

Tema N° 3: CONTROL DE MICROORGANISMOS: ESTERILIZACION

INDICE:

Tema N° 3: CONTROL DE MICROORGANISMOS: ESTERILIZACION	1
INDICE:	1
OBJETIVOS:	1
ESTERILIZACION	2
Definición de esterilización:	2
Modo de acción y objetivo:	2
Modo de acción:	2
Factores que influyen en la destrucción de microorganismos:	2
Métodos de esterilización:	3
Otros métodos relacionados con esterilización:	4
Acondicionamiento previo a la esterilización	4
Conducción:	5
Convección:	5
Radiación:	5
Técnica:	6
Primera ley:	7
Segunda ley:	8
Correspondencia entre temperatura y presión:	10
Diferencias que se producen por mal purgado	10
AUTOCLAVE DE CHAMBERLAND	11
Funcionamiento:	12
Controles del ciclo	12
Modo de acción:	13
- Filtración de Profundidad:	17
- Filtración Superficial:	17
Ventajas de filtros de superficie sobre los de profundidad:	17
Desventaja:	17
Filtros prensa:	17
Cassette:	17
Cartuchos:	17
ESTERILIZACION POR METODOS QUIMICOS:	18
Condiciones que debe reunir un gas esterilizante:	19
EQUIPOS:	19
CONTROLES DE ESTERILIZACION Y ESTERILIDAD:	24
--AGENTES DESINFECTANTES, ANTISEPTICOS Y BACTERICIDAS --	28
GLOSARIO:	30

OBJETIVOS:

- *Conocer los distintos métodos usados en esterilización en microbiología y los fundamentos del control de esterilización y de esterilidad.*

- *Conocer las metodologías relacionadas con la esterilización: uso de desinfectantes y antisépticos.*

ESTERILIZACION

Definición de esterilización:

Es el conjunto de operaciones destinadas a eliminar todas las formas viables de microorganismos, contenidos en un objeto o sustancia.

Objetivos:

A los fines del laboratorio de microbiología, la esterilización se efectúa para poder estudiar, conservar y transportar cultivos de gérmenes puros, lo que no podría hacerse sin previa esterilización del material y los medios de cultivo, pues sabemos que todos los ambientes están poblados de gérmenes. También se realiza para conservación de alimentos, acondicionamiento de materiales para cirugía y múltiples usos en donde la contaminación puede traer aparejados problemas de distinta índole.

Modo de acción y objetivo:

Modo de acción:

Es importante tanto por razones teóricas como prácticas, tener idea de como son inhibidos o destruidos los microorganismos. El conocimiento del modo de acción de un agente determinado, permite predecir las condiciones en que será más eficaz, así como su espectro antimicrobiano. Los posibles puntos de ataque son:

a.- Lesiones de la pared celular: ej. Bacterias Gram (+) atacadas por acción de la lisozima.

b.- Alteración de la permeabilidad de la membrana celular: compuestos fenólicos, detergentes sintéticos, jabones y compuestos de amonio cuaternario.

c.- Alteración de la naturaleza coloidal del protoplasma: Las temperaturas altas coagulan las proteínas celulares. Concentraciones excesivas de alcohol desnaturalizan las proteínas; también la luz, el ácido fénico y el formol.

d.- Interacción con las proteínas, enzimas y/o ácidos nucleicos bacterianos: Ej. óxido de etileno, radiaciones.

Factores que influyen en la destrucción de microorganismos:

Estos factores incluyen por un lado el agente utilizado y por el otro el microorganismo en sí.

Si el agente es físico debemos considerar su intensidad; o su concentración si es químico; el tiempo durante el cual puede actuar, la temperatura y humedad. También es importante considerar el material de empaque.

En cuanto al microorganismo se debe tener en cuenta el número de ellos, si están en estado vegetativo o esporulado, y el ambiente que lo rodea. La forma

vegetativa tiene una gran sensibilidad a la acción de los agentes físicos y químicos; y en cambio, las esporas microbianas son formas de resistencia a esos agentes; por lo tanto todo proceso de esterilización será correcto cuando elimine las formas de resistencia de cualquier microorganismo.

La carga biológica es el número de microorganismos existentes en el material a esterilizar. En general se determinan los microorganismos viables y el número de esporas. La determinación de la carga biológica influye directamente en el Índice de seguridad de la esterilización. Se admite un valor de 10^{-6} , que es la probabilidad de que una unidad del lote no sea estéril.

$$\text{SEGURIDAD DE ESTERILIDAD} = \text{CARGA MICROBIANA} - \frac{\text{LETALIDAD}}{\text{RESISTENCIA}}$$

Métodos de esterilización:

Existen diversos métodos cuya elección dependerá prioritariamente de la naturaleza del material a esterilizar. Asimismo se tendrá en cuenta la cantidad y variedad de elementos ya que esto difiere mucho en el uso hospitalario, el laboratorio de análisis microbiológicos o en la industria médico-quirúrgica.

Los útiles, aparatos y demás elementos que se emplean, así como el ambiente donde se prepara el material que se esteriliza y las personas encargadas de las distintas operaciones, deben reunir el máximo grado de limpieza.

- 1.1.a. Flameado
- 1.1. Seco → 1.1.b. Estufa de esterilización a seco
- 1. Calor
 - 1.2.a. Vapor fluente
 - 1.2. Húmedo → 1.2.b. Calor discontinuo o tindalización
 - 1.3.c. Vapor sobrecalentado
 - 1.4.d. Vapor saturado a presión

Métodos

Físicos

- 2.1. Rayos Ultravioletas
- 2. Radiaciones
 - 2.2. Rayos X
 - 2.3. Rayos Gamma
 - 2.4. Rayos Catódicos
- 3. Electricidad
- 4. Filtración

- Métodos Químicos
- 1. Esterilización por óxido de etileno
 - 2. Esterilización por formalina.

Otros métodos relacionados con esterilización:

1. Fenol y compuestos fenólicos
 2. Alcoholes
 3. Alcohol iodado
 4. Cloro y compuestos clorados
- Agentes desinfectantes, antisépticos y bactericidas.
5. Metales pesados y sus compuestos → E.1. Merthiolate
→ E.2. Nitrato de plata
 6. Oxidantes → F.1. Ozono
→ F.2. Agua oxigenada
 7. Reductores → Formalina
 8. Detergentes → Compuestos de amonio cuaternario.

Acondicionamiento previo a la esterilización

Como primera medida, el material a esterilizar debe someterse a una minuciosa limpieza y enjuague para eliminar la mayor cantidad posible de gérmenes. Una vez seco debe acondicionarse para preservar su condición estéril luego de procesado y hasta el momento de usarse. En la mayoría de los casos el elemento se envuelve en papel, si se trata de esterilización por vapor o en un doble pouch de polietileno para la esterilización por óxido de etileno. También se utilizan envases tipo blister que combinan polímeros plásticos y una cara de papel que ya trae incorporado el testigo químico adecuado. En hospitales es frecuente la utilización de cajas metálicas dotadas de válvulas que permiten la entrada y salida del agente esterilizante.

Cualquiera sea el material de empaque, este no debe interaccionar con el contenido ni interferir con el proceso de esterilización, por ej. en la eliminación del aire de los paquetes, penetración y/o desorción del agente esterilizante o sus residuos.

Una vez que el material está preparado debe ser dispuesto en la cámara del autoclave o estufa, cuidando de no apretar demasiado ni dejando espacios vacíos. Se pretende que el vapor de agua o el gas pueda fluir libremente y así alcanzar de manera homogénea, todos los puntos de la carga. Además se recomienda que en cada carga del aparato se incluya una sola clase de material ya que los distintos elementos tienen diferentes características de permeabilidad, absorción, desorción y resistencia al agente esterilizante.

En el caso de la esterilización por óxido de etileno, muchas veces se pueden incluir los rótulos del material entre la doble envoltura. También es importante verificar la integridad del termosellado ya que al trabajar con cambios de presión positiva a negativa es frecuente la destrucción del envoltorio.

En caso de utilizar testigos químicos, se colocarán en un lugar bien visible de la carga, de preferencia junto con la fecha de esterilización y otros datos pertinentes que identifiquen el ciclo de esterilización.

ESTERILIZACION POR METODOS FISICOS:

Los microorganismos como los demás seres vivos, son susceptibles a los cambios en las condiciones físicas del medio. Aunque pueden crecer en condiciones muy diversas, existen limitaciones a los cambios que una determinada especie puede tolerar. Las desviaciones extremas de las condiciones físicas favorables para los microorganismos, se traducen en la inhibición o la destrucción de los mismos.

