarse todas las medidas de esterilidad, incluyendo guantes estériles, lavado con solución antiséptica, gasas y campos estériles. El punto de inserción de la aguja en la piel debe limpiarse con una solución antiséptica.

No debe realizarse más de tres intentos de punción. Si no se puede obtener muestra, tras tres intentos, puede intentar repetirse al menos transcurridas 24h.

- Semen:

La muestra seminal debe recogerla el propio paciente por autoestimulación genital directamente en un frasco de plástico estéril. Debe recogerse la totalidad del volumen de un eyaculado. La muestra no será válida si se derrama o pierde parte de la misma. La recogida de la muestra deberá ser lo más aséptica posible realizándose un cuidadoso lavado previo de manos y genitales, para evitar posibles contaminaciones.

- Médula Ósea:

La extracción de médula ósea deberá ser realizada únicamente por personal facultativo debidamente entrenado.

2. NORMAS DE SEGURIDAD E HIGIENE

Todas las muestras deben considerarse como potencialmente infecciosas. Utilice siempre guantes cuando extraiga y maneje muestras biológicas y lávese bien las manos antes y después de su recogida.

Sea cuidadoso en el manejo de agujas de punción. Evite reencapuchar las agujas. Elimine todos los objetos cortantes y punzantes en los recipientes especiales destinados a este fin.

Los tubos de recolección de muestras que contienen sangre y que no se van a enviar al laboratorio, o los restos de bolsas de sangre, deben colocarse en recipientes de desechos biopeligrosos. Los fluidos corporales voluminosos, tales como orina, heces, vómitos y otros pueden ser eliminados por vertido al inodoro.

TEMA 4. CONSERVACIÓN Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS

1. CONSERVACIÓN Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS

Las muestras acompañadas de las correspondientes solicitudes, deben remitirse a la Unidad de Recepción de Muestras por los distintos sistemas habilitados dependiendo de:

- Su Procedencia
- El Laboratorio de destino

Las muestras, una vez recogidas, deberían permanecer el mínimo tiempo posible antes de ser enviada al laboratorio correspondiente. El tiempo óptimo entre la extracción de la sangre y su recepción en el laboratorio debería ser inferior a una hora. Estos retrasos en la recepción pueden ser causa de alteraciones en determinadas magnitudes bioquímicas y hematológicas. Por ejemplo, la concentración de glucosa puede disminuir hasta un 10% en una muestra de sangre almacenada durante dos horas a temperatura ambiente; un frotis de sangre periférica requiere ser realizado dentro de las tres primeras horas desde la extracción para que los leucocitos conserven bien su morfología; la Velocidad de Sedimentación Globular comienza a variar a partir de las 4 horas de extracción, etc.

En el transporte de muestras se debe tener siempre en cuenta, que cualquier tipo de espécimen representa un riesgo biológico. Para el transporte de las muestras de diagnóstico, el paquete a transportar tiene que cumplir una serie de requisitos en relación al etiquetado o su señalización. Para el transporte por vía terrestre, tienen que aplicarse los requisitos exigidos por el acuerdo ADR (2009).

De forma general, el sistema de embalaje/envasado que deberá utilizarse para todas las sustancias infecciosas, es el sistema básico de embalaje/envasado triple P650 que comprende las tres capas siguientes:

- Recipiente primario. Un recipiente impermeable y estanco que contiene la muestra. El recipiente se envuelve en material absorbente suficiente para absorber todo el fluido en caso de rotura.
- Embalaje/envase secundario. Un segundo embalaje/envase estanco, impermeable y duradero que encierra y protege el recipiente o recipientes primarios. Se pueden colocar varios recipientes primarios envueltos en un embalaje/envase secundario, pero se deberá usar suficiente material absorbente para absorber todo el fluido en caso de rotura.
- Embalaje/envase exterior. Los embalajes/envases secundarios se colocan en embalajes/envases exteriores de expedición con un material amortiguador adecuado. Los embalajes/envases exteriores protegen el contenido de los elementos exteriores, como daños físicos, mientras el bulto se encuentra en tránsito. Ninguna de las caras del embalaje/envase exterior tendrá dimensiones inferiores a 10 x 10 cm.

Normalmente, cada embalaje/envase preparado para su expedición deberá estar correctamente marcado y etiquetado e ir acompañado de los documentos de envío pertinentes.

2. CRITERIOS PARA EL RECHAZO DE UNA PETICIÓN ANALÍTICA POR EL LABORATORIO

Los mejores sistemas de medición en el laboratorio pueden quedar invalidados si los resultados no pueden llegar a la historia del paciente por una inadecuada identificación del mismo, de las muestras, del médico responsable o del lugar al que deben ser enviados.

De igual forma, una preparación inadecuada del paciente, errores o mala práctica en la obtención de las muestras, o el incorrecto transporte de las mismas pueden ocasionar interferencias y resultados "erróneos" que deben ser evitados.

Una petición analítica puede ser rechazada por el Laboratorio por uno de los siguientes motivos:

- 1. Petición mal cumplimentada
- 2. Muestra mal identificada
- 3. Muestra incorrecta
- 4. Muestra inexistente
- 5. Muestra insuficiente
- 6. Muestra coagulada
- 7. Muestra deteriorada
- 8. Muestras mal obtenidas por el paciente
- 9. Relativos al transporte de las muestras

1. Petición mal cumplimentada

La solicitud carece de uno o más de los siguientes datos:

- Nombre y apellidos del paciente (o no son legibles)
- Fecha de nacimiento (o edad)
- Número de Historia Clínica (u otro tipo de identificación numérica)

- Diagnóstico previo (de sospecha o de certeza)
- Código y firma del facultativo que realiza la petición
- Fecha de la petición
- Código de destino (o destino escrito)
- Determinaciones analíticas que se solicitan
- Hojas de petición erróneas, sin petición, sin etiquetado de copias, etc.
- No se anota en la solicitud la diuresis, cuando se envía al Laboratorio una alícuota de la orina de 24 horas.

2. Muestra mal identificada

Se considera que una muestra no está bien identificada en las siguientes circunstancias:

- La muestra no está identificada (no tiene código de barras o nombre, apellidos y número de Historia Clínica).
- El código de barras de la solicitud y de la muestra son distintos.
- El código de barras no está bien colocado, está despegado, o ha sido manipulado.

3. Muestra incorrecta

- El tubo enviado no es el adecuado para la petición analítica solicitada.
- Preparación inadecuada del paciente.

4. Muestra inexistente

- No se adjunta en el envío de petición analítica el tubo o contenedor correspondiente a una o varias de las determinaciones solicitadas.

5. Muestra insuficiente

Debido a dos posibilidades:

- La cantidad de muestra extraída no alcanza el nivel adecuado, una exacta proporción de sangre y anticoagulante es fundamental en el proceso analítico, esta es una de las causas de rechazo más frecuentes de la petición de estudio de coagulación.
- La cantidad de muestra extraída no es suficiente para realizar todas las pruebas analíticas solicitadas.

6. Muestra Coagulada

La muestra presenta coágulos visibles en un tubo con anticoagulante (EDTA, Heparina, Citrato).

Si una muestra se coagula inmediatamente después de la extracción, se debe, generalmente a una extracción dificultosa o a una mezcla insuficiente de la sangre con el anticoagulante; se debe proceder a una nueva extracción, y desde luego, no se debe nunca extraer el coágulo y enviar el tubo "sin coágulo" al laboratorio pues ello puede ocasionar resultados analíticos falsos que pueden ocasionar importantes problemas diagnósticos o terapéuticos al paciente.

7. Muestra deteriorada

Son aquellas muestras que se han estropeado durante el transporte (se rompe, se derrama, se descongela, se extravía...) o en su manipulación dentro del laboratorio (rotura en la centrifugación, extravío...).

8. Muestras mal obtenidas por el paciente

Se considera que una muestra no está bien obtenida en las siguientes circunstancias:

- No se siguen las instrucciones dadas verbalmente y por escrito (preparación del paciente, obtención de la muestra,...).
- Muestra incompleta.
- Recipiente inadecuado.

9. Relativas al transporte de las muestras

- Excesivo intervalo entre la obtención de la muestra y su recepción en el Laboratorio.
- Temperatura inadecuada de transporte.
- Recipiente roto.
- Muestra parcialmente derramada y/o hojas de petición manchadas.

Cuando se produzca algún criterio de rechazo, en el "Laboratorio de Rutina", la petición será devuelta a su origen para que se hagan las oportunas correcciones. En el Laboratorio de Urgencias, se comenzará a procesar la petición, pero no se enviarán los resultados hasta que la petición no esté debidamente cumplimentada, especialmente si existe alguna duda sobre la identificación del paciente, de la muestra o del destino al que deben enviarse los resultados.

El rechazo por el Laboratorio de una petición analítica obedece a una máxima en la práctica del Laboratorio Clínico: "Es mejor no dar un resultado analítico que dar un resultado erróneo"

TEMA 5. MANTENIMIENTO DE EQUIPOS

1. INTRODUCCION

Para asegurar la calidad en un laboratorio es necesario que todos los equipos estén en las condiciones óptimas. A continuación, expondremos una serie de requisitos básicos que deben cumplir los laboratorios:

- 1. El laboratorio deberá estar provisto de todos los equipos necesarios para la ejecución correcta de los ensayos y mediciones. Entendemos como «equipo»:
- -Instrumentos de medida.
- -Instrumentos de ensayo.
- -Instalaciones (cámaras climáticas, etc).
- -Consumibles.
- -Materiales de referencia.

Todos estos equipos se mantendrán adecuadamente y siempre deberán estar disponibles los detalles sobre los procedimientos de mantenimiento.

Por otra parte, el laboratorio sólo utilizará equipos adecuados para la ejecución de ensayos. Para ello deberá establecer requisitos para la compra, recepción, mantenimiento y calibración de sus equipos.

Se entenderá por mantenimiento:

- Mantenimiento correctivo: aquellas operaciones de mantenimiento encaminadas a corregir los fallos, deterioro, averías o mal funcionamiento de los equipos.
- Mantenimiento preventivo: aquellas operaciones de mantenimiento periódico y programado encaminadas a prevenir fallos, deterioros, averías o mal funcionamiento de los equipos.

El laboratorio dispone de un «**Plan de Mantenimiento**» que cubre a todos sus equipos; en éste, se definen todas las actividades a realizar y su periodicidad.

El mantenimiento de los equipos se realizará de acuerdo con instrucciones escritas. Pueden ser válidas las instrucciones suministradas por el fabricante si son adecuadas y completas.

Conviene distinguir entre «mantenimiento» y «alibración» como dos actividades distintas, aunque en ocasiones pueden realizarse consecutivamente.

 Cualquier equipo que haya sufrido una sobrecarga, haya sido objeto de un uso inadecuado, proporcione resultados dudosos, resulte defectuoso al realizar su calibración o por cualquier otro medio, deberá ser puesto fuera de servicio, etiquetado claramente con esta circunstancia y almacenado en un lugar especificado, hasta que haya sido reparado y reconocido como apto, mediante ensayo o calibración, para realizar su función de manera satisfactoria.

El laboratorio describirá las medidas adoptadas para asegurar que el equipo que haya sufrido sobrecarga o mal uso, o se encuentre deteriorado, averiado o que por otro motivo sea considerado como "no conforme". Dichas medidas incluirán como mínimo su identificación como fuera de servicio.

- 3. En el Laboratorio habrá un registro actualizado de todos los equipos de medición. Este registro estará comprendido por los siguientes datos:
- a) Nombre del equipo.
- a) Nombre del fabricante, la identificación del tipo y el número de serie.
- b) La fecha de recepción y la puesta en servicio.

Fecha de servicio: se indicará la fecha en que el Responsable Técnico da el visto bueno a la recepción del equipo (comprobación del cumplimiento de las especificaciones de la compra).

Fecha de puesta en servicio: se indicará la fecha en que el Responsable Técnico establece que el equipo está disponible para la realización de su función dentro del laboratorio. Previamente deberán llevarse a cabo las siguientes actividades:

- Acondicionamiento de la ubicación (alimentación, ambiente, etc.).
- Instalación.
- Ensayos de recepción (si proceden).
- Calibración (si procede).
- c) La ubicación habitual.
- d) Su estado, cuándo fue incorporado (nuevo, usado, reacondicionado).
- e) Detalles sobre el mantenimiento utilizado. Referencia a la instrucción específica de mantenimiento y periodicidad de realización.
- f) Historial de cualquier daño, mal funcionamiento, modificación o reparación.
- 4. Los equipos de medición y ensayo utilizados en el laboratorio que lo precisen, deberán calibrarse antes de su puesta en servicio y, posteriormente, cuando sea necesario de acuerdo con el programa de calibración establecido.

Para ello el laboratorio tendrá un «Plan de Calibración» de sus equipos que defina las actividades a realizar y su periodicidad.

La calibración de los equipos se realizará de acuerdo con las instrucciones escritas. Pueden ser válidas las publicadas en organismos nacionales e

internacionales o las suministradas por el fabricante, si son adecuadas y completas.

El laboratorio deberá recoger los resultados de las calibraciones que realice en un documento que contenga información suficiente de la actividad realizada, por ejemplo, identificación del equipo calibrado, procedimiento de calibración, identificación de patrones de calibración, condiciones ambientales, resultados, incertidumbres, persona que realizó la calibración...

Además, cada equipo que se deba calibrar deberá estar identificado adecuadamente a fin de indicar su estado de calibración. Dicha identificación deberá figurar en el informe o certificado de calibración.

5. El programa global de calibración de los equipos debe concebirse y aplicarse de forma que, cuando sea aplicable pueda asegurarse la trazabilidad de las medidas efectuadas por el laboratorio en relación con patrones nacionales e internacionales disponibles.

Los patrones de referencia a cargo del laboratorio sólo se utilizarán para la calibración, excluyéndose cualquier otro uso.

Los patrones de referencia serán calibrados por un organismo competente capaz de asegurar la trazabilidad con referencia a un patrón nacional o internacional.