1.- CALOR:**1.1- Calor seco:**

Este método se recomienda cuando no se quiere que el vapor o presión tenga contacto completo y directo con el material a esterilizar. Podemos esterilizar aquellos materiales de laboratorio que no se deterioran por acción de las altas temperaturas a que son sometidos, temperaturas a las cuales es necesario llegar para asegurar una perfecta esterilización debido al escaso poder penetrante del calor seco, que mata a las bacterias por oxidación, previa deshidratación, pudiendo llegar a una ligera carbonización. La temperatura de trabajo debe ser de 160°C y el tiempo depende del volumen del material, (por lo menos 2 horas).

El calor seco se usa principalmente a nivel industrial para esterilizar material de vidrio y otros materiales sólidos estables al calor como pinzas quirúrgicas, tijeras, etc. Cabe mencionar que se aplica cuando se necesitan rapidez en el proceso, aunque se prefiere el calor húmedo si el material lo resiste.

El material debe acondicionarse convenientemente. La temperatura a que se somete no debe pasar los 180°C, pues a esa temperatura comienzan a carbonizarse las cubiertas de papel y tapones de algodón. De todas maneras, un ligero oscurecimiento de esos complementos nos indica que se ha llegado a la temperatura efectiva de esterilización.

El calor puede ser transferido por 3 mecanismos: conducción, convección y radiación.

Conducción:

Es el mecanismo típico de transferencia de los cuerpos sólidos y se produce sin transferencia de materia. Se fundamenta en la transferencia de energía cinética de una molécula a su vecina.

Convección:

Es el mecanismo de transferencia de calor de los fluidos y se produce con cesión de energía cinética de las moléculas, y un intercambio de materia entre sustancias que se encuentran a temperaturas y densidades distintas.

Radiación:

Esta transferencia se hace bajo la forma de ondas electromagnéticas.

La muerte de un microorganismo por la aplicación de calor es la resultante de alguna reacción química, que posiblemente ocurra en un sólo punto del organismo y tal vez involucrando sólo una o dos moléculas complejas. La destrucción de estas moléculas complejas por el calor es posible que ocurra por los siguientes mecanismos:

- a.- Activación directa de la molécula por energía calórica, seguida por rotura de enlaces químicos internos sin la intervención de otras moléculas.
- b.- Reacción entre una molécula compleja de microorganismo y el oxígeno.
- c.- Reacción entre una molécula compleja y agua caliente o vapor.

1.1.a- Flameado:

Consiste en exponer el material a esterilizar directamente sobre la llama del mechero. Se aplica a aquellos materiales que no sufren deterioro por el tratamiento, que llega a calentar hasta el rojo (ansas, agujas, ganchos). Aquí la esterilización se logra por carbonización del protoplasma bacteriano.

1.1.b- Estufa de esterilización a seco:

Consta de una triple pared, generalmente metálicas, la exterior recubierta por un material aislante que puede ser lana de vidrio, amianto, etc.

El espacio entre las paredes permite la libre circulación del calor por convección, calor que proviene de una fuente de gas, o más frecuentemente de energía eléctrica. Las actuales vienen provistas de termostatos lo que nos evita una vigilancia continua una vez regulado el aparato a la temperatura deseada.

En la parte superior generalmente hay dos orificios, uno para colocar el termómetro de control, y el otro regulable para permitir la renovación del aire interior y la salida de los gases y vapores.

La tapa colocada al frente es también de triple pared. En su interior hay estantes metálicos regulables para acondicionar el material.

Técnica:

- Se prepara el material envolviendo en papel o protegiéndolo de otra forma para mantener la esterilidad luego del proceso.
- Es conveniente cargar el material cuando la estufa está a temperatura ambiente. Nunca se debe colocar sobre el piso de la estufa, sólo en los estantes.
- El material es sometido a la temperatura y al tiempo adecuado. En general 2 horas a 160 °C.

1.2- Calor húmedo:

Es el más usado de los métodos de esterilización debido a la acción mucho más penetrante del calor húmedo lo que facilita la coagulación de las proteínas bacterianas, coagulación que está en relación directa con el grado de hidratación.

Cabe recordar que las proteínas del huevo coagulan a 56°C si se elimina el 50% del agua; la coagulación se produce a 76°C con 25% de agua y a 145°C si sólo tienen una humedad del 6%. Por lo tanto, se considera que cuanto menor es la cantidad de agua libre en una célula bacteriana, mayor es la resistencia al calor. Este es el caso de las esporas, que prácticamente no tienen agua libre.

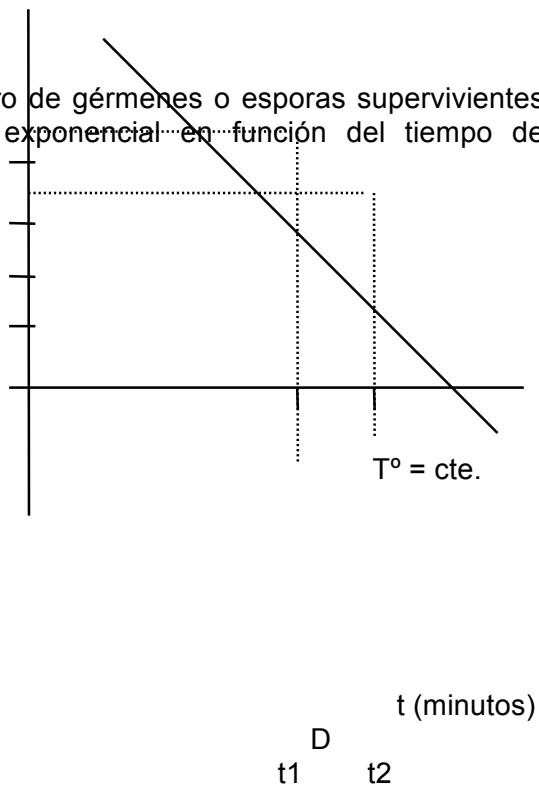
Otras ventajas incluyen el bajo costo y la ausencia de residuos tóxicos. Entre las desventajas podemos mencionar el largo tiempo de proceso y que no es aplicable a materiales termosensibles.

Leyes generales de la destrucción de los microorganismos por el calor:

Primera ley:

Para una temperatura dada el número de gérmenes o esporas supervivientes al tratamiento térmico decrece en forma exponencial en función del tiempo de aplicación del tratamiento.

Porcentaje de supervivencia	Porcentaje de destrucción	Log N
100	0	10.000
10	90	1.000
1	99	100
0,1	99,9	10
0,01	99,99	1



Manteniendo la temperatura constante, a medida que avanza el tiempo de tratamiento, la destrucción es logarítmica

$$N = N_0 \cdot 10^{-t / D}$$

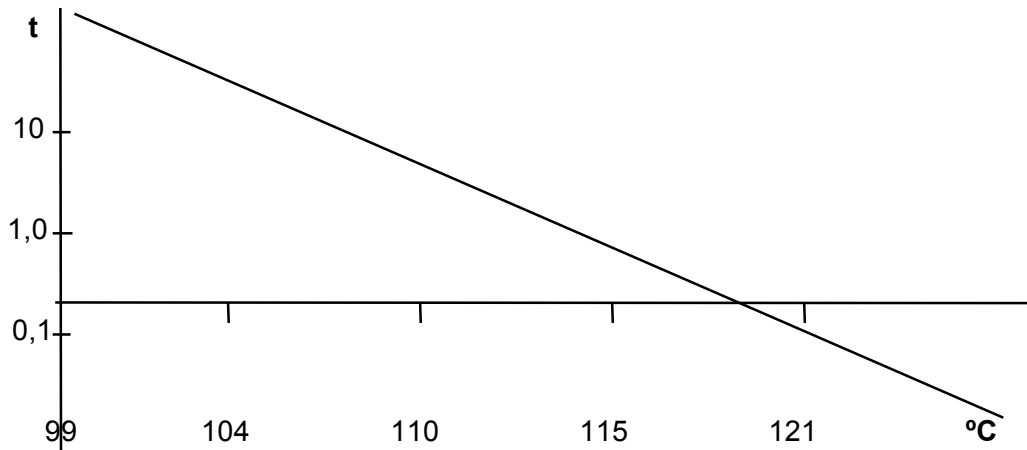
t = tiempo de esterilización en minutos

D = Tiempo necesario para que la concentración de microorganismos se reduzca en un logaritmo. Para soluciones acuosas diluidas el valor D a 121°C es de fracciones de segundo para los microorganismos y de 0,05 a 0,5 minutos para sus formas esporuladas.

N = Concentración de microorganismos.

Segunda ley:

Para una misma reducción de una población microbiana dada, la duración del tratamiento térmico decrece en forma exponencial en función de la elevación de la temperatura.



$$t = D \cdot \log N_0 / N_f$$

1.2.a- Vapor fluente:

Este método que consiste en someter el material a esterilizar a la acción del vapor de agua, padece del mismo problema que la ebullición, pues el vapor de agua a presión atmosférica nunca pasa de 100°C.

Se lo utiliza para medios de cultivo o sustancias que no pueden soportar grandes temperaturas sin destruirse o desnaturalizarse.

1.2.b - Calor discontinuo o tindalización:

Se utiliza para conservar ciertos alimentos o esterilizar medios de cultivo que no pueden sufrir la acción de altas temperaturas (medios con azúcar, suero sanguíneo, etc.).

Consiste en someter el material a esterilizar a calentamientos durante un tiempo determinado varios días, seguidos de períodos de reposo o incubación, al cabo de los cuales se considera que el material está estéril. Esto se basa en que en presencia de formas vegetativas y esporuladas, las primeras mueren en el primer calentamiento, mientras que en el proceso de reposo las formas esporuladas pasan a vegetativas y son eliminadas en el segundo calentamiento, los posteriores calentamientos sirven para completar el proceso.

El tiempo de calentamiento y el número de los mismos varía según la temperatura a la que se trabaje, en forma general se puede esquematizar de la siguiente forma:

<u>Temperatura</u>	<u>Tiempo</u>	<u>Nº de calentamiento</u>
90 - 100°C	30 min.	3
70 - 80°C	60 min.	3
60 - 70°C	60 min.	5
50 - 60°C	60 min.	8

Es cómodo para efectuar esta técnica un baño María de nivel constante provisto de termostato. A 100°C, se puede utilizar el autoclave de Chamberland.

Es un método largo, engorroso, inclusive no es seguro por lo que se debe usar en casos extremos cuando no se puede aplicar otro, y se deben hacer pruebas de esterilidad.

1.2.c- Vapor sobrecalentado:

Cuando la temperatura del vapor es superior a la que corresponde por la presión que soporta, se comporta como un gas.

Se obtiene haciendo pasar el vapor producido por una caldera a través de tuberías donde sufre un nuevo calentamiento. A pesar de ser más elevada la temperatura su presión disminuye al aumentar el volumen por lo que es escaso su poder penetrante.

1.2.d-Vapor saturado a presión:

El agente esterilizante es el vapor a presión exento de aire u otros gases, que hidrata las bacterias y favorece su coagulación.

Este procedimiento se consigue por medio de aparatos denominados autoclaves. Los primeros autoclaves requerían de ciclos muy largos y tediosos, pero actualmente se han introducido muchas innovaciones que hacen de este método de esterilización el más apropiado para gran diversidad de materiales y contenedores. Por ej. el enfriamiento por ducha para cargas embotelladas, el esterilizador de alta presión para cargas porosas (textiles) y los esterilizadores flash de alta temperatura en la industria alimenticia, autoclaves de presión compensada para contenedores semirígidos. Hoy en día todos los autoclaves están automatizados y registran gráficamente las variables de temperatura vs. tiempo de cada ciclo.

De acuerdo al tipo de material y su contenedor o envoltura, el ciclo a aplicar será diferente pero constará siempre de las siguientes fases:

1. **Fase de calentamiento:** el tiempo de subida de la temperatura depende de la masa y el volumen de la carga, su disposición y del suministro de vapor. Previamente se debe eliminar totalmente el aire y otros gases no condensables. Si existe aire dentro de la cámara aunque transcurra el tiempo necesario nunca se llegará a la temperatura prefijada.

2. Fase de exposición: es la fase de muerte de los microorganismos, por lo tanto es función de la carga bacteriana inicial, la resistencia de los microorganismos y el grado de reducción de la población inicial que se pretende alcanzar.

Este tiempo se puede calcular con las leyes de termo destrucción, y comienza en el momento en que se alcanza la temperatura de esterilización dentro de la cámara.

Además se agrega un tiempo de seguridad o de sobre exposición que es igual a la mitad del tiempo empleado para el calentamiento más 2 minutos (Normas DIN).

3. Fase de enfriamiento y secado: en esta etapa se utiliza vacío para extraer el vapor de los paquetes. La temperatura deja de ser un parámetro crítico pero si el material no fue convenientemente envuelto surgen problemas con los envoltorios. Es importante recordar que solo pueden usarse papeles con una porosidad adecuada. Las fibras de poliamida están contraindicadas por esta razón.

El ciclo de esterilización más empleado en la industria farmacéutica, laboratorios y hospitales es el vapor saturado a una temperatura de 121°C durante no menos de 15 minutos de exposición. Esta temperatura se logra por vapor de agua a una atmósfera de sobre presión con respecto a la presión atmosférica.

En el uso del autoclave es muy importante permitir que el vapor de agua desplace totalmente el aire de la cámara de esterilización antes que la temperatura y la presión aumenten. De no ser así, la presión resultante será la suma de las presiones parciales del aire y del vapor de agua. Teniendo en cuenta que para una misma presión la temperatura del aire es mucho menor que la del vapor de agua, la temperatura resultante será tanto menor cuanto mayor proporción de aire contenga la cámara.

Correspondencia entre temperatura y presión:

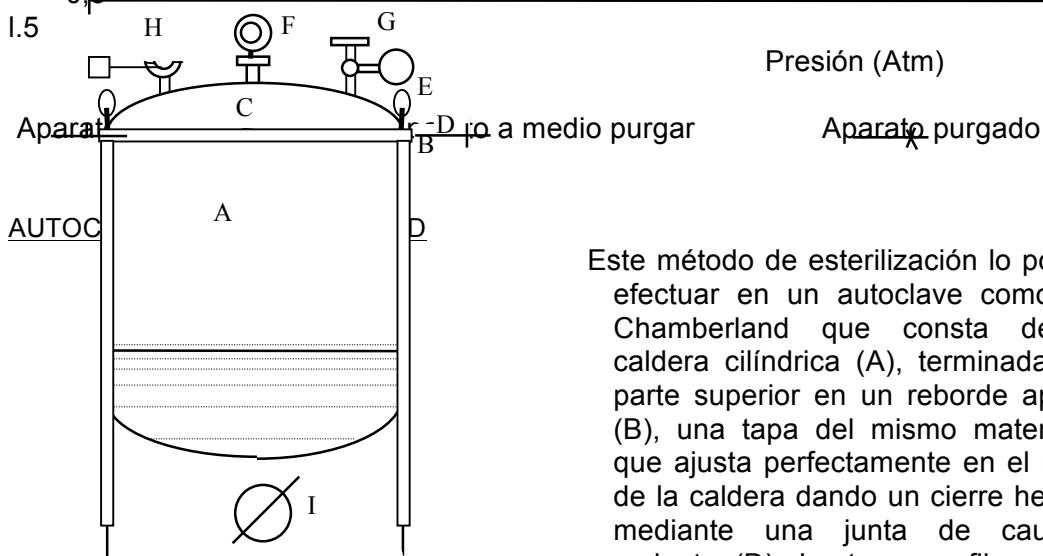
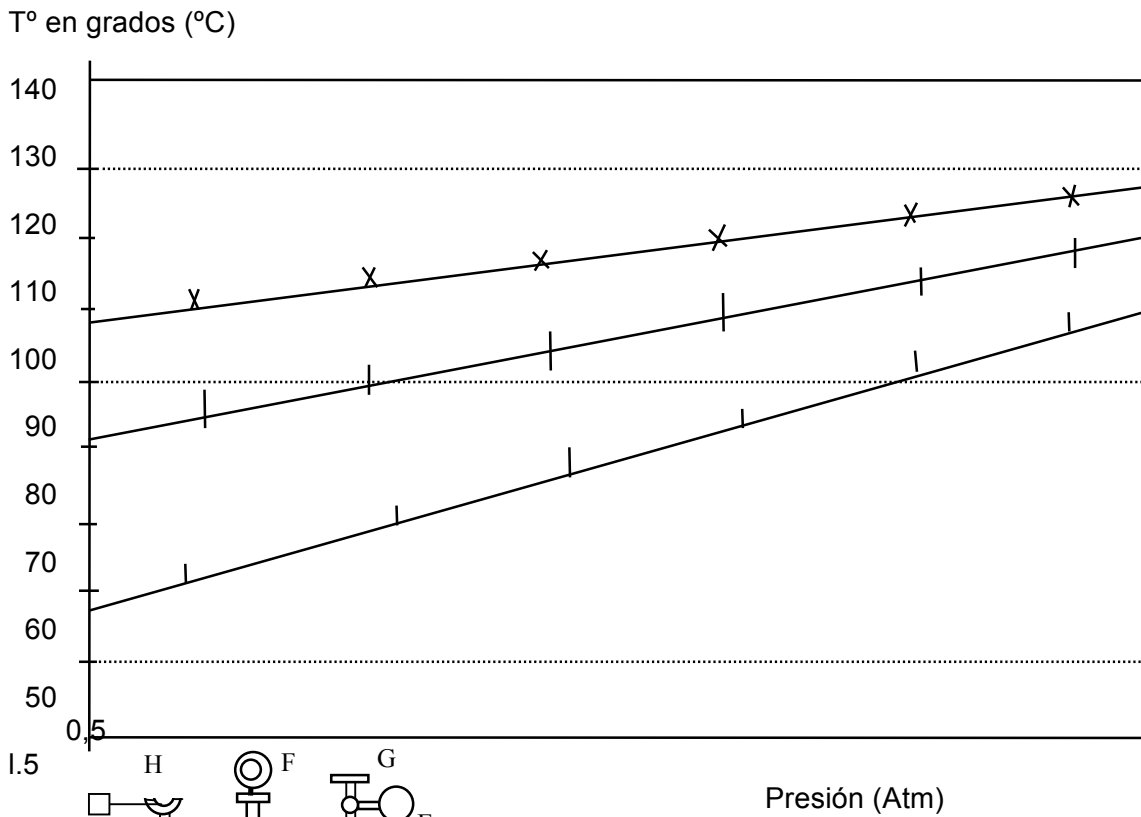
Veremos ahora la correspondencia entre la presión y la temperatura del vapor en un aparato perfectamente purgado, teniendo en cuenta que el manómetro nos indica "0" cuando la temperatura del vapor de agua es de 100°C, o sea cuando se equilibra con la presión atmosférica, es así que el manómetro nos indica atmósferas de sobre presión con respecto a la atmosférica.