Cuando proceda, el equipo de ensayo estará sometido a verificaciones en servicio, entre las calibraciones periódicas.

2. Mantenimiento de equipos

La frecuencia dependerá del tipo y resultados previos del equipo. El mantenimiento se deberá comprobar en el manual de cada equipo y viene establecido por el fabricante.



TEMA 6. LIMPIEZA Y PREPARACION DE MATERIAL DE LABORATORIO. TECNICAS DE ESTERILIZACION Y DESINFECCION.

1. LIMPIEZA DE MATERIAL

La limpieza adecuada del material y equipos del laboratorio se realizará siempre intentando conseguir el mayor grado de eliminación de partículas y microorganismos, aplicando diferentes técnicas según la naturaleza del material a tratar y el uso a que éste, se destina. Es imprescindible pues, para realizar correctamente la limpieza de los mismos, conocer métodos y productos, y sus limitaciones, así como los distintos tipos de material que podemos manejar en el laboratorio y el uso al que se les destina. La limpieza correcta de un equipo o material puede llegar a exigir la eliminación de cualquier partícula viva (esterilización), o limitarse a la eliminación simple de restos visibles.

En el laboratorio se deben diferenciar fundamentalmente dos tipos de material en cuanto a los requisitos de limpieza:

1.1 .Material de escaso riesgo

Es aquel que no va ser utilizado para contener muestras biológicas ni para la manipulación directa de las mismas, como es el utilizado en la preparación de determinados reactivos, soluciones, etc. En ocasiones, puede contactar con muestras de pacientes pero NUNCA aquellas que vayan a someterse a análisis microbiológico. Así mismo, no se incluye en este grupo el material destinado a contener medios de cultivo o reactivos que vayan a utilizarse en microbiología.

Limpieza: Este material de escaso riesgo se lavará tras su utilización con agua y jabón, con la ayuda de estropajos y/o escobillones. Después se enjuaga con agua corriente varias veces y finalmente, se pasa por agua destilada, para evitar el depósito de sales residuales, dejándose secar en escurridores o en estufa Pasteur (70-90 °C). Una vez seco, se guarda en las estanterías correspondientes, protegido de humos y polvo.



HORNO PASTEUR

Observaciones a la limpieza:

- Si el material tiene residuos de tipo lipófilo (grasa), conviene desengrasarlos con un disolvente orgánico: alcohol metílico o acetona.
- El material manchado con colorante se trata con alcohol clorhídrico 10%, Y se enjuaga con agua destilada.
- Para la limpieza de material con restos de agar solidificado, se licuará este previamente, introduciéndolo en baño maría a 60-70 °C. No obstante, es conveniente limpiarlo antes de que éste solidifique (no verter nunca el agar licuado en las tuberías de la red de desagüe, ya que al solidificarse las obturarían, se eliminará con el resto de material sólido desechable).

1.2. Material de elevado riesgo

Es el material que entra en contacto con muestras biológicas. Este material debe estar lo más libre posible de microorganismos y de residuos fácilmente contaminables como los restos de materia orgánica. También se incluye el material altamente contaminado que supone un riesgo como foco de diseminación de microorganismos que hay que eliminar antes de su nuevo uso o de ser desechado. Dentro de este grupo, distinguiremos dos tipos de material:

 Material susceptible de esterilización: en este grupo se encuentra el material que por tamaño o naturaleza puede ser sometido a procedimientos de esterilización, como el autoclave de vapor o de óxido de etileno, horno Pasteur, etc.



AUTOCLAVE

 Material no esterilizable: debido a su naturaleza, tamaño o propiedades. Normalmente se somete a desinfección. Por ejemplo: material eléctrico, bancos de trabajo, etc.

Limpieza: Además de aplicar el procedimiento de esterilización o desinfección, el material de elevado riesgo también debe ser sometido a limpieza del mismo modo que el de escaso riesgo. Así, pues en este caso podemos distinguir tres fases:

- Esterilización/Desinfección POST-USO: El material utilizado y contaminado se somete a esterilización normalmente en el autoclave, o desinfección -según material-.
- Una vez estéril /desinfectado, el material que va a reutilizar se debe limpiar. La limpieza será igual a la del material de escaso riesgo.
- Esterilización PRE-USO: Tras la limpieza, para volverlo a utilizar debe esterilizarse de nuevo y conservarse debidamente para evitar la contaminación –herméticamente cerrado-. En el caso de desinfección también es necesario aplicar el método de desinfección antes del nuevo uso.

2. MATERIALES DE USO EN EL LABORATORIO

En el laboratorio encontramos distintos tipos de materiales: vidrio, plástico, porcelana ... Ninguno de ellos, cumple todas las exigencias del laboratorio; así pues , debemos elegir entre ellos, la elección va a depender de la aplicación, del tipo de producto y de la economía.

2.1. El vidrio

Uno de los requisitos más importantes que debe cumplir el material de vidrio es poseer una gran resistencia química frente al agua, ácidos, bases ..., superior a la que tiene la mayoría de los plásticos, así como por su gran estabilidad y transparencia.

No todo tipo de vidrio es adecuado para la utilización en el laboratorio, es necesario emplear vidrios que se caractericen por su resistencia química, mecánica y su estabilidad térmica.

Actualmente, para el laboratorio, se dispone de una variedad de vidrios técnicos con diferentes propiedades. La mayoría de los materiales están fabricados de vidrio de borosilicato, que se caracteriza por un elevado grado de resistencia térmica.

Al trabajar con el vidrio debemos tomar una serie de precauciones,

como son:

- No someterlo a cambios bruscos de temperatura, pudiendo provocar así tensiones térmicas, que podrían llegar a la rotura del material.
- No someter el material de vidrio a variaciones bruscas de presión.
- No dejar soluciones concentradas de álcalis en vidrio de borosilicato, ya que las condiciones caústicas de la solución destruyen la calibración del vidrio
- No aplicar fuerza sobre tapones, llaves...
- Utensilios básicos de laboratorio:



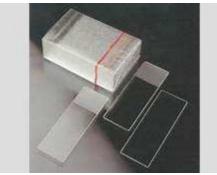
- Vasos de precipitados. Recipientes de calibrado aproximado o no calibrados, no calibrados, usados habitualmente para contener soluciones, realización de mezclas.
- Matraces Enlenmeyer. Al igual que los vasos de precipitados se trata de material de calibración aproximada, no precisa.
- Tubos de ensayo y centrifuga. Se trata de pequeños recipientes tubulares empleados para realizar mezclas, hacer calentamientos, etc.



• Varillas de agitación. Se trata de un tubo de vidrio hueco y cerrado en los extremos. Se emplea para agitar soluciones.



• Portaobjetos: Lámina de vidrio de forma rectangular, empleado para depositar muestras que han de ser observadas al microscopio.



 Cubreobjetos: Láminas muy finas de vidrio que se colocan sobre muestras -colocada en el portaobjeto- que se han de mirar al microscopio.



 Pipetas Pasteur: Permiten la succión de pequeñas cantidades de sustancia. No están calibradas, permiten dispensar el líquido gota a gota.



• Cámaras de recuento: se usan para realizar el contaje al microscopio de partículas por unidad de volumen –leucocitos, plaquetas, hematíes, etc. .Ej : Neubauer, Fuchs-Rosenthal.



1.2. El plástico

Normalmente, se trata de material desechable y su uso tiene especial importancia en el laboratorio de microbiología, entre los cuales debemos evitar en todo lo posible las contaminaciones.

Las ventajas frente al vidrio son: su bajo peso y la resistencia a las roturas.

Los utensilios de plástico usados en el laboratorio, están compuestos de monómeros orgánicos polimerizados y dependiendo de su composición, encontramos una gran variedad de plásticos con distintas propiedades tanto físicas como químicas.

Podemos clasificar en: Termorresistente y Termosensible.

Material termorresistente, encontramos:

- Puntas para micropipetas automáticas.

- Tubos de ensayo y centrífuga.
- Microtubos
- Vasos de precipitados, probetas y otro material volumétrico.

Este material se puede esterilizar antes de su uso utilizando autoclave de vapor. Posterior a su utilización se desecha directamente o dependiendo de que haya estado o no en contacto con microorganismos potencialmente peligrosos, se esteriliza de nuevo antes de desechar. El Material volumétrico reutilizable –como probetas- se limpia siguiendo la misma técnica que para el vidrio.

Material termorsensible, la mayor parte no resiste las altas temperaturas:

- *Placas de Petri:* Cajas redondas. Utilizadas para realizar los cultivos en medio sólido en microbiología. Se esterilizan con radiación gamma y son de un solo uso.



- Pipetas pasteur. misma función que las de vidrio pero son de un solo uso. Se esterilizan por radiación
- *Tubos de ensayo y centrífuga:* material desechable. Pueden ser estériles y no estériles.
- Vasos de precipitados, Probetas.

2. Otra clasificación de materiales:

3.1. Material fungible

Normalmente de corta duración y se deteriora con su uso. Tipos:

- Desechables: utilizados para un solo uso, tras su utilización se tiran. Ej. Puntas pipetas
- Reutilizables: Se vuelven a utilizar, una vez limpiados adecuadamente. Ej. Tubos de ensayo

3.2. Material inventariable.

Material con una larga vida, aunque su uso provoque deterioro se reparará sustituyendo las piezas deterioradas. Incluidos en el inventario existente en el laboratorio, cuando ya no sea útil o imposible de repara, se le debe dar de baja en ese inventario.

4. TECNICAS DESINFECCION Y ESTERILIZACION

En el laboratorio de Microbiología se trabaja bajo condiciones de asepsia o antisepsia. Se utiliza la esterilización y la desinfección para conseguir dichas condiciones.

4.1 Métodos de descontaminación. Clasificación

Se define como **esterilización**, el procedimiento que permite la destrucción de todas las formas vivas, incluidas las formas de resistencia (esporas).

La **desinfección**, es la aplicación de sustancias (germicidas) o procedimientos que llevan a una destrucción de la mayoría de los agentes patógenos, pero no consigue destruir las formas de resistencia de los microorganismos.

Ambos son métodos de descontaminación con distinto grado de eficacia en la eliminación de microorganismos. Los procedimientos de descontaminación pueden clasificarse, según el fundamento de la técnica aplicada en:

4.2. Métodos físicos

Son aquellas técnicas que aplican la acción de determinados fenómenos físicos. Pueden ser técnicas esterilizantes y microbiostáticas -detienen el crecimiento o desarrollo de los microorganismos-.

Atendiendo a la naturaleza del fenómeno físico aplicado, se pueden clasificar en térmicos y no térmicos, ya que la aplicación de calor es el procedimiento descontaminante más utilizado.

a) Térmicos:

- Calor directo:
 - Flameado.
 - Incineración.
- Calor seco:
 - Horno Pasteur o Estufa Poupinel

- Calor húmedo:
 - Ebullición
 - Tindalización.
 - Autoclave.
 - Pasteurización y uperización.

b) No térmicos:

- Filtración.
- Radiaciones.
- Sedimentación

4.2.1. - Métodos de descontaminación térmicos:

1. Calor directo.

- Flameado: consiste en someter directamente a la llama de un mechero el material que se vaya a esterilizar. Usos: agujas o punzones, asas e hilos de siembra –platino-, espátulas, pinzas, bocas de tubos de ensayo, cuellos de matraces... El material debe flamearse antes y después de su empleo. Las asas e hilos de siembra de platino u otras aleaciones, se someten a la llama hasta que adquieren color rojo intenso, tomando la precaución de dejarlos enfriar antes de su uso.
- *Incineración*: es quemar el material en hornos crematorios. Se usa para material desechable y restos biológicos del laboratorio. Sólo se aplica a productos que no van a reutilizarse.

2. Calor seco

Estufa Poupinel u horno Pasteur. El calor seco actúa carbonizando la materia orgánica. Por tener el aire poca conductividad requiere tiempos prolongados y temperaturas elevadas. Usos: se utiliza para esterilizar material de vidrio, porcelana, metálico, en general material termoestable, que no se altera por altas temperaturas.

3. Calor húmedo

-Ebullición: consiste en hacer actuar sobre el material agua hirviendo. De esta forma se eliminan las formas vegetativas, pero no las esporas ni el virus de la hepatitis C. No se consigue esterilización, es un método de desinfección. Usos: descontaminación rápida de material metálico o de vidrio y de soluciones que no precisan esterilización.

-Tindalización: se basa en aplicar calor de forma discontinua, tres veces consecutivas, desde 55 a 95 °C, durante media hora. En el periodo de

enfriamiento, las formas de resistencia como esporas bacterianas, germinan pasando a forma vegetativa, que es susceptible de eliminación por calor inferior a 100 °C. Usos: se emplea para esterilizar soluciones.

- -*Vapor fluyente:* se utiliza en el autoclave, pero con la llave de purga abierta (posición vapor). Este método se emplea para medios de cultivo que no pueden someterse a temperaturas superiores a 100°C.
- Pasteurización: calentamiento a 62,8 °C durante 30 minutos. Sólo destruye las formas vegetativas. Usos: tratamiento de alimentos, especialmente productos lácteos.
- -Uperización: consiste en elevar la temperatura hasta 150 °C durante 1 a 20 segundos. Es la modificación de la pasteurización más efectiva, ya que destruye formas de microorganismos y no altera el medio. Se utiliza para tratar la leche.
- -Vapor saturado. a presión. Autoclave de vapor. Consiste en calentar agua en un recipiente hermético, con lo que aumenta la presión atmosférica y se consigue una mayor temperatura. El vapor de agua a presión penetra con facilidad en materiales y soluciones, produciendo la coagulación de las proteínas Citoplasmáticas de las células microbianas y, por consiguiente, su muerte.

Precauciones a tomar en la esterilización pre-uso del material en autoclave:

- Pipetas: a las pipetas graduadas se les coloca en la boquilla un trozo de algodón graso, que actuará como filtro.
- Recipientes de vidrio: como tubos, matraces, erlenmeyer. Como norma general se tapa la boca del recipiente con una torunda de algodón graso, cubriéndose el cuello con papel de aluminio.
- Los embudos y morteros se envuelven totalmente en papel de aluminio o papel fuerte.