0 atmósfera.	100°C
$\frac{3}{4}$ "	115°C
1 "	121°C
$1 \frac{1}{2}$ "	127°C
$1 \frac{3}{4}$ "	130°C
2 "	135°C

Diferencias que se producen por mal purgado

A continuación señalaremos en un gráfico los errores que se someten al no purgar bien el aparato, veremos como para determinada presión difieren las temperaturas con los distintos grados de evacuación del aire.

	Aparato purgado	Aparato a medio purgar	Aparato sin purgar
0,5 atm. :	110°C	93°C	70°C
1 atm. :	120°C	105°C	90°C
1,5 atm. :	127°C	120°C	108°C



Este método de esterilización lo podemos efectuar en un autoclave como el de Chamberland que consta de: una caldera cilíndrica (A), terminada en su parte superior en un reborde aplanado (B), una tapa del mismo material (C), que ajusta perfectamente en el reborde de la caldera dando un cierre hermético mediante una junta de caucho o amianto (D). La tapa se fija mediante tornillos (E) para permitir presiones elevadas en su interior. Sobre la tapa hay un manómetro (F) que indica la presión interior, una espita (G) para el purgado del autoclave y una válvula de seguridad (H). La calefacción de la caldera (I) puede ser a gas o eléctrica.

Funcionamiento:

- Colocar en el interior de la caldera agua hasta una altura aproximada de 5 cm. o hasta la rejilla.

- Poner el material a esterilizar, previamente acondicionado de manera que no toque el agua.

- Cerrar la tapa y ajustar los tornillos en cruz.

- Abrir la espita.

- Encender el mechero.

- Cuando por la espita aparezca un chorro continuo de vapor, la cámara estará purgada y se cierra la espita.

- Controlar el manómetro. Cuando la presión llega al valor elegido (generalmente 1 atmósfera), se comienza a controlar el tiempo (generalmente 15'), cuidando que la presión no se modifique, regulando la cantidad de gas.

- Transcurrido el tiempo fijado, se apaga el gas, se deja enfriar, SE ABRE LA ESPITA, y recién luego se puede abrir el autoclave.

Controles del ciclo

Los parámetros críticos que deben controlarse son la temperatura, presión y el tiempo de exposición.

La temperatura se mide con una sonda situada en el punto más frío de la cámara. El valor elegido habitualmente es 121°C y se admite una variación de +/-1°C.

El tiempo de exposición también debe registrarse y documentarse para cada ciclo. Siempre que la temperatura o el tiempo de exposición sean menores a lo establecido, la carga debe reesterilizarse.

Las variaciones de presión afectan la integridad del cierre o del contenedor.

Todos los instrumentos de registro deben calibrarse periódicamente

2- RADIACIONES:

Es el fenómeno de emisión y propagación de la energía en el espacio o a través de un medio material. Las radiaciones de acción nociva sobre los microorganismos son las siguientes:

2.1- Rayos ultravioletas:

La porción ultravioleta del espectro incluye todas las radiaciones desde 150 a 3900 Å. Se usan lámparas germicidas que emiten concentraciones elevadas de luz ultravioleta en su región más efectiva, 2600 a 2700 Å. Se usan para reducir la población microbiana en quirófanos, cuartos de llenado aséptico en la industria farmacéutica, y en la industria de alimentos para tratar superficies contaminadas. Una consideración práctica es que la luz ultravioleta tiene muy poca capacidad para penetrar la materia. Aún una pequeña capa de filtro de vidrio quita gran cantidad de luz. Así, solo los microorganismos que se encuentran en la superficie de los objetos que se exponen directamente a la acción de la luz UV. son susceptibles de ser destruidos.

Modo de acción:

La luz U.V. es absorbida por muchos materiales celulares, pero más por los ácidos nucleicos, a los cuales causa gran daño. Producen dímeros de pirimidina y a menos que sean reparados, se inhibe la replicación del DNA y puede haber mutaciones.

2.2- Rayos X:

Son letales para los microorganismos y formas de vida superior.

Al contrario de la radiación ultravioleta, los rayos X tienen considerable energía y capacidad de penetración. Sin embargo, no son prácticos para el control de poblaciones microbianas porque: a) cuesta mucho producirlos en cantidades suficientes y b) son difíciles de utilizar eficientemente ya que las radiaciones salen en todas direcciones a partir del punto de origen. Aún así los rayos X se han empleado mucho en experimentos para producir mutantes microbianos.

2.3- Rayos Gamma:

Son radiaciones de alta energía emitidas por isótopos radiactivos como el Cobalto 60. Son similares a los rayos X pero tienen longitud de onda más corta. Tienen gran poder penetrante y son letales para los microorganismos.

Debido a su gran poder de penetración y efecto microbicida, los rayos Gamma resultan cómodos para usarlos en la esterilización de materiales de considerable grosor como alimentos empacados. Actualmente está desplazando al óxido de etileno ya que es aplicable a los materiales termo sensibles sin dejar residuos tóxicos.

2.4- Rayos Catódicos:

Es aquel flujo de electrones que emerge del cátodo cuando se establece un potencial elevado entre el cátodo y el ánodo dentro de un tubo que contiene gas muy enrarecido. Se utiliza para esterilizar material quirúrgico, medicamentos y otros productos; y tiene la característica de que se puede realizar después de empaquetado el material y a temperatura ambiente.

3- ELECTRICIDAD:

El paso de corriente eléctrica a través de líquidos que contengan bacterias mata a un porcentaje de éstas. La causa de la muerte se puede atribuir: a) al alza de la temperatura producida por la corriente y b) a cambios químicos iniciados por la corriente, como la producción de cloro y ozono en cantidades muy pequeñas. La aplicación de la corriente eléctrica como agente práctico para destruir microorganismos es limitada, aunque se han diseñado equipos que se usan para pasteurizar leche, jugos de frutas y desinfectar agua.

4- FILTRACION:

Es un método de esterilización lento, caro y al que sólo se recurre cuando se trata de líquidos que por su composición no pueden someterse a calentamiento. Es una operación que permite separar sólidos de fluidos que los mantienen en suspensión, haciéndolos pasar a través de medios porosos llamados filtros.

Es costumbre forzar el paso del líquido a través del filtro, aplicando presión, vacío o centrifugación en grado no muy intenso. Para optimizar el proceso es frecuente utilizar varios pasos de filtración desde mayor a menor porosidad, siendo 0,2 micrones el filtro adecuado en el punto final de envasado cuando se pretende esterilidad. Todo este procedimiento debe realizarse en áreas asépticas y por personal entrenado para tal fin.

Este procedimiento esteriliza basándose en dos principios fundamentales:

a- *Adsorción*: Es un fenómeno físico-químico de atracción de partículas de carga eléctrica distintas.

b- *Tamiz*: Es por la simple remoción de partículas sólidas a través de una sustancia porosa, teniendo en cuenta el tamaño de las partículas y el diámetro del poro.

Condiciones que deben reunir los filtros:

- No alterar la composición del líquido.
- Tener porosidad uniforme sin determinar pérdida en el flujo líquido.
- Retener gérmenes con seguridad.
- Soportar las diferencias de presión necesarias para obtener un caudal eficaz y no sufrir alteraciones estructurales por acción de las soluciones.
- Fácil de limpiar o de preferencia descartable.
- Soportar esterilización por vapor a 121°C.
- No ceder partículas extrañas al filtrado.

En el pasado se usaban filtros de Pasteur, Chamberland, Sestz y Berkefeld, constituidos de diversos materiales como vidrio incrustado, vidrio poroso, materiales cerámicos como porcelanas o materiales fibrosos como placas de amianto o celulosa. Son filtros de profundidad que actúan por adsorción o atrapamiento aleatorio en la matriz filtrante. Dan flujos lentos y de difícil limpieza. Los filtros de Seitz son discos de amianto prensado de diversos espesores y son descartables.

Actualmente los filtros más utilizados son de Nylon 66, polipropileno, poliamida y fluoruro de polivinilideno.

Los filtros de nylon son hidrofílicos, resisten hasta 16 hs. de autoclave, son químicamente compatibles con la mayoría de los fluidos y tienen un coeficiente muy bajo de extractables. Tienen muchos usos, en la industria farmacéutica existen de 0,45 um para LVP, 0,2 micras para SVP, 0,1 micras para retención de micoplasmas y 0,04 micras para retención de partículas virales. Además existe una modificación que consiste en la inclusión de grupos de amonio cuaternario en la matriz. Esto le proporciona un electropotencial zeta positivo, capaz de retener las endotoxinas y otros contaminantes de carga negativa y de tamaño inferior a 0,2 micrones

Los filtros de poliamida son más indicados para fluidos con alta proporción de proteínas ya que este material tiene baja adsorción. Se utiliza mucho en los productos obtenidos por DNA recombinante.

Los filtros de fluoruro de polivinilideno existen en variedades hidrofílicas e hidrofóbicas. Los primeros se usan para filtrar fluidos a altas temperaturas. Resisteen hasta 90°C y el tamaño de poro es de 0,2 um. Los segundos se usan para la filtración de gases y aire, por ejemplo en la entrada de los fermentadores o equipos que tiene alguna etapa de venteo con aire estéril.

Los filtros de polipropileno pueden ser de profundidad o de superficie. Son muy económicos y de larga duración. También son autoclavables y pueden solicitarse con carga positiva para usos especiales. Existe un amplio rango de tamaño de poro, de 0,3 a 120 micrones para múltiples usos industriales, médicos y domésticos.

Los filtros de fibra de vidrio son poco usados por la gran cantidad de incompatibilidades químicas. Sin embargo son aptos para soluciones acuosas a bajas presiones donde se prefiere la larga vida útil del filtro.

Para la filtración de vapor los más adecuados son filtros de acero inoxidable, resistentes a altas temperaturas y a la corrosión. Generalmente se disponen en las líneas de alimentación de vapor en la industria alimenticia y en la esterilización industrial.

Las bujías filtrantes se emplean para filtrar pequeños volúmenes, aún así se agotan rápidamente por saturación del poro. Las de Chamberland son de porcelana y las de Berkefeld de material calcáreo y poros más grandes. Además de la difícil limpieza y lentitud del procedimiento son frágiles. Se esterilizan en estufa por calor seco a temperaturas no muy altas.

Prof. Tit. Microbiol. Gral Dr. Oscar Héctor Pucci

4.1- Tipo de filtración:**- Filtración de Profundidad:**

Se componen de una masa permeable, constituida por fibras dispuestas irregularmente, pueden ser de celulosa, amianto, etc. Los sólidos más grandes que el tamaño del poro se depositan sobre la superficie por simple efecto de tamizado.

Las partículas más pequeñas que los poros son retenidas en la profundidad del medio filtrante, por acción de diferentes mecanismos de retención (adhesión o adsorción). Esto hace que los filtros de profundidad tengan mayor superficie efectiva.

- Filtración Superficial:

Los filtros de membrana (muy usados actualmente) son estructuras finas, rígidas y homogéneas. El filtro retiene toda clase de partículas sobre la superficie del mismo y estas partículas poseen un diámetro determinado debido a que posee una porosidad definida.

Los filtros de membrana poseen entre 10^7 y 10^{12} poros por cm^2 dependiendo del tamaño del poro, teniendo aproximadamente un 85% de porosidad.

Las membranas son de ésteres de celulosa, de celulosa pura, de teflón, nylon y otros polímeros.

Ventajas de filtros de superficie sobre los de profundidad:

- Debido a la estructura homogénea no hay migración del medio (en los de profundidad hay desprendimiento de fibras).
- Los microorganismos mayores que el poro no penetran en la matriz (en los de profundidad sí), reproduciéndose y emergiendo del otro lado, contaminando el filtrado.
- Hay menor pérdida de solución en el filtrado.
- Se esterilizan por autoclave, por óxido de etileno o por rayos δ .

Desventaja:

- Menor superficie de retención, por lo tanto se saturan con relativa rapidez.

4.2- Equipos:**Filtros prensa:**

Consta de dos placas metálicas de gran superficie con caras estriadas. Lleva a ambos lados un medio filtrante de modo que la placa actúa como soporte rígido y canal evacuador. Entre placa y placa puede existir un espacio hermético por donde penetra el líquido y se aloja el sólido retenido. Se limpia y esteriliza por métodos químicos.

Cassette:

Es un sistema de discos apilados compuestos de membranas filtrantes, obteniéndose filtros de gran superficie en espacios relativamente pequeños. Se esteriliza por vapor si la membrana lo permite.

Cartuchos:

Constituidos por una membrana plegada (para aumentar la superficie) y una carcasa plástica o metálica. Las membranas pueden ser:

- a) Membranas plásticas: Estructuras micro porosas de material polimérico, generalmente ester de celulosa. De 8 a 0,2 μ .
- b) Membranas de microfilamentos inorgánicos: Microfilamentos unidos por una resina sintética. De 2,5 a 0,2 μ .
- c) Membranas nucleares: Se fabrican por perforación selectiva de películas de policarbonato u otros polímeros. La membrana resulta extremadamente fina pero durable. Tamaño del poro: 0,2 μ .
- d) De porcelana: Microporosa, de 0,8 a 0,12 μ .
- e) De celulosa, vidrio y plástica: Solos o combinados, se obtienen hojas fibrosas y porosas. La hoja se corruga y se dispone alrededor de un soporte central perforado.

4.3- Control del proceso:

Cuando se utiliza un sistema de filtración, se pueden usar microorganismos como indicadores. Así, para filtros de 0,2 μ se utilizan suspensiones de ***Pseudomona diminuta***, no debiéndose encontrar el filtrado contaminado con este microorganismo.

Es fundamental también, controlar la integridad del sistema antes y después de su uso. Esto se puede realizar controlando el flujo de aire en función de la presión de aire a que se lo somete, una vez humedecido con un solvente acuoso o alcohólico. A bajas presiones el flujo de aire se mantiene prácticamente constante aunque se aumente la presión, y a mayores presiones el flujo aumenta rápidamente.

Este test es utilizado en forma simplificada (y mucho menos precisa) por el método de la burbuja, en el que al hacer presión no debe aparecer una fuente de burbujas, sino que estas deben formarse homogéneamente en toda la superficie de la membrana o bujía. Este pequeño pasaje de aire se produce por la difusión del aire a través del sistema líquido.

ESTERILIZACION POR METODOS QUIMICOS:

Generalmente, se utilizan agentes alquilantes como óxido de etileno, óxido de propileno, formaldehído, glutaraldehído.

Estos reemplazan los átomos de hidrógeno lábiles de grupos amino o hidróxido, por ejemplo, formando uniones de alta energía que llevan a la pérdida de las actividades biológicas de las moléculas con las que se combina y a la pérdida irreversible de la viabilidad.

Condiciones que debe reunir un gas esterilizante:

- Efectividad sobre la mayor cantidad de microorganismos.
- No alterar el material que se quiere tratar.
- Facilidad de difusión, por lo tanto elevado poder de penetración en el material y rápida eliminación.
- No ser tóxico ni irritante.
- No inflamable ni explosivo.
- Fácil de manipular y almacenar.
- Económico.