Factores que influyen en la muerte del microorganismo por calor

Siempre que se aplique calor como agente de esterilización se deben tener en cuenta:

- *Número de microorganismos* presentes en el material o producto: a mayor número, se necesitará una mayor intensidad del tratamiento.
- Naturaleza del microorganismo: las formas vegetativas son más sensibles que las formas de resistencia.
- Temperatura: a más temperatura, hasta cierto límite, mayor efectividad y rapidez. Tiempo de actuación: es el necesario para que el material se vea sometido a la temperatura adecuada durante un tiempo suficiente para que la técnica sea efectiva.
- Tiempo de penetración: es el tiempo necesario para que el material a

esterilizar adquiera la temperatura de esterilización, después de que la cámara lo ha alcanzado.

- *Tiempo de calefacción*: es el requerido para que dicha temperatura destruya la población microbiana.
- Tiempo de seguridad: asignado de forma arbitraria.

Método empleado: definiremos el tiempo de muerte térmica como el tiempo necesario para destruir un determinado microorganismo a una temperatura dada.

4.2.2. - Métodos no térmicos de descontaminación:

1. Filtración.

Los filtros no destruyen las formas vitales, sino que las separan del material filtrado al quedar retenidas en él. Hay distintos tipos de filtros y su efectividad depende del tamaño del poro y de la carga, ya que las bacterias, a pH neutro, presentan en su mayoría carga negativa por lo que es aconsejable que el filtro tenga carga positiva. Se utilizan para líquidos y gases.

2. Radiaciones

Las más utilizadas son:

- Rayos UV (Ultravioleta): se aplican mediante lámparas de mercurio que emiten radiación ultravioleta. Esta radiación tiene una baja capacidad de penetración por lo que su uso queda reducido a la esterilización de superficies. Se utiliza, sobre todo, en la reducción del nivel de microorganismos en zonas estériles y para algunos envases clínicos.
- Rayos X: son muy penetrantes y altamente letales para las células. El inconveniente es que las instalaciones necesarias para su aplicación son caras y costosas de controlar y mantener.
- Rayos Gamma: las producen isotopos radioactivos. Son muy penetrantes y ejercen una acción completamente letal para todo tipo de células.

3. Sedimentación

Se basa en que los microorganismos son más pesados que el agua, por lo que al dejar una suspensión de los mismos en reposo, con el tiempo van sedimentando, quedando el sobrenadante libre de ellos.

Es un método muy lento y poco práctico, sólo se utiliza en plantas potabilizadoras de agua.

4.3. Indicadores de esterilización

Siempre, en un proceso de esterilización se utilizan controles para

estar seguros de que se ha realizado ésta de una manera completa.

4.3.1. Indicadores de métodos térmicos

La garantía de esterilidad ha de buscarse tanto en la causa como en el efecto, por lo que se debe controlar:

1. Proceso de esterilización. Estos indicadores pueden ser:

Químicos:

- ◆ Tiras reactivas: impregnadas por un determinado compuesto químico, el cual cambia de color tras haber sido sometido a las condiciones correctas de esterilización.
- ◆ Tubos de Brown: contiene una sustancia indicadora que cambia de color según la temperatura y el tiempo de esterilización.
- ◆ Otros indicadores químicos son sustancias cuyo punto de fusión es igual a la temperatura alcanzada en el proceso.

• Biológicos:

Son generalmente esporas, que se someten al proceso de esterilización, sembrándolas después en un medio adecuado para comprobar si hay crecimiento.

1. Producto esterilizado. El ensayo consiste en cultivar una serie de muestras aleatorias del filtro; posteriormente se siembra el líquido filtrado. Si se observa crecimiento en el medio sembrado, es indicativo de que la filtración con fines esterilizantes no ha sido correcta.

4.4. Métodos Químicos: agentes germicidas.

Los agentes germicidas son sustancias químicas con capacidad bactericida o bacteriostática. La mayoría de ellos no tienen poder esterilizante y se utilizan como desinfectantes. Existen un numeroso grupo de productos germicidas con distinto grado de efectividad:

- Germicidas de alto poder
- Germicidas de poder intermedio.
- Germicidas de bajo poder.

4.4.1. Otras formas de clasificación de los desinfectantes

- a) Según su estado:
 - Gases
 - Soluciones: las dividiremos en dos grupos:.
 - ♦ Desinfectantes clásicos
 - Desinfectantes actuales

b) Según su uso:

- Desinfectantes de superficie
- Desinfectantes de manos.
- Desinfectantes de material.
- · Desinfectantes ambientales

4.4.2. Formas de aplicar los desinfectantes

Inmersión. Consiste en introducir los objetos a desinfectar en las distintas soluciones durante un determinado tiempo.

Pulverización. Es la aplicación mediante pulverizaciones que proyectan el desinfectante en pequeñas gotas, de manera uniforme, en las superficies y objetos a desinfectar.

Loción. Se utiliza para paredes, suelos, objetos, etc. Se aplica el desinfectante empapando lo que se vaya a desinfectar mediante bayetas, esponjas o cual cosa que permita esta aplicación.

Fumigación. Esla utilización de desinfectantes en forma de gases, humos o vapores.

Aerosoles y brumas. Consiste en la proyección de partículas muy pequeñas mediante la utilización de aparatos apropiados. Esta forma de desinfección se utiliza en salas y locales.

TEMA 7. LA SEGURIDAD EN EL LABORATORIO QUIMICO.

1. MEDIDAS DE SEGURIDAD

Dentro de cualquier laboratorio, tanto químico, microbiológico, puede producirse una serie de daños al trabajador. Estos se pueden clasificar en:

- Daños inmediatos o directos: las lesiones se manifiestan en el momento del accidente. Por ejemplo, daños de electricidad, accidentes con instrumentos o aparatos, quemaduras por ácidos, etc.
- Daños indirectos: no se manifiestan en el momento del accidente, requieren un período de incubación o una exposición prolongada. Por ejemplo, infecciones adquiridas en el laboratorio, enfermedades por exposición a tóxicos.

1.1. Instalaciones y elementos de seguridad

En todo laboratorio se debe tener en cuenta la seguridad, ya que se pueden provocar un accidente tanto por un fallo humano como por errores mecánicos. Por todo ello, existen una serie de barreras como prevención. Éstas son:

Barrera Primaria: localizadas en torno al origen del riesgo, como contenedores, equipos e instrumental correcto, y buena práctica.

Las cabinas de seguridad se utilizan siempre que exista un riesgo de emanación química, formación de aerosoles o microorganismos peligrosos.





Barreras secundarias: localizadas en el círculo del operador.

Ropa: debe llevarse bata.

Guantes: es recomendable su utilización.

Gafas: el uso de anteojos debe reservarse para manipular sustancias cáusticas en laboratorios químicos, o para abrir autoclaves en algunas condiciones.

Pelo: no debe llevarse suelto ya que puede dar lugar a un incendio al pasar cerca de mecheros, ser aspirado por algún aparato, etc.

Barreras terciarias (localizadas alrededor del laboratorio): evitan que los riesgos del laboratorio puedan repercutir en la comunidad. La regla a seguir es que ningún material tóxico abandone el laboratorio.

No se debe salir del laboratorio con ropa de trabajo, guantes, etc.

Debe haber contenedores especiales para material biopeligrosos, sistemas de autoclaves e incineradores para desechos, y un sistema especial de recogida de residuos radiactivos.

En el laboratorio, se manipulan gran cantidad de sustancias químicas potencialmente peligrosas. En función de sus riesgos podemos hablar de sustancias:

- **Tóxicas**: las que ingeridas o aplicadas causan la muerte o daños graves.
- Corrosivas: son aquellas que provocan el desgaste gradual de ciertos materiales.
- Irritantes: dan lugar a reacciones locales en mucosas o piel.
- **Carcinógenas**: todas aquellas que pueden producir cáncer a partir de un nivel específico de exposición y con un período de incubación, en ocasiones muy largo.

1.2. Recomendaciones básicas de seguridad en el Laboratorio

Existe una serie de recomendaciones básicas estándar, comunes a todos los laboratorios, y que cualquier persona que trabaje en ellos debe conocer:

- Los mostradores deben estar limpios y ordenados. Las superficies de trabajo del laboratorio deben ser descontaminadas con hipoclorito sódico, cuando se produzca cualquier salpicadura de un material potencialmente infeccioso y al finalizar las actividades de trabajo.
- Deben emplearse los aparatos-pipetas mecánicos para la manipulación de cualquier líquido: especialmente en el caso de muestras biológicas, o reactivos irritantes o venenosos debe estar prohibido el uso de pipetas de boca. En general, no debería pipetearse nunca con la boca. Deben usarse jeringas en lugar de pipetas.
- Los objetos agudos (agujas, hojas de bisturí, etc.) han de considerarse como potencialmente infectantes y ser manejados con mucho cuidado. Las agujas no deben ser recubiertas con su funda, ni tampoco dobladas, ni separadas de las jeringas, ni manejadas con la mano. Deben desecharse en envases resistentes a la punción situados cerca del usuario y con objeto de evitar su reutilización.
- Deben llevarse batas o uniformes durante el tiempo que se trabaja en el laboratorio.
- Deben usarse guantes para impedir el contacto de la piel con las muestras biológicas, cuidando después de no pasear por todo el laboratorio apoyando los guantes manchados en los picaportes ni en el mobiliario. Los guantes deben desecharse una vez finalizada la tarea, poniéndose otros cuando sea preciso.
- Hay que manejar los instrumentos de laboratorio con cuidado. Las agujas de autoanalizadores o aparatos automáticos pueden causar lesiones accidentalmente al poner la mano en su trayectoria o al cambiarlas o limpiarlas.

- Debe limpiarse y descontaminarse cualquier aparato o máquina del laboratorio que vaya a ser sometido a mantenimiento o reparación.
- Todos los procedimientos y manipulaciones del material potencialmente infeccioso deben ser realizados cuidadosamente para reducir al mínimo la posibilidad de que formen gotas o aerosoles. Si el procedimiento puede generar aerosoles, se recomienda el uso de cabinas de seguridad biológica (tipo I o II). Se aconseja el uso de copas de seguridad en las centrífugas.
- Todos los materiales potencialmente contaminados tienen que ser descontaminados antes de reutilizarlos o desecharlos.
- Todo el personal ha de lavarse las manos tras acabar las actividades del laboratorio y quitarse la bata antes de abandonarlo.
- No se debe fumar, comer o beber en el laboratorio.
- No debe ser almacenado en el laboratorio ningún tipo de alimento ni bebida (excepto en refrigeradores autorizados).
- No hay que cerrar sobres ni pegar etiquetas humedeciéndolas con la lengua. Tampoco hay que chupar lápices ni bolígrafos.
- No deben aplicarse cosméticos, aunque pueden utilizarse cremas de manos.
- No deben tocarse ni frotarse los ojos mientras se trabaja, ya que la conjuntiva es una puerta de entrada para los microorganismos.
- Las mujeres embarazadas no se encuentran en una situación de riesgo mayor que el resto de los trabajadores, sin embargo algunos tipos de infecciones adquiridas en el laboratorio pueden causar infección perinatal.

1.3. Precauciones con determinados compuestos químicos

1.3.1. Ácida sódica y otros compuestos potencialmente explosivos

La ácida sódica en contacto con el cobre, unida a estímulos mecánicos, es tremendamente explosiva. Muchos reactivos contienen ácida sódica como conservante. Por otro lado en instalaciones antiguas existen cañerías de cobre de modo que SI se golpea, la cañería puede explotar. Se han dado casos de explosiones al desatascarlas.

El ácido perclórico es inflamable, y al desecarse se concentra, pudiendo en ocasiones ser explosivo.

El ácido pícrico y sus sales son explosivas en contactos con metales al .secarse, si se calientan o golpean. El ácido pícrico se utiliza en, el laboratorio como precipitantes de proteínas; su uso más frecuente es en la determinación de creatinina por el método del picrato alcalino.

1.3.2. Solventes inflamables almacenados en neveras

Las sustancias volátiles inflamables no deben guardarse en refrigeradores normales. Si se guardan en neveras contenedores abiertos con éter, isopentano y similares, en general, solventes orgánicos con altas presiones de vapor y un punto de inflamación muy bajo,

pueden producirse explosiones violentas por fuentes de ignición a menudo ignoradas: contactos del termostato. luz de la nevera, etc.

Existen refrigeradores especiales para estos solventes (si han de guardarse en frío) con dichos mecanismos situados en la parte externa de la cabina del refrigerador.

2. ACTUACIÓN EN CASO DE DERRAMES

A veces, por accidente, se derrama alguna sustancia. Recogerla sin precaución puede ser peligroso. Si bien, diversas sustancias requieren sistemas específicos de recogida, existen unas instrucciones de carácter general:

- Avisar al responsable del laboratorio o a un equipo con experiencia.
- Apagar todas las llamas del laboratorio, en la habitación y en las contiguas, si se trata de un vertido de disolventes orgánicos.
- Abrir las ventanas para evitar que, si se producen gases, sean aspirados.
- Ponerse ropa protectora y guantes.
- Recoger los cristales con pinzas.
- Se ha de tener disponible celulosa para absorber líquidos.
- Si se derrama un ácido o base fuerte debe neutralizarse antes de su recogida (bicarbonato sódico para ácidos fuertes; arena en general).

3. SEÑALIZACIÓN

Uno de los principios básicos de la seguridad es la información. La señalización normalizada nos informa de manera inmediata de posibles peligros de carácter general. Aunque existen múltiples señalizaciones, internacionalmente se reconocen algunos signos básicos.

La *National Fire Protection Association* (NFPA) de Estados Unidos utiliza un código que se basa en un rombo dividido a su vez en otros cuatro.

Cada uno de ellos informa sobre un aspecto distinto

- Riesgo para la salud (color azul)
- Inflamable (color rojo).
- Grado de inestabilidad del compuesto (color amarillo).
- Otros datos (color blanco).

Cada uno de los rombos se numera de 0 (no peligroso) a 4 (máximo de peligrosidad).

La Comunidad Económica Europea ha codificado una serie de frases que describen los riesgos y medidas de seguridad (frases R y S) que deberían indicarse en los productos químicos.

4. ALMACENAMIENTO

Las estanterías y armarios no deben estar expuestos directamente a la luz del sol, ni cerca de radiadores, llamas o fuentes de calor.

Los componentes químicos peligrosos no deben de colocarse en estanterías elevadas.

Todos los frascos deben estar etiquetados. No deben acumularse cantidades elevadas de compuestos peligrosos dentro del laboratorio.

No deben dejarse los frascos abiertos ni abandonados sobre las mesas de trabajo. Tener precaución con sustancias incompatibles

Al vaciar cualquier resto de reactivo por la pila, hay que dejar correr el agua abundantemente para evitar que queden residuos en la cañería.

4.1. Almacenamiento

Un almacenamiento inadecuado de sustancias químicas puede originar situaciones peligrosas.

Los almacenes deben estar situados en lugares frescos y a prueba de fuego. El almacenamiento no se hará por orden alfabético.

Deben de realizarse revisiones periódicas del almacén.

4.2. Transporte

Deben de transportarse con precaución sabiendo lo que se lleva.

Mantener la sustancia que se transporta lejos de llamas o de otras fuentes de calor si se trata de una sustancia inflamable. No deben de cogerse los frascos por el cuello, ya que este puede romperse

5. TRATAMIENTO DE RESIDUOS

. En los laboratorios nos encontramos con un gran volumen de residuos líquidos. También, existen residuos sólidos, pero en menor cuantía.

5. 1. Residuos líquidos

Las características de los líquidos hacen que su recogida, transporte y eliminación sea específico. Los líquidos pueden ser inocuos en concentraciones bajas, pero en altas concentraciones pueden ser peligrosos para las personas y el medio ambiente.

La mayoría de los líquidos se pueden eliminar por la red de alcantarillado siempre que no supongan peligro para los recursos hidráulicos y no afecten a la red de alcantarillado o a

las depuradoras de aguas residuales. Los aceites y lubricantes se arrojan a la red siempre que su concentración sea inferior a 100mg/l.

Cuando los líquidos son tóxicos o peligrosos deben ser tratados antes de su eliminación de alcantarillado.

Existen otras sustancias líquidas cuyo vertido en la red de alcantarillado está prohibido siempre. Estos residuos son los líquidos radiactivos y los que contengan sustancias cancerigenas, mutágenas o teratógenas, así como las que tengan la siguiente toxicidad: oral, contacto, inhalación. La eliminación se hará a las empresas u organismos competentes.

Todos los laboratorios que utilizan la red de alcantarillado para la eliminación de residuos deben tener una arqueta de registro que permita realizar análisis y mediciones en cualquier momento. Esto posibilita comprobar si los líquidos eliminados rebasan las concentraciones máximas de sustancias contaminantes permitidas.

TEMA 8. LA SEGURIDAD EN EL LABORATORIO MICROBIOLOGICO.

1. INSTALACIONES

La ubicación del laboratorio de microbiología debe ser tal, que el peligro de contaminación de las muestras, ya sea derivado de las condiciones ambientales, contaminación cruzada u otras causas, sea mínimo.

Una de las formas más efectivas de reducir al mínimo el riesgo de contaminación cruzada es mediante la construcción del laboratorio según un diseño «sin camino de regreso», y cuando esto no sea posible se tomarán medidas alternativas como:

- realizar los procedimientos de manera secuencial, tomando las debidas precauciones para garantizar la integridad de los ensayos y de las muestras;
 - separación de actividades en el tiempo y en el espacio.

Para reducir el riesgo de contaminación y facilitar las labores de limpieza y desinfección se recomiendan a continuación una serie de medidas:

- Las áreas de trabajo deben ser suficientemente espaciosas como para poder mantenerse limpias y ordenadas. El espacio requerido dependerá del volumen de análisis realizados y de la organización interna del laboratorio.
- Uniones cóncavas entre suelo, paredes y techos. Iluminación empotrada en los techos.
- Las áreas de trabajo deben estar debidamente ventiladas, lo que puede conseguirse, mediante ventilación natural o forzada, o mediante el uso de unidades de aire acondicionado, equipadas con filtros para el polvo en la entrada de aire.
- Disponer de suficiente espacio para almacenamiento.
- Las tuberías que transportan líquidos no deben pasar por encima de las superficies de trabajo, a no ser que estén provistas de un revestimiento herméticamente sellado.
- No se recomienda el uso de cortinas ni persianas. Utilización de pantallas solares.
- Las paredes, techos, suelos y superficies de trabajo deben ser lisos, de material no absorbente, fácil de limpiar y desinfectar.
- Las superficies de madera de instalaciones y accesorias deben estar debidamente protegidas y selladas.
- Minimizar la apertura de puertas y ventanas durante la realización de los ensayos.
- Los armarios, estanterías, equipos y material, deben estar colocados de forma que evite la acumulación de polvo y se facilite su limpieza. Se recomienda el uso de armarios hasta el techo.
- Para facilitar las labores de limpieza, los teléfonos y ordenadores que se encuentran dentro del área de ensayo pueden estar provistos de protector.
- Utilizar lavamanos de accionamiento no manual.
- Ausencia de mobiliario, documentos y objetos que no sean los estrictamente necesarios para la realización de ensayos.

Cuando el trabajo en condiciones estériles sea limitado o tenga lugar sólo ocasionalmente, puede ser suficiente con utilizar una superficie de trabajo limpia siempre que se apliquen las técnicas asépticas.

Deberá establecerse un programa de limpieza y desinfección del laboratorio que tenga en cuenta los resultados de la vigilancia de las condiciones ambientales y la posibilidad de contaminación cruzada.

Dependiendo del tipo de ensayos que se realicen, el acceso al laboratorio de microbiología debe restringirse al personal autorizado. Cuando exista este tipo de restricciones, el personal deberá conocer:

- el uso restringido de una determinada área
- las restricciones impuestas al trabajo que puede realizarse en dichas áreas
- las razones para imponer esas restricciones
- en el laboratorio de microbiología, debe utilizarse la equipación apropiada.

Condiciones ambientales

- a) Las condiciones ambientales no deben invalidar los resultados de los ensayos microbiológicos. Dependiendo del tipo de ensayos que se realicen, el laboratorio debe disponer de un programa adecuado de las condiciones ambientales, tanto del aire como de las superficies de trabajo, con la finalidad de conocer las tendencias en los niveles de biocontaminación.
- b) El laboratorio debe definir los recuentos máximos de microorganismos que considere aceptables y disponer de un procedimiento documentado en el que se describan las medidas a tomar para corregir las situaciones en que se sobrepasen estos límites. Estas *medidas* incluyen:
 - limpieza y desinfección a fondo del laboratorio;
 - aumento de la frecuencia de las técnicas de limpieza y desinfección;
 - modificaciones en los procedimientos de limpieza y desinfección:
 - la instalación de unidades de aire acondicionado.

2. ELEMENTOS DE SEGURIDAD

En todo Laboratorio existirán los elementos necesarios para la seguridad, tanto del profesional como de la comunidad.

Barreras primarias (las localizadas en torno al origen del riesgo): contenedores, equipos e instrumental correcto, y buena práctica.

Barreras secundarias (localizadas en el círculo del operador):

Ropa; debe llevarse bata.

Guantes, recomendados cuando se trate de productos contaminantes.

- Gafas: El uso de gafas debe reservar separa manipular sustancias cáusticas en laboratorios químicos, o para abrir autoclaves en algunas condiciones.
- Pelo: No debe llevarse suelto; puede dar lugar a un incendio al pasar cerca de mecheros, ser aspirados por algún aparato, etc.

Barreras terciarias: (localizadas alrededor del laboratorio): Evitan que los riesgos del laboratorio puedan repercutir en la comunidad. La regla a seguir es que ningún material infeccioso abandone el laboratorio.

No se debe salir del laboratorio con ropa de trabajo, guantes, etc.

Debe haber contenedores especiales para material biopeligroso, sistemas de autoclaves e incineradores para desechos, y un sistema especial de recogida de residuos radiactivos.

Las infecciones son más frecuentes en los laboratorios de investigación; después de los laboratorios dedicados al diagnóstico.

Los tipos de accidentes que preceden a la infección son: vertidos y salpicaduras, inoculaciones con jeringas, heridas con cristales rotos, aspiraciones a través de pipetas, y otras causas.

2.1. Rutas de infección

Por vía aérea (inhalación). Por ejemplo: Mycobacterium tuberculosis.

Por vía digestiva (ingestión). Por ejemplo: Salmonellas.

Por vía parenteral (inyección a través de heridas mínimas, por las conjuntivas). Por ejemplo: Sida.

2.2. Transporte y recepción de muestras infecciosas

Contenedores: Deben ser de plástico con cierre de rosca y a ser posible desechables. En algunos hospitales estos contenedores se colocan en el interior de bolsas de plástico autocerrables para evitar que, si están manchados por fuera, contaminen en el transporte.

Deben identificarse con claridad, a ser posible con etiquetas autoadhesivas. Se recomiendan etiquetas adicionales indicadoras de peligro en determinadas patologías.

2.3. Clasificación de microorganismos según su biopeligrosidad

Internacionalmente los microorganismos se clasifican en cuatro grupos según su biopeligrosidad.

La OMS no tiene lista oficial y recomienda a cada país que elabore la suya propia.

Grupo I. Serían microorganismos comunes que rara vez ocasionan enfermedades en individuos inmunocompetentes. No requieren medidas de seguridad.

Grupo II. Microorganismos causantes de enfermedades, cuyo manejo implica un riesgo en el laboratorio, aunque es raro que puedan causar epidemias. Su prevención o tratamiento es sencillo y efectivo. No requieren medidas especiales de seguridad. Es aconsejable el uso de cabinas de bioseguridad si pueden producir aerosoles.

Grupo III. Microorganismos causantes de infecciones graves, que suponen un riesgo serio para el trabajador del laboratorio. Existe el peligro de diseminación de la infección. Su profilaxis y tratamiento son efectivos. Debe trabajarse con cabinas de seguridad, sobre todo si se hace con cultivos puros.

Grupo IV. Microorganismos causantes de infecciones graves que suponen también un riesgo serio para el trabajador del laboratorio. En estos casos es aún mayor el peligro de diseminación de la infección en la comunidad. No existe ni profilaxis ni tratamiento efectivo. Debe trabajarse con cabinas de seguridad (básicamente las del tipo III).

El aire debe fluir de las zonas limpias a las sucias (áreas de trabajo) y de ahí al exterior, o volver a circular tras ser filtrado. En laboratorios que trabajen con microorganismos de los grupos III y IV, el aire antes de salir al exterior debe filtrarse con filtros HEPA.

2.4. Cabinas. Definición y tipos

Las cabinas de seguridad microbiológica son dispositivos diseñados para proteger de infección transmitida por el aire. No protegen de otro tipo de infecciones.



Existen tres clases, que se nombran:

Clase I

En ellas el aire se extrae de la habitación, penetra en la zona de trabajo y se expulsa a través de un filtro al exterior. En ocasiones, se añade un segundo filtro y el aire vuelve a introducirse en la habitación; ahora bien, esta última es una solución peor, que se acepta sólo si no existe la posibilidad de expulsar el aire al exterior.

No deben estar situadas cerca de puertas o ventanas, o en corrientes de aire. Son de uso general y se encuentran en la mayoría de los laboratorios para uso común.

Clase II

El aire que entra en la cabina no pasa directamente sobre el área de trabajo, se aspira mediante presión negativa, es filtrado y vuelve a circular hacia abajo, hacia el área de trabajo que queda de este modo limpio.

Clase III

El aire entra del exterior, pasa por los filtros y se envía de nuevo al exterior a través de otro sistema de filtros. La cabina es totalmente hermética, con un sistema de guantes adosado al frente.

La tapa frontal debe permanecer cerrada si no se está utilizando. El material a utilizar debe estar dentro de la cabina antes de comenzar a trabajar.

Las cabinas deben de ser revisadas periódicamente para asegurarse de que están en perfecto estado. Debe revisarse el flujo de aire, la capacidad de retener partículas y el buen estado de los filtros.

En el uso rutinario, debemos comprobar que los indicadores están dentro de los límites de seguridad definidos.

Después del uso diario, la superficie de la cabina debe limpiarse, con formol.

3. Fuego y electricidad

Los laboratorios tienen todo lo necesario para activar un fuego: fuentes de llama, inflamables, combustibles, oxidantes, aparatos eléctricos y gases comprimidos. Por eso debemos tener en cuenta que el fuego es un importante riesgo en el laboratorio.

Los riesgos son producidos por:

- Negligencias.
- Causa eléctrica:
 - Sobrecarga de circuitos.
 - Cables largos y mal colocados.
 - Dejar el equipo innecesariamente conectado.
 - Equipos que usan inflamables cerca de llamas.
- Por llamas:
 - Mecheros Bunsen encendidos y abandonados.
 - Mecheros colocados cerca de materiales inflamables.
 - Mecheros y aparatos de gases mal conectados.
 - Uso de cerillas en vez de encendedores.

3.1. Tipos de fuego

Existen básicamente tres tipos de fuego que es importante identificar, ya que no todos los extintores valen para todos los fuegos:

Fuego por combustibles. Para su extinción se usa agua.

Fuego por líquidos o gases inflamables. Para su extinción puede usarse polvo seco, espuma.

Fuegos eléctricos. Se usan extintores.

4. Señalización de riesgos y almacenamiento de productos

5. 1. Señalización de riesgos

En el laboratorio de microbiología existen diversas clases de riesgos, no sólo los específicos del tipo de actividad que se realiza en éste (muestras microbiológicas contaminadas) sino también los relacionados con los equipos, gases, sustancias químicas y algunos elementos radiactivos que se manejan en el laboratorio.