1. ESTERILIZACION POR OXIDO DE ETILENO:

El óxido etileno (OE) tiene propiedad bactericida, pero no cumple con muchas de las condiciones para un gas esterilizante.

Fórmula: $\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\ | | \\ \text{CH}_2 \end{array}$: Es un gas incoloro, inflamable, tóxico, muy explosivo en mezclas con aire, soluble en agua y en solventes orgánicos.

Tiene alto poder de penetración.

Cuando se mezcla con otros gases (12% OE + 88% freón) se anulan las propiedades inflamables y explosivas.

Es activo sobre bacterias, virus y hongos actuando con casi igual facilidad sobre las esporas y las formas vegetativas.

En la esterilización por óxido de etileno el modo de acción consiste en una alquilación del DNA y RNA bacteriano. Es una reacción monomolecular y de cinética de primer orden hasta concentraciones de 1000 mg/l. y a 35°C. Por encima de esos valores la cinética es de orden cero. La energía de activación requerida es de $E_0 = 26000$ cal/mol, mucho menor que la requerida para la esterilización por vapor $E_0 = 83600$ cal/mol. Este hecho nos permite trabajar a bajas temperaturas, por lo que este método es ideal para materiales termosensibles.

EQUIPOS:

Prof. Tit. Microbiol. Gral Dr. Oscar Héctor Pucci

Se utilizan autoclaves dotadas con bomba de vacío y sistemas aireación forzada. El diseño exterior es similar al de una estufa de esterilización. Consta de una cámara única de acero inoxidable, cerrada con una puerta del mismo material convenientemente siliconada o con burletes de caucho para evitar escapes del gas.

Las paredes están recubiertas de un aislante térmico de fibras refractarias. El sistema de calefacción se basa en resistencias eléctricas y alcanza hasta 45°C. También hay un termostato para mantener la temperatura constante.

En el panel frontal están las indicaciones del estado del proceso, las alarmas de posibles fallas y un reloj digital que indica los tiempos establecidos para el ciclo.

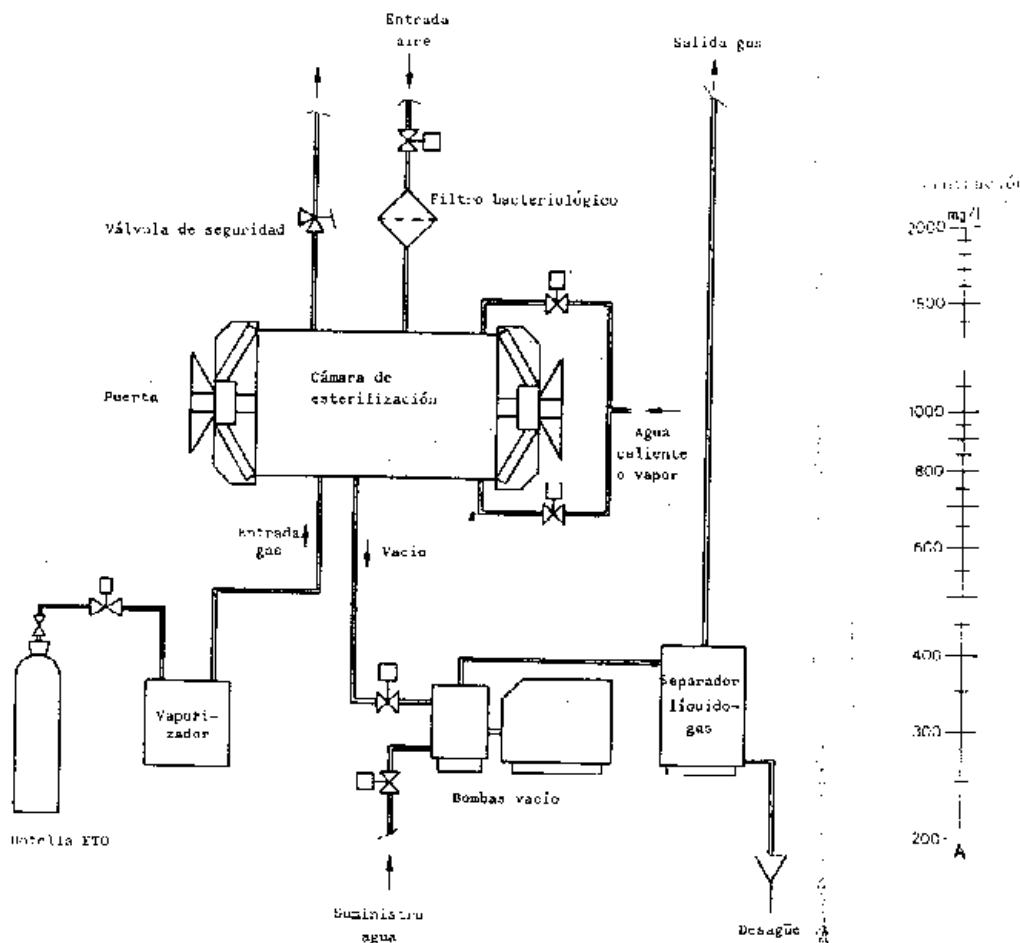


FIGURA 8: ESQUEMA EQUIPO ESTERILIZACIÓN

Estos equipos son totalmente automáticos y programables para distintos tipos de carga. Deben situarse aislados de los demás autoclaves, en una sala acondicionada con ventilación y demás medidas de seguridad.

Proceso de esterilización:

Los cuatro parámetros críticos en la esterilización por OE son temperatura, humedad, concentración del gas y tiempo de exposición.

La temperatura y la humedad tienen establecido un rango óptimo en el cual actúan mientras que la concentración y el tiempo de exposición se pueden ajustar en forma inversa, en función de las cantidades de producto que se va a esterilizar, la carga bacteriana inicial, las dimensiones del equipamiento y la urgencia con que se requiere el material.

En general se recomienda que cada lote de carga sea homogéneo en cuanto a la naturaleza del material y su material de empaque.

Los parámetros estándar son

- Concentración : 400 a 1000 mg/l

Por encima de 1200 mg/l no se ha notado una ventaja considerable en la reducción del tiempo, a la vez que se alargan los tiempos de aireación postesterilización. Además si se trabaja con mezclas de OE hay una limitación adicional por la presión en la cámara.

- Tiempo de exposición: 4 a 8 hs.

- Temperatura: 35 - 60°C.

La temperatura aumenta la velocidad de reacción y supone un ahorro considerable del gas. Sin embargo, como este método se aplica fundamentalmente a material termo sensible (jeringas descartables, material de cirugía, prótesis, guantes, etc.) se trabaja a 37°C o 45°C.

- Humedad relativa : 30 a 80%

Las moléculas de agua actúan de carrier y llevan el gas hasta el interior del producto. La humedad relativa ideal es del 50 a 60%. No se aconseja más del 80% porque podría condensarse agua en los puntos más fríos de la carga, lo cual dificultaría su posterior extracción. También puede formarse etilenglicol como subproducto de reacción, el cual es tóxico y además disminuye la concentración efectiva del OE.

Un ciclo estándar sigue esta secuencia:

1. Evacuación del aire: se realiza con bombas de vacío en 2 o 3 etapas sucesivas. Es fundamental antes del ingreso del gas porque el OE puro es explosivo en contacto con aire.
2. Entrada de vapor de agua: esto supone un ligero aumento de la presión en la cámara. Se humidifica el material para asegurar que el gas llegue al interior de la carga.

3. Período de reposo: se deja difundir el vapor de agua para que impregne homogéneamente toda carga. La principal limitación en esta etapa es la correcta selección del empaque.
4. Entrada del gas: En los ciclos con OE puro siempre se trabaja a presión negativa. En los ciclos con mezclas OE-freón se trabaja a presiones bajas pero positivas.
5. Período de exposición: es la fase de esterilización propiamente dicha donde son eliminados los microorganismos.
6. Evacuación del gas: se hacen vacíos sucesivos hasta compensar lentamente la presión de la cámara con la presión atmosférica.
7. Aireación del material: los equipos modernos cuentan con un sistema de recirculación de aire filtrado estéril que favorece la desorción de restos de OE o sus residuos. La duración de esta fase depende de la naturaleza del material: el PVC, neopreno y la goma virgen son los materiales que retienen con mayor avidéz el OE. El OE residual no debe superar los 5ppm aunque existen muchas legislaciones al respecto.

Prof. Tit. Microbiol. Gral Dr. Oscar Héctor Pucci

FIGURA 1: PERFIL DEL CICLO TÍPICO PARA ETO PURO

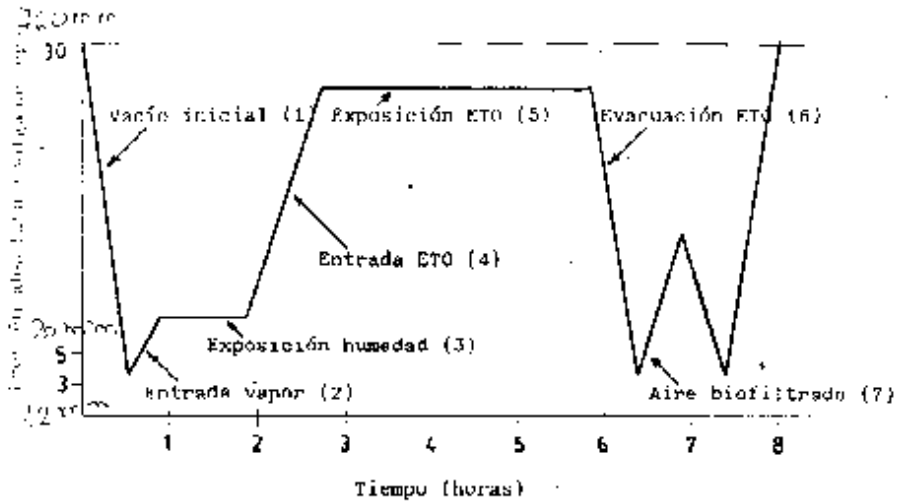
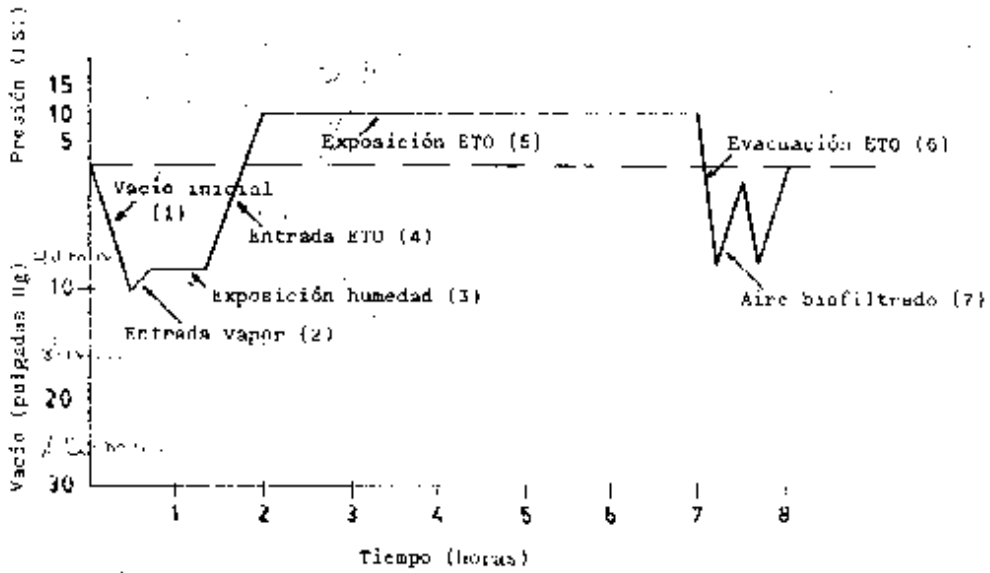


FIGURA 2: PERFIL DE CICLO TÍPICO PARA 12:60



Control del proceso

Se requiere el control de más variables que en la esterilización por vapor o radiaciones.

Los registros deben incluir como mínimo el tiempo de esterilización y aireación del material, la concentración del gas y datos de temperatura y humedad. Asimismo es conveniente el uso de monitores biológicos como se expondrá más adelante.

Entre los controles postesterilización del producto se puede hacer la determinación de residuos del gas para garantizar la inocuidad del material. Por ser un ensayo destructivo tendrá las limitaciones propias del muestreo del lote.

Con respecto a los pirógenos, su presencia y título dependen de la carga bacteriana inicial por lo tanto es más importante realizar dicho control durante el proceso que sobre el producto final.

En el caso de dispositivos médicos también puede hacerse un ensayo de funcionalidad, comprobando los parámetros que pudieran sufrir variaciones a consecuencia de los vacíos, la temperatura y el gas mismo.

2. ESTERILIZACION POR FORMALINA:

La formalina (H C HO) vaporiza a temperatura ambiente (temperatura recomendada: 26°C), liberando formaldehído y agua.

El formaldehído gas sólo actúa en presencia de por lo menos 80% de humedad.

Se coloca el material en un recipiente hermético, que contiene en un estuche formalina y en otros algodón embebido en agua, permitiendo que se produzca la reacción explicada.

Se deja el material 24-48 hs. y luego se airea antes de utilizar.

CONTROLES DE ESTERILIZACION Y ESTERILIDAD:**1. Control de esterilización:**

A fin de asegurar que una esterilización se ha efectuado correctamente se pueden emplear distintos procedimientos que agruparemos con el nombre de testigos de esterilización y que se pueden dividir en tres grandes grupos:

1.1. Testigos físicos:

Termocupla: Después de la prueba biológica directa, la termocupla es el indicador más confiable para esterilización por calor. Este es un método directo y simple que consiste en colocar sondas en puntos significativos en la carga a ser

procesada, registrando la temperatura. Se trata de dos metales que están en contacto, que por una diferencia de temperatura generan una fuerza electromotriz (FEM), pudiéndose determinar la temperatura en función de la intensidad de corriente generada.

Si se conecta una aguja inscriptora sobre una cinta que gire 360° en 24 hs., se consigue tener un termógrafo, que indica la temperatura alcanzada y por cuanto tiempo fue mantenida, quedando un testigo de todas las operaciones realizadas en el día.

Actualmente el registro gráfico la temperatura en función del tiempo es el método más utilizado para monitorear la esterilización por vapor.

Los controles de presión en la cámara se realizan como parámetros complementarios o de seguridad. Por ejemplo, la esterilización por vapor existe una correspondencia entre la temperatura alcanzada y la presión en la cámara, siempre que se haya purgado correctamente el autoclave. En la esterilización por óxido de etileno se trabaja a presión negativa porque debemos asegurarnos la ausencia de aire, antes de introducir el OE.

El valor de estos controles se limita a decirnos si se cumplieron las variables preestablecidas por el operador, o sea que indica sólo fallas del aparato.

1.2- Testigos químicos:

Para esterilizaciones por la acción del vapor pueden ser utilizadas sustancias químicas de punto de fusión conocido y bien definido. La sustancia seleccionada debe fundir a la temperatura requerida o justo por debajo de ella. Para tratamientos a 121°C se pueden usar anhídrido succínico (PF = 120°C) o ácido benzoico (PF = 121°C) y para procesos a 115°C son apropiados el azufre (PF = 115°C) o la acetanilida (PF = 116°C). Para facilitar la interpretación, estas sustancias están mezcladas con un colorante y al fundir éste difunde libremente.

Para controlar esterilizaciones por óxido de etileno (OE), existe un dispositivo con una solución de Cl_2Mg en CIH con un indicador sellado en sachet de polietileno fino. Cuando el OE difunde a través del polietileno se produce hidrólisis, y si difunde gas suficiente, todo el ácido es neutralizado. La difusión y velocidad de reacción son paralelas con las variaciones correspondientes en la velocidad de esterilización.

También hay cintas adhesivas o papeles impregnados con tintas sensibles a los 4 parámetros críticos (humedad, concentración de OE, temperatura y tiempo), que están incorporadas en los papeles o films especiales para la esterilización. La presencia de estos factores sobre la tinta produce un viraje de color que evidencia si un paquete fue sometido al ciclo de esterilización, pero no nos informa acerca de la condición de esterilidad del producto.

La principal ventaja de estos indicadores es el bajo costo y la rapidez con que se obtiene el resultado.

1.1- Testigos biológicos:

Son más eficaces y más reales que los testigos físicos y químicos porque responden al efecto combinado todos los factores conocidos o desconocidos que influyen en la muerte bacteriana. Tienen la ventaja de no estar conectados al autoclave.

Consisten en someter a la acción del esterilizador cultivos de bacilos esporulados. (*B. subtilis*; *B. mesentericus*; *B. steartermophilus*), a los que luego del proceso se controla su viabilidad ya sea por cultivo, o por coloraciones que nos proporcionan un rápido resultado. Usamos la siguiente mezcla:

Azul de metileno de Loeffler. 100 cc.
Fucsina fenicada de Ziehl. 8 cc.
Agua destilada 100 cc.