Uno de los principios básicos de la seguridad es la información. La señalización normalizada nos informa de manera inmediata de posibles peligros de carácter general.

Aunque existen múltiples señalizaciones, internacionalmente de reconocen algunos signos básicos.

La National Fire Protection Association (NFPA) de Estados Unidos utiliza un código que se basa en un rombo dividido a su vez en otros cuatro.

Cada uno de ellos informa sobre un aspecto distinto:

- Riesgo para la salud (color azul).
- Inflamable (color rojo).
- Grado de inestabilidad del compuesto (color amarillo).
- Otros datos (color blanco).

5.2. Almacenamiento y clasificación de productos

Seguiremos las mismas precauciones generales que en cualquier laboratorio:

- Las estanterías y armarios no deben estar expuestos directamente a la luz del sol, ni cerca de radiadores, llamas o fuentes de calor.
- Los componentes químicos peligrosos no deben colocarse en estanterías elevadas.
- Todos los frascos deben estar etiquetados.
- No deben acumularse cantidades elevadas de compuestos peligrosos dentro del laboratorio.
- No deben dejarse los frascos abiertos ni abandonados sobre las mesas de trabajo.

- Tener precaución con sustancias incompatibles.
- Al vaciar cualquier resto de reactivo por la pila hay que dejar correr el agua abundantemente para evitar que queden residuos en la cañería.

En todo laboratorio de microbiología contamos con muestras de microorganismos. Estas, cuando se encuentran a la espera de ser analizadas, deben almacenarse en condiciones adecuadas para reducir al mínimo cualquier modificación en la población microbiana presente.

El envase y etiquetado de las muestras puede estar, en potencia, altamente contaminado y las muestras deben manipularse y almacenarse con precaución para evitar que se propague la contaminación. Cuando se sepa que algunas cepas están altamente contaminadas deben descontaminarse antes de su eliminación.

6. Tratamiento de residuos

En todo laboratorio microbiológico se distinguen tres clases de residuos: tipos I,II y III.

Tipo I. Se consideran en este grupo a todos aquellos residuos que no derivan de la actividad asistencial y que carecen de toxicidad. Pertenecen a este grupo los derivados de las actividades administrativas del laboratorio, los restos de los servicios de mantenimiento, envases de vidrio, envases vacíos de reactivos (excepto los pertenecientes a citostáticos) papel, cartón, el mobiliario y el equipo de laboratorio en desuso. Además incluye todo material que, no perteneciente a este grupo, haya sido sometido a un tratamiento de esterilización. Todos estos residuos son similares a los producidos en la ciudad y tienen el mismo riesgo en cuanto a su recogida, transporte y eliminación. De ahí que se denominen - residuos asimilables a urbanos-.

Tipo II. Pertenecen a este grupo los residuos sanitarios que no presentan a priori riesgos de producción de enfermedades infecciosas, ni tampoco peligro de contaminación a la hora de su eliminación. Son los Residuos no específicos. Aquí se engloban los restos derivados de la actividad del laboratorio como son el papel de filtro, material de un solo uso, recipientes vacíos de sangre, suero, orina, LCR o cualquier muestra biológica. Estos se conocen como -residuos biológicos-.

Tipo III. Se incluyen en este grupo los residuos infecciosos en general y aquellos que, aun no siendo infecciosos, contienen un alto riesgo de contaminación. Aquí se incluye el material desechable contaminado de estos laboratorios, también los envases de citostáticos, agujas, vacunas vivas y atenuadas, cultivos y material contaminado, restos de animales, así como el material cortante y punzante. Estos son los llamados «residuos de riesgo».

Tipo IV. Son aquellos cuya gestión está sujeta a requerimientos especiales desde el punto de vista higiénico y medioambiental.

En este grupo se incluyen:

- Los residuos citostáticos.
- Restos de sustancias químicas.
- Restos de reactivos caducados y medicamentos.
- Aceites minerales y sintéticos.

- Residuos con metales.
- Residuos de los laboratorios radiológicos.
- Residuos líquidos

6.1. Recogida de los residuos sólidos en el laboratorio de Microbiología

En los lugares donde se producen los residuos debe existir un local dedicado al almacenamiento. Este local ha de reunir unas condiciones adecuadas de acceso, espacio, ventilación y limpieza. La evacuación se realiza al menos una vez al día.

Los residuos del **Tipo I**, se recogen en bolsas de color negro homologadas, estas bolsas a su vez se introducen en otras más resistentes también de color negro. Las bolsas, una vez cerradas, se introducen en contenedores normalizados similares a los domésticos.

Los de **Tipo II**, se recogen en bolsas de color verde, que a su vez, se introducen en otras más resistentes del mismo color. Las bolsas pasarán a contenedores de color verde, salvo que el ayuntamiento de la localidad lo recomiende de otro color.

Los de **Tipo III**, si son cortantes o punzantes, se depositan inmediatamente después de su uso en contenedores rígidos, impermeables, estancos y biodegradables de un solo uso.

Los contenedores rígidos y biodegradables han de tener las siguientes características:

- Requieren de polietileno de alta densidad.
- Impermeabilidad y estanqueidad interna y externa.
- Tapa que permita la apertura y cierre temporal repetidamente hasta su llenado, una vez lo cual quedará cerrado herméticamente de una manera definitiva.
- Volumen recomendado máximo de 2 litros.

Los que **no sean cortantes o punzantes** se echan en bolsas de polietileno de color rojo cuando sean de pequeño volumen; en caso contrario, se utilizan contenedores rígidos de polietileno de alta densidad que permitan cerrarlos herméticamente una vez llenos. Las bolsas de color rojo también se introducirán en estos recipientes.

Los contenedores para estos residuos especiales (patológicos y/o infecciosos) han de tener las siguientes características:

- Construidos de polietileno de alta densidad o en otro material que garantice la impermeabilidad y estanqueidad tanto interna como externa.
 - No serán transparentes.
- Estarán provistos de asas, agarraderos o cualquier otro dispositivo que permita fácil su arrastre.
 - Serán resistentes a la caída y capaces de ser apilados de forma vertical.
- La tapa del envase deberá poder abrirse cuantas veces sea necesario hasta su llenado total, pero de tal modo que no sea posible establecer contacto con el contenido.
- Una vez lleno el contenedor podrá ser cerrado con plena seguridad para su transporte; y si se intenta su apertura posterior deberá quedar claras señas visuales del

intento de apertura.

- Deberán ser capaces de ser incinerados conjuntamente con los residuos que contienen.
 - Tendrán una capacidad o volumen superior a 70 litros.

6.2. Transporte y eliminación

La evacuación de los residuos, para su posterior eliminación o tratamiento, es realizada habitualmente por los servicios del ayuntamiento donde esté ubicado el laboratorio que los produce. No obstante, la recogida puede hacerse por empresas autorizadas por el organismo competente: ayuntamientos y comunidades autónomas.

Los residuos **Tipo I**, por sus características de asimilables a urbanos, se pueden transportar en camiones compactadores al vertedero controlado para su eliminación o tratamiento (aprovechamiento y transformación). Este proceso no debe contaminar las aguas o el suelo, ni ser perjudicial para la fauna, vegetación y medio ambiente.

Los residuos **Tipo II**, se llevan en contenedores debidamente cerrados. Este transporte será realizado por camiones adecuados. Actualmente, se considera que este tipo de residuos carecen de capacidad infecciosa si se manejan adecuadamente, por personal protegido. Pueden llevarse a un vertedero controlado o ser incinerados. La elección de un sistema u otro depende de múltiples factores, desde culturales hasta ambientales. No obstante, la dirección de cada institución sanitaria establece el método a seguir de acuerdo con la normativa municipal y autonómica vigente.

Los residuos del **Tipo III**, requieren un sistema de transporte hasta una planta incineradora, a través de capacitada para ello. El tratamiento y eliminación de estos residuos y los citostáticos se realizarán teniendo en cuenta criterios de inocuidad, asepsia y salubridad, con el fin de garantizar la eliminación de todos los gérmenes patógenos. Estos deben ser incinerados a altas temperaturas para garantizar su destrucción. En caso de no existir una planta de incineración en el municipio donde esté ubicado el laboratorio, esté deberá contar con horno propio para el tratamiento de estos residuos. Si no hubiera horno crematorio se podrán tratar mediante autoclave, extremando las medidas de control para una correcta eliminación. Una vez realizado este proceso se eliminarán como los residuos asimilables a urbanos.

Características del horno incinerador de residuos de tipo III:

- Situación fuera de la zona del laboratorio.
- Sistema automático de entrada de residuos.
- Extracción automática de cenizas.
- Temperatura de combustión de al menos 1000 ℃.
- Recuperación de la energía productora

TEMA 9. CONTROL DE CALIDAD INTERNO.

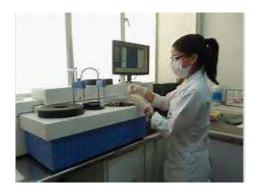
1. INTRODUCCIÓN

La automatización en el laboratorio clínico implica fundamentalmente un gran ahorro de tiempo; en muchos casos también una disminución en gastos de reactivos y, por último, evita muchos de los errores humanos que pueden cometerse en el procesado de las muestras. Los sistemas automatizados permiten, con una mínima manipulación, realizar el procesado y análisis de la muestra, así como la emisión y valoración del resultado.

El procesado y análisis de una muestra puede incluir numerosas etapas:

- 1. Identificación de la muestra.
- 2. Preparación de la muestra.
- 3. Carga de la muestra en el sistema.
- 4. Separación de componentes «indeseables».
- 6. Dispensación de reactivos.
- 7. Mezcla de reactivos y muestras.
- 8. Incubación.
- 9. Reacción.
- 10. Detección del producto.
- 11. Proceso de datos.
- 12. Interpretación de resultados.

Dependiendo del tipo de análisis que se vaya a realizar se dispone de sistemas automatizados que cubren total o parcialmente el proceso. En la automatización se procura que la mecanización de cada una de estas etapas, y de ellas en conjunto, sea lo más completa posible, siendo mínimas las operaciones que deben hacerse de modo manual.



2. SISTEMAS AUTOMATIZADOS

- a) Automatización en la identificación de las muestras.
- b) Autoanalizadores para química clínica.
- c) Contadores celulares.
- d) Coagulómetros.
- e) Sistemas automatizados en microbiología e en inmunología.
- f) Sistemas automatizados para gasometrías.
- g) Procesamiento de datos automatizado.

2.1 1. Automatización en la identificación de las muestras

La identificación entre paciente-muestra se realiza en el momento de la recepción/obtención de la misma, y debe mantenerse asegurada durante todo el proceso, hasta la asignación de resultados. Los errores en este sentido invalidan todo el resto del trabajo de laboratorio.

En los sistemas automatizados se emplean dos sistemas de marcado: directo e Indirecto.

- Marcado directo: une la muestra a un código o marcador que permite asociarla a un paciente en cualquier momento. El sistema más común es el código de barras, que permite el marcado electrónico de la muestra; las etiquetas con el código se adhieren al tubo de extracción o en los recipientes donde se colocan las muestras para su análisis.
- Marcado indirecto: la muestra se relaciona con la posición que ocupa en una secuencia analítica y se relaciona con el paciente mediante una Lista de Trabajo.

2.1.2. Autoanalizadores para química clínica

Son sistemas que permiten detectar y cuantificar un gran número de biomoleculas en una muestra clínica. Dependiendo del número de pruebas, y el sistema que empleen, existen en el mercado numerosos modelos de autoanalizadores bioquímicos.

2.2.1. Tipos de autoanalizadores.

El repertorio de pruebas

El término se refiere a las pruebas que puede llevar a cabo un autoanalizador.Al estudiar este repertorio hay que diferenciar entre:

- a) El número de pruebas totales que el analizador puede realizar (para las cuales esta programado, y puede llevar a cabo).
- b) El número de pruebas que puede realizar de forma inmediata (programarlas en una misma serie de análisis, sin necesidad de cambiar reactivos ni otras condiciones del analizador).

Ante la puesta en marcha de un autoanalizador, se persigue que éste cargue con la mayor cantidad posible de trabajo del laboratorio, de manera que los sistemas más altamente automatizados se dirigen a la ejecución de los análisis realizados con más frecuencia, y aquellos sistemas menos automatizados se reservan a las determinaciones menos frecuentes y solicitadas en menor cantidad.

El tiempo de retardo

Es el tiempo mínimo requerido para obtener un resultado después del procesamiento inicial de la muestra (una vez que se ha pipeteado ésta). Algunos instrumentos pueden dar resultados en muy poco tiempo, por ejemplo, para pruebas simples como glucosa. En los aparatos en que se realizan varias determinaciones para una muestra, el tiempo de retardo es mayor. El tiempo de retardo depende tanto de la determinación solicitada (sustratos, enzimas, proteínas) como del número de determinaciones.

La capacidad

Es el número de determinaciones que pueden ser procesadas en una hora. La capacidad se calcula de diferente manera según el tipo de autoanalizador. Este cálculo ha de tener en cuenta el tiempo de retardo, es decir, el hecho de que no aparezcan resultados hasta que no transcurra dicho tiempo.

Existen diversos tipos de autoanalizadores de química clínica que mostrarán distintas capacidades, tiempo de retardo y repertorios de muestras, según el sistema de funcionamiento y las posibilidades de programación. Estos son:

a. Analizadores monocanal

Son instrumentos que realizan cada vez una sola determinación sobre todas las muestras que se le presentan (de una en una). Para hacer otra determinación, hay que cambiar reactivos y volver a colocar las muestras sobre las que hay que realizar esta segunda determinación.



b. Analizadores multicanal

Son instrumentos que poseen varios canales de determinación, de manera que cada muestra es sometida a un proceso de análisis múltiple. Se llama también análisis multitest. Estos analizadores pueden, ser selectivos, es decir, que permiten seleccionar para cada paciente las pruebas que se deseen del repertorio total, sin necesidad de ejecutar sobre una muestra todas las determinaciones de que es capaz el analizador. Por su capacidad de el autoanalizador es capaz de llevar a cabo las distintas pruebas de forma simultánea se denomina Analizador simultáneo. El tipo de prueba puede variar ampliamente, pero por lo común se procesa sólo un número limitado de muestras por análisis.

Por otra parte, dependiendo del sistema de mezcla de muestras y reactivos, los analizadores pueden clasificarse en:

a. Analizadores discretos

Son instrumentos que disponen de un compartimento por cada reacción de la muestra. La mezcla de reactivo y muestra se produce en una cubeta individual,

físicamente separada de otras cubetas. La lectura se puede efectuar en la misma cubeta de reacción, o en otra cubeta diferente a la cual se trasvasa la muestra. El reactivo y la muestra se deposita en la cubeta de reacción por medio de agujas, que aspiran, impulsadas por jeringas de desplazamiento liquido positivo, las cantidades de ambos que determina la programacion de la técnica.

b Analizadores de flujo continuo

Son instrumentos que bombean continuamente reactivos a través de tuberías y serpentines para formar una corriente de flujo, bombeando después la muestra a esta corriente de flujo de reactivo. El bombeo de reactivos y muestras se hace mediante bombas peristálticas.

La proporción entre muestra y reactivo viene determinada por el control de las velocidades de bombeo de ambos.

c. Analizadores centrífugos

Son instrumentos que emplean la fuerza centrífuga para mezclar la muestra y reactivos. Estos son cargados en compartimentos separados de un rotor centrifugo. Cuando el rotor comienza a girar, la muestra y el reactivo son arrojados contra la periferia del rotor, y se mezclan. Las muestras se mantiene separadas mediante divisiones radiales. Un haz de luz atraviesa cada muestra a medida que esta rota sobre una fuente luminosa, midiéndose su absorbancia (o fluorescencia).

2.3. Contadores celulares

Son sistemas automatizados que permiten el recuento de elementos formes en un volumen determinado de muestra. La aplicación fundamental es el recuento de células sanguíneas (hematíes, leucocitos y plaquetas). En la mayoría de los casos trabajan con tubo primario, absorbiendo la muestra de sangre total con anticoagulante y separando la población celular que interesa por lisis del resto.

Los sistemas de recuento celular automatizado pueden tener distintos niveles de sofisticación, dependiendo sobre todo del grado de automatización de los distintos pasos del proceso de análisis.

2.4. Coagulómetros

Son sistemas automatizados que permiten determinar parámetros relacionados con la hemostasia. Estudian el sistema de coagulación y los diversos factores que en él influyen. Los hay de dos tipos dependiendo del sistema de análisis del coagulo:

Mecánicos: detectan el momento de formación del coagulo por las interrupción del movimiento de una pieza metálica.

Turbidimétricos/colorimétricos: detectan formación del coagulo por espectrometría.

2.5. Sistemas automatizados en microbiología e inmunología

Fundamentalmente se trata de sistemas que mediante lecturas de turbidez y/o espectrofotometría, extraen resultados relativos a crecimiento celular microbiano, metabolización de compuestos o presencia/ausencia de aglutinación por formación de inmunocomplejos. Las aplicaciones son diversas pero el fundamento es el mismo. Generalmente se trabaja en placas multipocillo donde tiene lugar, bien la reacción inmunológica, bien el desarrollo microbiano. Los sistemas automatizados pueden disponer de incubador donde tiene lugar la reacción o el desarrollo del microorganismo y, tras el tiempo establecido, realizan las lecturas para cada pocillo con muestra, extrapolando los resultados con cuantificación de los fenómenos estudiados.

2.6. Sistemas automatizados para gasometrías

Sistemas automatizados que realizan determinaciones de gases en fluidos biológicos. Miden presión parcial de O2 y de CO2. También miden pH y calculan el exceso de base. La muestra más, habitualmente procesada es sangre arterial total, aunque admiten otras. El sistema de analisis es mediante electrodos selectivos

2.7. Procesamiento de datos

El autoanalizador de cualquiera de los tipos comentados, genera una señal analógica que es convertida en señal digital por convertidores analógico-digitales. De esta forma, las señales pueden ser procesadas por un computador digital, y mediante algoritmos varios convertirlas en información útil, como los resultados, que son presentados en formatos que dependen de la complejidad del programa del ordenador.

Los microprocesadores internos de los autoanalizadores cumplen funciones variadas: ordenan el trabajo del analizador puede enviar los datos procesados al ordenador del laboratorio, desde donde podrá emitirse el informe correspondiente a cada paciente.

3. Puesta en marcha de los sistemas automatizados

Para muchos de los equipos (automáticos o no) que se emplean en el laboratorio, la puesta en marcha debe realizarse con cierto margen de tiempo antes de su utilización. En muchos casos, para un correcto funcionamiento los sistemas deben alcanzar una determinada temperatura, pero para la mayoría de los sistemas automáticos, existe además un programa de autoverificación o chequeo, que el propio aparato realiza sobre sus mecanismos de funcionamiento. Tras el

encendido, el sistema analiza su estado y ofrece o no la opción de ser programado para trabajar. En la mayoría de los casos, los autoanalizadores disponen de alarmas que, tras el encendido, avisan de posibles disfunciones. Una vez que el analizador ha verificado sus sistemas, se procede a programar el mismo para el trabajo que ha de realizar.

4. Programación

La programación es la introducción de información en el autoanalizador para el correcto desarrollo del análisis. Cada aparato tiene su propio sistema de programación y será más complejo cuantos más parámetros sea capaz de determinar. Dependiendo de la forma de trabajo en un laboratorio, la programación de los sistemas automatizados se realizará de distinta forma. En general podemos decir que será necesario introducir datos sobre:

- Muestras a analizar.
- Parámetros a determinar.

En analizadores multicanal selectivos, deberemos introducir las determinaciones a realizar sobre cada una de las muestras que van a ser procesadas. En otros sistemas, será necesario programar la lista de trabajo para cada una de las determinaciones a realizar.

Tras la programación e introducción de las muestras, el sistema iniciará el trabajo como el usuario haya indicado.

5. Calibración

La calibración de los sistemas automatizados de laboratorio es imprescindible para obtener resultados fiables. Nada más instalar un instrumento analítico, de cualquier técnica, deberemos realizar sobre él, de forma programada, por lo menos las siguientes actividades:

- Calibración.
- Verificación.
- Mantenimiento.
- Control.

Se entiende por calibración el conjunto de operaciones que se realizan, de forma concreta, a un instrumento analítico, o a cualquier equipo de medida, para que nos garantice la exactitud de sus especificaciones. Consiste en comprobar la respuesta de un instrumento con un material de referencia, de propiedades conocidas

y si fuera necesario, aplicar un factor de corrección necesario para alcanzar el valor correspondiente.

El resultado de una calibración permite detectar los errores de indicación del instrumento de medida, del sistema de medida o de la medida materializada, o asignar valores a las marcas de escalas arbitrarias. Las medidas que se realizan en los instrumentos analíticos presentan, en algunos casos, ciertos errores que pueden aumentar la incertidumbre en los resultados analíticos que producen. Para evitar este problema, los instrumentos analíticos precisan de un PLAN DE CALIBRACION.

- **Plan de calibración**. El laboratorio definirá de entre los equipos de medida y ensayo que maneja, aquellos que por su influencia en los resultados deban ser sujetos a calibración. Para ello, se implanta y mantiene éste plan que definirá las actividades a realizar y su periodicidad.
- **Procedimiento**. La calibración de los equipos se realizará de acuerdo con instrucciones escritas. En ocasiones vienen publicadas por organismos nacionales e internacionales, y con más frecuencia, son suministradas por el fabricante. Cada procedimento de calibración incluya los puntos siguientes:
- Objeto.
- · Generalidades.
- · Alcance.
- Materiales necesarios.
- Requisitos previos.
- Recomendaciones.
- Operaciones a realizar.
- Toma de datos.
- Cálculo de resultados e incertidumbres
- Evaluación de los resultados.
- Certificado de Calibración
- Identificación del estado de calibración.

Periódicamente se realizará a los equipos las medidas oportunas, con los materiales de referencia adecuados. El laboratorio recogerá los resultados de las calibraciones que realice en un documento que contenga información suficiente de la actividad realizada, por ejemplo, identificación del equipo calibrado, procedimiento de calibración, identificación de patrones de calibración, condiciones ambientales, resultados, incertidumbres, persona que realizó la calibración, etc.

6. Control de calidad

Es aconsejable que en todos los laboratorios existan dos tipos de control de calidad:

- a) control de calidad externo
- b) control de calidad interno

Nos vamos a centrar sobre el control de calidad interno, pero antes tenemos que hacer mención al control de calidad externo.

a. Control de calidad externo

El programa de control de calidad estará incompleto a no ser que se incluya un control de calidad externo. Valoraremos nuestros resultados frente a otros laboratorios. El modo de hacerlo es analizando unas muestras desconocidas que nos ha suministrado una fuente externa. Estas fuentes nos entregarán la muestra y un formulario (donde pondremos el método utilizado, unidades ...) que luego enviaremos junto el resultado obtenido. Después nuestra fuente nos enviará un informe en el que veremos nuestro resultado, la media y la desviación estándar obtenida por otros participantes.

b. Control de calidad interno

Un control de calidad debe incluir siempre al menos dos niveles de control. Normalmente se tiende a tener un valor que permita diferenciar un valor normal de uno anormal y otro que esté incluido en el rango anormal (control normal y control patológico). Estos controles generalmente se distribuyen en alícuotas para evitar pérdidas por evaporación que supondrían cambios en la concentración.

Los datos que obtenemos en el control de calidad diaria se pueden representar gráficamente para tener una mejor visualización de los datos.

7. Principios y técnicas estadísticas para aceptación y rechazo del control de calidad interno

Dentro de estas técnicas nos vamos a encontrar con los gráficos control; estos gráficos se realizan utilizando parámetros estadísticos. El parámetro estadístico por excelencia es la desviación estándar.

TEMA 10. HISTORIA LABORATORIO MUNICIPAL.

UN POCO DE HISTORIA

Ya en el siglo XIX, la ciudad de Sevilla estaba entre las ciudades que aspiraban a contar con un Laboratorio Municipal para cumplir la normativa sobre Laboratorios Municipales, y donde llevar a cabo las funciones relacionadas con la higiene y salubridad públicas.



El Laboratorio Municipal de Sevilla se crea en el año 1883, y desde entonces hasta ahora ha sido un instrumento discreto, pero clave, en la lucha por una Sevilla más saludable. El análisis de aguas y alimentos; la lucha contra plagas en la ciudad como ratas, insectos y otros vectores de enfermedades; el control de animales de compañía, la recogida de animales heridos o vagabundos o la lucha contra la rabia han sido tareas que ha venido desarrollando, adaptándose a las necesidades sanitarias de cada momento.

Desde entonces hasta ahora, este Servicio del Laboratorio ha ido adaptando sus funciones y estructuras a las necesidades de cada momento. En 1912 se instaló este Laboratorio en el edificio de calle María Auxiliadora, donde aún continúa parte del Servicio. Posteriormente se construyeron en la carretera de Alcalá las dependencias del Centro Municipal Zoosanitario "Ignacio Vázquez Muñoz", para albergar la Sección de Higiene Pública, y todo lo que conlleva: alojamientos para animales recogidos en la vía pública, horno incinerador para animales y para mercancías alimentarias intervenidas, y maquinaria, vehículos y almacén para las labores de Desinsectación, Desinfección y Desratización.



Igual que en el momento de su creación, este **Servicio del Laboratorio** intenta enfrentarse hoy en día, dentro de su ámbito de competencias, y de la forma que considera más eficaz, a los problemas sanitarios que presenta una ciudad

como Sevilla. Para ello se estructura en una serie de Secciones que desarrollan, entre todas, la línea de actuación del Servicio, con la idea clara de que la salud individual no será posible si no existe una salud comunitaria.

ESTADÍSTICAS DE LA SECCIÓN ANÁLISIS CLÍNICOS Y EPIDEMIOLOGÍA (AÑO 2013)

Esta Sección del Laboratorio Municipal realiza análisis clínicos dentro de las competencias asignadas a este Centro. Como se puede ver en los gráficos adjuntos, las procedencias principales son:

- Servicio de Prevención de Riegos Laborales, realizando un programa de prevención del cáncer de colón y los análisis clínicos de los reconocimientos médicos de empresa en trabajadores del Ayuntamiento.
- 2. **Inspección Veterinaria**: Estudio epidemiológico de los manipuladores de alimentos implicados en las toxiinfecciones alimentarias de la ciudad.
- 3. Análisis clínicos privados a los ciudadanos que los soliciten.

ANÁLISIS Y CONTROL DE CALIDAD

Estadísticas de los Negociados de Microbiología y Bromatología Química de la Sección de Análisis y Control de Calidad (año 2013)

Los Negociados de **Microbiología** y **Bromatología Química** del **Laboratorio Municipal** presentan las siguientes estadísticas de su labor de Salud Preventiva y Epidemiológica mediante el control normativo de los riesgos biológicos y fisicoquimicos de los alimentos y aguas, durante el año 2013.

Tipos de muestras analizadas

Durante el año 2013, la mayor parte de las muestras analizadas en los negociados corresponde a muestras de alimentos, un 72,2% frente al 27,8% de aguas.

Dentro de cada tipo de muestras:

• En cuanto a aguas, la mayor parte de las muestras corresponde a fuentes, torres de refrigeración y agua caliente sanitaria, que son las muestras

pertenecientes al *programa de prevención de la Legionelosis* de la Sección de Salud Medioambiental del Servicio de Salud.

- Otros tipos de muestras analizadas en los negociados son las aguas de pozo y las de suministro municipal
- En las muestras de alimentos sobresalen las **comidas preparadas**, tanto del grupo A como del B , que corresponden principalmente a las muestras del *programa de control de comedores colectivos* del Servicio de Consumo.
- También se destacan las muestras de **productos de la pesca** (pescados, bivalvos, gasterópodos y crustáceos), correspondientes al *programa de control de los productos de la pesca*, del citado Servicio de Consumo.

Procedencia de las muestras

La procedencia de las muestras analizadas en los negociados de la Sección de Análisis y Control de Calidad es muy diversa, pero principalmente destacamos:

- La gran mayoría proceden de la Inspección Veterinaria, responsable de la ejecución de las campañas de control de comedores colectivos y productos de la pesca, y de la Sección de Salud Medioambiental, responsable de la campaña de prevención de la Legionelosis.
- Otras procedencias son la Inspección de Consumo (campaña de control de leches), Servicio de Parques y Jardines (control de la calidad para el riego de las aguas de pozo empleadas en los parques y jardines bajo su adscripción) y de la propia Inspección de Laboratorio, que se lleva a cabo a solicitud del ciudadano.

Programas de control de muestras bromatológicas

Los diferentes programas de análisis de aguas y alimentos desarrollados por los distintos servicios municipales en los que participa el Laboratorio Municipal, en su vertiente de análisis y asesoramiento.

- Como hemos venido comentando hasta ahora, las muestras pertenecen principalmente a los programas de "Comedores Escolares", "Pescados y Productos de la Pesca" y "Legionella".
- Queremos destacar aquí también el programa de "Intercomparativos", en el que el número de muestras va aumentando sensiblemente cada año, debido al proceso de acreditación por la norma UNE-EN-ISO/IEC 17025 en el que está inmerso el Laboratorio desde hace unos años.

TEMA 11. PREVENCIÓN DE RIESGOS LABORALES

1. PRINCIPIOS GENERALES DE SEGURIDAD Y SALUD EN LOS LABORATORIOS

- El Diseño del Laboratorio (distribución, instalaciones, procedimientos de trabajo, etc.) debe ser el adecuado para el mantenimiento de un buen nivel preventivo.
- Se debe disponer de las instalaciones de emergencia o elementos de actuación como duchas, lavaojos, extintores, etc. además de los equipos de protección individual (también denominados EPIS).
- El laboratorio, incluidas las zonas de paso, salidas, vías, de circulación, equipos e instalaciones deben estar en perfecto estado de orden y limpieza, estableciendo para ello un mantenimiento periódico de las mismas.
- Los desperdicios, manchas y residuos de sustancias peligrosas se eliminarán con rapidez.
- Está prohibido realizar trabajos diferentes a los autorizados por los responsables directos, así como utilizar aparatos e instalaciones sin conocer previamente su funcionamiento.
- El personal debe lavarse las manos antes y después de su entrada en el laboratorio.
- La ropa de trabajo debe estar abrochada en todo momento, evitando vestir mangas anchas o colgantes, y tener los cabellos recogidos.
- Debe estar prohibido comer, beber y fumar en el laboratorio.
- Cuando se llevan lentes de contacto, será obligatorio el uso de gafas de seguridad.
- El buen estado de los productos y materiales así como su etiquetado debe comprobarse antes de su utilización.
- Todos los preparados deben estar etiquetados adecuadamente, estando prohibida la reutilización de los envases vacíos sin la retirada de la etiqueta original.
- Para el encendido de los mecheros Bunsen se recomienda la utilización de encendedores piezoeléctricos, intentando reducir al máximo el uso de llamas vivas una vez encendidos.
- Se deberá trabajar, siempre que sea posible y operativo, en las vitrinas.
- Una vez finalizada la operación o la tarea en el laboratorio, se deberán guardar los materiales y reactivos, limpiar el lugar de trabajo, y asegurarse la desconexión de aparatos, conductos de agua y gas, etc.

2. MANIPULACIÓN DE SUSTANCIAS QUÍMICAS.

2.1. Productos químicos como factores de riesgo

Las sustancias químicas peligrosas, son aquellos elementos químicos y sus compuestos, tal y como se presentan en su estado natural o como se producen por la industria, que pueden dañar, directamente o indirectamente a personas, bienes y/o medio ambiente.

Estas sustancias químicas, en función de su peligrosidad, se clasifican como:

- a) Explosivas.- Sustancias y preparados que pueden explosionar por el efecto de una llama o del calor, o que sean muy sensibles a los choques y a los roces.
- b) **Comburentes.-** Sustancias y preparados, que en contacto con otros, particularmente con los inflamables, originan una reacción fuertemente exotérmica.
- c) **Inflamables.** Sustancias y preparados cuyo punto de ignición es bajo. En función de su mayor o menor inflamabilidad se distinguen tres grupos:
 - Extremadamente Inflamables
 - Fácilmente Inflamables
 - Inflamables
- d) **Tóxicas.-** Sustancias y preparados que por inhalación, ingestión o penetración cutánea pueden alterar la salud de un individuo.

El grado de toxicidad se establece en tres categorías:

- Muy Tóxicas
- Tóxicas
- Nocivas
- e) **Corrosivas.** Sustancias y preparados que en contacto con el tejido vivo pueden ejercer una acción destructiva del mismo.
- f)Irritantes.- Sustancias y preparados no corrosivos, que por contacto inmediato, prolongado o repetido con la piel o las mucosas puedan provocar una reacción inflamatoria.
- g) Peligrosas para el medio ambiente.- Sustancias y preparados que, en caso de contacto con el medio ambiente, pueden suponer un peligro inmediato o futuro para uno o más componentes del mismo.
- h) **Cancerígenas.-** Sustancias y preparados que, por inhalación o penetración cutánea, pueden producir cáncer o aumentar su frecuencia.
- i) **Teratogénicas.** Sustancias y preparados que, por inhalación o penetración cutánea, pueden producir cáncer o aumentar su frecuencia.
- j) Mutagénicas.- Sustancias y preparados que, por inhalación, ingestión o penetración cutáneas, pueden producir defectos genéticos hereditarios o aumentar su frecuencia.
- k) Alergénicas.- Sustancias y preparados que, por inhalación o penetración cutánea, pueden ocasionar una reacción en el sistema inmunitario, de forma que la exposición posterior a esa sustancia o preparado de lugar a una serie de efectos negativos característicos.

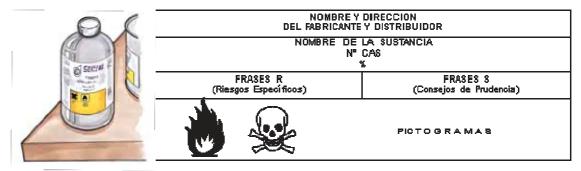
2.2. Identificación de sustancias y preparados peligrosos:

Cualquier producto químico presente en el lugar de trabajo debe contener información sobre el riesgo inherente de la sustancia o preparado.

Etiqueta

Es la primera información que permite identificar el producto en el momento de su utilización. Esta etiqueta debe ser bien visible y debe estar redactada en el idioma oficial del Estado. Su contenido es el siguiente:

- Nombre de la sustancia o del preparado.
- Nombre, dirección y teléfono del fabricante o importador.



• Símbolos, pictogramas e indicaciones de peligro para destacar los riesgos principales.



- Frases R que permiten complementar e identificar determinados riesgos mediante su descripción.
- Frases S que a través de consejos de prudencia establecen medidas preventivas para la manipulación y utilización.

Ficha de Datos de Seguridad

Esta ficha debe facilitarse obligatoriamente con la primera entrega de un producto químico y se compone de 16 apartados que incluyen la siguiente información:

- Identificación de la sustancia preparado y de la sociedad empresa.
- 2. Composición/ información sobre los componentes.
- 3. Identificación de los peligros.
- 4. Primeros auxilios.
- 5. Medidas de lucha contra incendios.
- 6. Medidas que deben tomarse en caso de vertido accidental.
- 7. Manipulación y almacenamiento.

- 8. Control de exposición/protección individual.
- 9. Propiedades físicas y químicas.
- 10. Estabilidad y reactividad.
- 11. Informaciones toxicológicas.
- 12. Informaciones ecológicas.
- Consideraciones relativas a la eliminación.
- 14. Informaciones relativas al transporte.
- 15. Informaciones reglamentarias.
- 16. Otras informaciones.

2.3. Recomendaciones de carácter general

- Se debe conocer la reactividad de los productos o la reacción.
- Siempre se debe utilizar una cantidad mínima de reactivos.

- La apertura de los frascos que contienen sustancias químicas deben realizarse lenta y cuidadosamente.
- Cuando un líquido se vierte desde el frasco al vaso ha de hacerse de manera cuidadosa, evitando las salpicaduras.
- En la manipulación de sustancias tóxicas o nocivas, se deberá evitar el contacto con la piel, la inhalación de los posibles vapores y la ingestión.
 - o Para coger las sustancias sólidas se emplearán cucharas o espátulas.
 - o Para coger líquidos se utilizarán pipetas de seguridad.
- Los trasvases han de realizarse de la siguiente forma:
 - En pequeñas cantidades o en zonas específicas.
 - o Las sustancias inflamables se trasvasarán lejos de un foco de calor.
 - Utilizar equipo de protección individual adecuado a la sustancia que se manipula, especialmente con sustancias tóxicas, irritantes y corrosivas.
 - o Emplear la ayuda de embudos, dosificadores o sifones.
- La eliminación de los residuos debe realizarse siguiendo las siguientes recomendaciones:
 - Las soluciones han de ser neutralizadas antes de su vertido por el desagüe.
 - No se deben guardar botellas vacías destapadas.
 - Las telas o papeles impregnados con sustancias o preparados químicos no se pueden tirar en las papeleras.
 - Se deberá tener contratado un gestor para la retirada de los residuos peligrosos, como los inflamables, metales pesados, etc.
- Siempre que se trabaja en un laboratorio se debe disponer de un adecuado equipo de protección individual (gafas de seguridad, guantes, equipos respiratorios, etc.) así como garantizar su perfecto estado de mantenimiento.
- Todo el personal debe conocer el funcionamiento de equipos extintores, aplicación de primeros auxilios del botiquín y los mecanismos para recibir ayudas exteriores.

3. ALMACENAMIENTOS DE PRODUCTOS QUÍMICOS

- Todo lugar de trabajo donde se manipulen productos químicos debe disponer de un almacén, preferiblemente externo, que esté perfectamente señalizado.
- Todos los productos deben estar adecuadamente etiquetados y registrados.
- Cualquier producto que no tenga etiqueta debe ser analizado adecuadamente para identificarlo y determinar sus características, o en su defecto destruirlo.
- Los productos químicos que tienen similares características deben estar agrupados, separando los incompatibles y aislando o confinando los de características especiales (muy tóxicos, cancerígenos, explosivos, pestilentes, etc.)
- Dentro de los laboratorios se puede disponer de armarios de seguridad con una resistencia al fuego, de forma que se puedan almacenar un mayor número de productos inflamables.
- Los productos agresivos deben almacenarse en armarios específicos, y nunca a una altura superior a 164 centímetros de altura.

- Los frigoríficos deben ser antideflagrantes o de seguridad aumentada para guardar productos inflamables muy volátiles.
- Los productos químicos deben conservarse en distintos materiales en función de sus características:
 - Sustancias que atacan al vidrio: Recipientes de materiales sintéticos o metálicos.
 - Sustancias que se descomponen a la luz: Recipientes de vidrio opaco o vidrio oscuro.
 - Metales alcalinos: Con capa protectora de solvente de elevado punto de ebullición.
 - o Fósforo blanco: Bajo una capa de agua.
 - Cantidades de mercurio superior a 3 Kg: Recipientes de acero con cierre de rosca.

4. MANIPULACIÓN DE MICROORGANISMOS

Para poder definir normas básicas de seguridad y salud referentes a la manipulación de microorganismos, es necesario definir los siguientes conceptos:

- Microorganismos.- Toda entidad microbiológica, celular o no, capaz de reproducirse o de transferir material genético.
- Cultivo celular.- Es el resultado del crecimiento "in Vitro" de células obtenidas de organismos multicelulares.
- Agentes Biológicos.- Microorganismos, con inclusión de los genéticamente modificados, cultivos celulares y endoparásitos humanos, susceptibles de originar cualquier tipo de infección, alergia o toxicidad.

Dentro de los agentes biológicos se distinguen los siguientes tipos:

- Bacterias.- Organismos unicelulares simples que se multiplican por división simple.
- Virus.- Agentes no celulares, inferiores a las bacterias, incapaces de crecer o multiplicarse fuera de una célula viva.
- Hongos.- Tienen una estructura vegetativa, denominada micelio.
- o **Parásitos.-** Organismos superiores asociados a plantas y animales...
- Rickettsias.- Microorganismos de forma cocoide o bacilar. Su tamaño es inferior al de las bacterias. Dependen de otros organismos y están asociados con artrópodos vectores.

Siempre que se manipulen muestras biológicas, aunque no sean infecciosas o tóxicas, y sobre todo cuando son desconocidas, hay que tener en cuenta las siguientes medidas de seguridad e higiene:

- Lo primero que se debe tener en cuenta es el diseño de los laboratorios dedicados a tal fin. Sus paredes, suelos, techos e incluso las superficies de trabajo deben cumplir las siguientes características:
 - o Ser lisos.
 - Fáciles de limpiar.
 - o Impermeables al agua.
 - o Resistentes a cualquier ácido, álcalis, disolventes y desinfectantes.
- Debe estar restringido el acceso a las instalaciones cuando en ellas se esté desarrollando algún tipo de actividad.
- Todo el equipamiento del laboratorio debe estar en perfecto estado de orden y limpieza.
- Está prohibido comer, beber o fumar en el laboratorio.
- Todo el personal debe utilizar prendas adecuadas (batas, uniformes, etc) gafas de seguridad y guantes de forma rutinaria. En caso de manipular agentes infecciosos, además se utilizará equipo de protección respiratoria.
- Cada individuo debe ser responsable de su higiene personal, lavándose antes y después de su estancia en el laboratorio con abundante agua y jabón.
- Siempre que sea posible, utilizar Cabinas de Seguridad Biológicas, Clase I, II y III.
- Los equipos del laboratorio deben ser manipulados teniendo en cuenta las siguientes recomendaciones:
 - Las pipetas se deben manipular con dispositivos de aspiración mecánica. NUNCA con la boca.
 - Los materiales infecciosos deben ser introducidos en la centrífuga de forma cuidadosa, en recipientes (envases o tubos) cerrados.
 - En caso de rotura de uno de estos recipientes en el interior de la centrífuga, dejar reposar unos 30 minutos después de la parada.
 - o La retirada de vidrio roto infectado, deberá realizarse con guantes resistentes al corte.
- Todo el material utilizado debe ser desinfectado o esterilizado correctamente, siguiendo procedimientos específicos.
- Se debe disponer de un almacén de seguridad para agentes biológicos.
- Todos los productos deben etiquetarse y guardarse en lugar seguro una vez finalizado el trabajo en el laboratorio.

5. MANIPULACIÓN DE MATERIAL DE VIDRIO

- Antes de utilizar cualquier material de vidrio hay que verificar su buen estado, y en caso negativo, desecharlo.
- Cuando el material utilizado sufre algún golpe violento, desecharlo, aunque no se detecte ninguna anomalía de consideración.
- El vidrio debe ser calentado interponiendo una malla metálica entre la llama y el material.
- Cuando se realizan montajes de vidrio se deben seguir las siguientes recomendaciones:
 - o Evitar que los materiales utilizados queden tensionados.
 - o Utilizar soportes y abrazaderas.

- Usar grasa de silicona en todas las fijaciones y tapones de plástico (siempre que sea posible) para evitar atascos.
- Los balones de vidrio han de ser introducidos en los baños de forma lenta y progresiva y su secado debe ser mediante aire comprimido a bajas presiones.
- Para desatascar el material de vidrio se debe utilizar un equipo de protección individual adecuado, realizándose esta operación bajo una campana con pantalla protectora.
- La manipulación de las varillas de vidrio implica una serie de consejos que se detallan a continuación:
 - Hay que cortarlas sujetándolas con un trapo cerca de la señal por donde se va a realizar al corte.
 - Una vez cortadas se moldean las puntas mediante calentamiento.
 - Cuando se introducen por el orificio de un tapón, hay que mojar éste con agua para lubricar.
- Manipulación de pipetas:
 - Está terminantemente prohibido pipetear con la boca.
 - o Hacer uso, para la aspiración de fluidos por la pipeta, de las denominadas "peras de caucho".
 - Usar equipo de protección individual como guantes resistentes a la sustancia utilizada y gafas de seguridad, siempre que sea posible.

6. MANIPULACIÓN DE EQUIPOS ELÉCTRICOS

- Se debe disponer de un cuadro general en cada laboratorio, que tengan los siguientes componentes y características:
 - o Diferencial adecuado.
 - o Toma de tierra eficaz.
 - o Interruptor automático de tensión o magneto térmico.
 - o Distribución con protección en cabeza de derivación.
- No hacer un uso continuado de alargaderas y multiconectores.
- Todos los equipos empleados para trabajar con sustancias inflamables deben ser ignífugos.
- En los laboratorios de prácticas o los que tengan una humedad elevada se debe trabajar con bajo voltaje, (se recomiendan 24 V), y con enchufes estancos, con tapas, etc.

7. FRIGORÍFICOS

Los Frigoríficos que se utilizan en los laboratorios deben cumplir las siguientes características:

- No disponer de instalación eléctrica interior.
- Los destinados a guardar sustancias inflamables deben estar homologados para tal fin.
- No se debe guardar recipientes abiertos o mal tapados.
- Controlar la temperatura interior periódicamente.

8. APARATOS CON LLAMA

- Los equipos con llama deben disponer de un sistema de seguridad que permita el corte de suministro de gas en caso de emergencia.
- Los líquidos inflamables han de ser calentados a temperaturas inferiores a la de auto ignición.
- Se debe trabajar siempre bajo una campana de extracción.

9. DISPOSITIVOS DE CALEFACCIÓN

BAÑOS CALIENTES:

- Los baños no se deben llenar hasta el borde.
- Utilizar soportes para asegurar la estabilidad del baño.
- El vidrio que se utilice tiene que ser específico para aguantar altas temperaturas.
- En caso de utilizar dispositivos aislantes térmicos, no deben contener amianto.
- Siempre que sea posible, se deberá trabajar bajo un sistema de extracción localizada.
- Utilizar en todo momento un sistema de control de temperaturas.

ESTUFAS:

- Siempre que se trabaje con vapores inflamables, se deben utilizar estufas de seguridad aumentada o instalación antideflagrante.
- El calentamiento de sustancias volátiles implica el uso de un sistema de extracción localizada y filtros o un sistema de condensación para la retención de los mismos.
- Utilizar un sistema de control de temperaturas.

10. INSTALACIONES DE GASES

- Las bombonas de gases deben estar fijadas a un soporte mediante una cadena.
- Utilizar gafas de seguridad.
- Dentro del Plan de Emergencias quedarán reflejadas las pautas de actuación para casos de fugas e incendio en la boca de la botella.

11. CENTRÍGUGAS

- La carga debe ser repartida simétricamente.
- El equipo debe disponer de un sistema de seguridad, de forma que no permita su accionamiento con la tapa abierta o mal cerrada.
- El sistema de seguridad también debe impedir la apertura de la tapa siempre que esté en movimiento.

12. AUTOCLAVES

- El aparato debe disponer de un manómetro.
- El aumento de presión y la descompresión deben realizarse de forma progresiva.

13. INSTRUMENTAL ANALÍTICO:

A) Comatógrafo de gases

- Todo equipo, cuyo funcionamiento implique la emisión un foco de calor, debe estar ubicado en un lugar con una adecuada ventilación.
- El circuito debe ser cerrado, conectando la salida del divisor de flujo del inyector de capilares y de los detectores no destructivos al exterior.
- Uso de equipo de protección individual cuando sea necesario.

B) Comatógrafo de líquidos de alta resolución

- Las operaciones de trasvase de líquidos deben realizarse con guantes adecuados.
- El material de vidrio utilizado en las operaciones al vacío debe ser suficientemente resistente.

C) Espectrofotómetro de absorción atómica

- Usar un equipo de extracción localizada sobre la llama y ventilación general en la nave.
- Las digestiones ácidas deben realizarse bajo vitrina.
- Usar equipo de protección individual adecuado (guantes, gafas, etc)
- La manipulación de gases como acetileno (entre otros), debe hacerse siguiendo las recomendaciones que aparecen en el apartado sobre instalación de gases.
- Evitar el contacto visual con la llama o las lámparas utilizadas.

D) Espectrofotómetro de UV-VISIBLE e Infrarrojos, fluorímetro, etc

- Emplear gafas de seguridad frente a radiaciones UV e infrarrojas.
- Evitar el contacto de las radiaciones con la piel.
- En caso de formación de Ozono (gas tóxico detectable por el olfato), utilizar un equipo de protección respiratorio adecuado (con filtro de carbón activo) y avisar al responsable del laboratorio.

E) Instalaciones de rayos LASER

- La zona debe estar perfectamente señalizada.
- Establecer normas de trabajo seguras.

F) Instalaciones de radiaciones ionizantes

- El área afectada debe estar debidamente señalizada y con control de acceso.
- Uso de dosimetría individual y ambiental.
- Seguimiento de los límites anuales de dosis.
- Vigilancia médica.
- Utilización de equipos de protección adecuados.

14. ACTUACIÓN EN CASOS DE EMERGENCIAS:

A) Incendios

- Dar la alarma inmediatamente.
- El laboratorio debe estar dotado de extintores portátiles, adecuados a todos los posibles fuegos que se puedan generar, accesibles fácilmente.
- Todo el personal presente en el laboratorio debe conocer el funcionamiento de estos equipos y practicar de forma periódica con ellos.

- En caso de pequeños incendios, utilizar mantas (nunca agua), y si es la ropa la que se prende utilizar además la ducha de seguridad.
- Cuando se tenga que evacuar el laboratorio, hacerlo tranquilamente y cerrando todas las puertas.
- Hay que prestar especial atención a todos los compuestos altamente inflamables.

B) Quemaduras Térmicas:

- Primera intervención:
 - Lavar la zona afectada con abundante agua para enfriarla.
 - NO quitar la ropa que se encuentra pegada a la piel.
 - No romper las ampollas.
 - o Tapar la parte quemada con ropa limpia.
- No aplicar ninguna pomada, grasa o desinfectante en la zona afectada por la quemadura.
- No suministrarle bebidas ni alimentos.
- Permanecer como mínimo una persona junto al accidentado.
- Acudir siempre al médico, independientemente del grado de la guemadura.

C) Salpicaduras

- Lavarse con abundante agua durante 10 o 15 minutos, empleando siempre que sea necesario la ducha de seguridad.
- Si la salpicadura se ha producido en los ojos, lavarse con un lavaojos durante 10 o 20 minutos.
- Quitarse la ropa afectada por el producto.
- No intentar neutralizar el producto.
- Acudir al médico con la etiqueta o la ficha de seguridad del producto.

D) Ingestión

- Recopilar información (etiqueta o ficha de seguridad) sobre el producto ingerido y acudir con ella rápidamente al médico.
- Neutralizar o evitar la absorción del tóxico por el organismo en función de la naturaleza de la sustancia:
 - Ácido: Beber solución de bicarbonato.
 - o Base: Tomar bebidas ácidas (refrescos de cola).
- No provocar el vómito, salvo indicación expresa.
- En caso de duda consultar al servicio de información toxicológica

E) Vertidos

- Abrir todas las ventanas.
- Poner en marcha las vitrinas con las pantallas totalmente abiertas.
- Cerrar todos los aparatos con llama.
- Si el vertido es importante, evacuar el laboratorio, avisando al equipo de intervención provisto de material de protección adecuado.
- No permitir la entrada al recinto evacuado hasta asegurarse que la concentración ambiental del contaminante no presenta riesgo alguno (se puede utilizar medidores directos con sensores o en su defecto tubos calorimétricos específicos).

 Los vertidos se deberán absorber o eliminar en función de la naturaleza del mismos.

F) Fuga de gases

- Cuando la fuga de gas se ha producido en una instalación fija, cerrar los grifos de las botellas conectadas a la misma y comunicar al responsable del laboratorio para que ponga en marcha las actuaciones de emergencia adecuadas (evacuación, aviso a los bomberos, aislamiento del área, etc).
- Si la fuga de gas se produce en una botella y el gas no está encendido, seguir las siguientes normas de actuación:
 - o Aproximarse a la botella afectada siempre con el viento a favor.
 - o Cerrar el grifo si es posible.
 - Si la fuga es de un gas no inerte o distinto al oxígeno, avisar inmediatamente a los bomberos.
 - Utilizar un equipo de protección adecuado para trasladar la botella a un espacio abierto, fuera del alcance de personas e instalaciones, señalizando las zonas afectadas e impidiendo el acceso a la misma.
 - o Una vez en el exterior, controlar la botella hasta su total vaciado.
 - o Avisar al suministrador de la botella una vez pasado el peligro.
- Si la fuga de gas se produce en una botella y el gas está encendido, seguir las siguientes normas de actuación:
 - Cerrar el grifo siempre que sea posible.
 - Utilizar para la extinción de la misma un extintor, preferiblemente de polvo.
 - Una vez apagada la llama hay que tener en cuenta la fuga de gas en el recinto (sobre todo si éste es cerrado), y actuar según las indicaciones que se describen en el punto anterior.
 - Si debido a la peligrosidad del gas, se decide no apagar la llama, avisar inmediatamente a los bomberos.

G) Electrocución

- Cortar inmediatamente la alimentación eléctrica del aparato causante de la electrocución. NO acercarse antes a la víctima.
- Retirar al accidentado una vez que nos hemos asegurado del corte de suministro eléctrico.
- Si fuese necesario practicar la reanimación cardiorrespiratoria (siempre por personal cualificado).
- Para activar la respiración NO suministrar productos, alimentos o bebidas.

H) Mareos o pérdidas de conocimiento debidos a una fuga tóxica persistente.

- Antes de acercarse a la zona donde se encuentra el accidentado comprobar la concentración de contaminante en la atmósfera, así como la concentración de oxígeno presente.
- En caso de que exista riesgo de intoxicación, utilizar un equipo de protección respiratorio adecuado al contaminante (si hay suboxigenación utilizar un equipo de respiración autónoma) para retirar al accidentado y poder ventilar la zona afectada.

- Debe haber otra persona fuera de la zona afectada que pueda dar la alarma en caso de pérdida de conocimiento del rescatador.
- Una vez trasladado el herido a un lugar seguro, actuar de la siguiente manera:
 - o Recostarle sobre el lado izquierdo.
 - o Aflojar toda prenda que pueda oprimirlo.
 - o Verificar si ha perdido el sentido y si respira.
 - o Tomarle el pulso.
 - Si fuese necesario practicar la reanimación cardiorrespiratoria (siempre por personal cualificado).
 - No suministrar alimentos, ni bebidas ni productos para la activación respiratoria del accidentado.

15. OBLIGACIONES DE LOS TRABAJADORES EN PREVENCIÓN DE RIESGOS LABORALES.

El artículo 29 de la Ley de Prevención de Riesgos Laborales asigna al trabajador la obligación de velar por su propia seguridad y salud en el trabajo y por la de aquellas otras personas a las que pueda afectar su actividad profesional.

En particular los trabajadores con arreglo a su formación y siguiendo las instrucciones del empresario deberán:

- Usar adecuadamente las máquinas, aparatos, herramientas, sustancias peligrosas, equipos de transportes y, en general cualesquiera otros medios con los que desarrolle su actividad.
- Utilizar y mantener correctamente los medios y equipos de protección facilitados por el empresario, solicitando su reposición en caso de deterioro.
- No poner fuera de funcionamiento y utilizar correctamente los dispositivos de seguridad existentes.
- Informar de inmediato a su superior jerárquico directo acerca de cualquier situación que, a su juicio entrañe un riesgo para la seguridad y la salud de los trabajadores.
- Cooperar con el empresario para que éste pueda garantizar unas condiciones de trabajo que sean seguras y no entrañen riesgos para la seguridad y la salud de los trabajadores.