Efectuando un extendido y coloreando durante un minuto observaremos:

Bacilos vivos color azul.
Bacilos muertos. color rojo.
Esporas vivas incoloras.
Esporas muertas. color azul.

Lógicamente se utilizan bacilos esporulados por ser más resistentes a la temperatura y debemos colocarlos en aquellos lugares donde sea más difícil la penetración del calor. Una variante de este método consiste en preparar hilos embebidos en cultivos de bacterias esporuladas en medio líquido, los que luego son desecados en ambientes estériles y colocados en tubos de ensayo o recipientes adecuados con o sin medio de cultivo.

Existen varios modos de interpretación de los indicadores biológicos:

1. Método por reducción de recuento de microorganismos viables: se cuenta el número de microorganismos supervivientes después del proceso de esterilización. Es poco práctico para el control de rutina pero de gran valor cuando se quieren establecer los parámetros para un ciclo en particular.
2. Método de la muerte total: las unidades que se han contaminado con las esporas del microorganismo indicador deben tener cultivos negativos bajo las condiciones prescritas del ciclo. La falta de crecimiento indica que se han satisfecho todas las variables críticas del ciclo.

2. CONTROL DE ESTERILIDAD:

Un ciclo de esterilización con una seguridad de 10^{-6} por lo tanto se admite que como máximo una unidad entre un millón pueda ser no estéril. Es obvio que si dichas unidades existieran es muy difícil detectarlas por un muestreo del lote. Por este motivo, sin negar el valor de esta determinación, se ve que no es apta para el control rutinario de la esterilización.

Consiste en tomar muestras representativas de los objetos esterilizados y realizar cultivos con el fin de asegurar la no presencia de microorganismos.

Este ensayo está normalizado en la Farmacopea Nacional Argentina y muchas otras Farmacopeas. Los medios de cultivo utilizados son caldo tioglicolato y caldo de

caseína-soja. También están definidos los medios de dilución y enjuague A y K, cuando se debe ensayar la esterilidad de un equipo íntegro.

Se puede realizar por diferentes técnicas de acuerdo a las características del objeto:

1. Transferencia directa: Cuando el objeto, cuyo tamaño y forma permita la inmersión completa en no más de 1000 ml de medio, se coloca asépticamente el objeto en cuestión en el medio de cultivo. Se incuban de acuerdo a lo establecido para cada medio y se buscan los indicadores de desarrollo bacteriano en el medio.

Si se trata de una tubuladura se hace pasar el medio de cultivo por el interior, se recoge y se incuban, por lo menos 100 ml de cada medio, obtenidos de un lote de muestreo representativo del total.

2. Filtración por membrana: debe elegirse esta opción siempre que el material lo admita. Este ensayo utiliza los líquidos de dilución A y/o K, descritos en la FNA que se usan para enjuagar el objeto en cuestión y luego se hacen pasar por el equipo de filtración. Se retira la membrana filtrante y manteniendo la asepsia se corta la membrana y se incuba en los medios de tioglicolato y caseína soja.

Todos los medios de cultivo utilizados deben ensayarse con cepas de la ATCC como control positivo, y a la vez se debe ensayar que no están contaminados al inicio del ensayo. Si se trata de un medio de cultivo rico fraccionado en tubos, se toman los de la zona central del recipiente que los contiene, donde se alcanza más difícilmente la temperatura, y luego se incuban directamente.

La interpretación de los resultados es en dos etapas. Si en la primera etapa no se observa desarrollo microbiano, el objeto ensayado cumple con el test de esterilidad. Pero si hay desarrollo microbiano y en la revisión del procedimiento se detectan técnicas erróneas de asepsia se invalida la prueba y se repite sobre un segundo lote. En la segunda etapa el número de muestras seleccionadas debe ser el doble de las utilizadas en la primera etapa. Si no se encuentra desarrollo microbiano el objeto cumple con el test de esterilidad y la prueba concluye allí. Si hay desarrollo y se verifica el procedimiento correcto, el objeto no cumple con el test de esterilidad.

--AGENTES DESINFECTANTES, ANTISEPTICOS Y BACTERICIDAS --

Si bien existen muchas sustancias que afectan la vitalidad de los microorganismos, no existe un agente antimicrobiano ideal para todos. Los caracteres específicos a que debe aspirar en la preparación de nuevos productos y que han de considerarse para evaluar los desinfectantes son:

- Toxicidad para los microorganismos a la temperatura ambiente o del organismo
- Solubilidad en agua.
- Estabilidad.
- Inocuidad para el hombre y los animales.
- Homogeneidad.
- Carencia de afinidad para la materia orgánica extraña.
- Capacidad desodorante.
- Capacidad de penetración.
- No debe ser corrosivo ni manchar.
- Capacidad detergente.
- Facilidad de adquisición.

Los factores que deben considerarse para la elección y empleo de los agentes antimicrobianos son los siguientes:

- Naturaleza del material que ha de tratarse.
- Clase de microorganismos.
- Condiciones generales.

Algunos de los agentes químicos antimicrobianos son los siguientes:

1- Fenol y compuestos fenólicos:

- a. Acido fénico (C_6H_5OH) al 0,5%, usado como antiséptico para la preservación de sueros y vacunas.
- b. Cresol ($CH_3C_6H_4OH$) al 2%: desinfección de pisos, instalaciones sanitarias.
- c. Acido salicílico (HOC_6H_4COOH) (1:1000): preservación de alimentos.
- d. Acido benzoico (C_6H_5COOH) (1:1000): también se lo usa para preservación de alimentos.

2- Alcoholes:

- Alcohol etílico (CH_3CH_2OH) al (60%): desinfección de heridas y regiones que se van a operar. El alcohol absoluto es un germicida débil y el poder óptimo se halla entre 60% y 70%.

3- Alcohol - Iodado:

Es una combinación de yodo con alcohol 70%. Se la debe usar en concentraciones del 2%. Se utiliza como antiséptico de elección en la preparación prequirúrgica de la piel. También se usa para desinfectar material de laboratorio.

4- Cloro y compuestos clorados:

- Hipoclorito de sodio (0,5% al 1%): se inactiva con materia orgánica (ej.: con detergente). No se usa como antiséptico. Puede utilizarse en material de laboratorio.

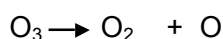
5- Metales pesados y sus compuestos:

5.1. Merthiolate (1:10000): se usa para desinfección de la piel (tintura al 1%). Para desinfección de mucosas se usa en solución acuosa de 1:2000 y 1:20000. También se utiliza como preservativo para productos biológicos como sueros y vacunas.

5.2. Nitrato de plata AgNO_3 (1:1000): desinfectante para mucosas con débil irritación.

6- Oxidantes:

6.1. Ozono 13:1000000: Se descompone rápidamente liberando oxígeno nascente:



Se usa para desinfección del aire y del agua. En concentración necesaria ejerce acción tóxica, razón por la cual no se lo puede emplear en desinfección de locales habitados.

6.2. Agua oxigenada: H_2O_2 solución comercial al 3%: se usa para limpieza y desinfección de heridas. Se descompone rápidamente en presencia de sangre, pus, etc., que contiene catalasa que hace burbujear el agua oxigenada sobre las heridas.

7- Reductores:

- Formalina, (HCHO) al 3-8% : utilizable en la desinfección de instrumental quirúrgico pues no ataca los metales. El inconveniente son los vapores irritantes. No se presta para la desinfección de manos ya que produce arrugas.

8- Detergentes catiónicos:

- Compuestos de amonio cuaternario, $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2\text{RCL}$ (R: mezcla de alquil radicales C_8H_{17} a $\text{C}_{18}\text{H}_{37}$) 1:1000: desinfección de la piel, mucosas y heridas. Se usa solución 1:2000 - 20000. Siendo un detergente catiónico, su efecto es anulado por los jabones que son detergentes aniónicos. Se lo usa en cirugía para la desinfección de manos.

METODOS USADOS EN EL TRABAJO PRACTICO:**1.- Acondicionamientos del material y posterior esterilización por:**

- a.- Vapor saturado a presión en autoclave de Chamberland.
- b.- Calor seco en estufa de esterilización.
- c. Formalina.

2.- Lavandinado.**3.- Control de esterilización:**

Se utiliza ácido benzoico y rojo fenol (indicador) como control químico y una suspensión de *Bacillus stearothermophilus* como control biológico.

GLOSARIO:

ANTISEPTICO: (Del griego: anti: contra, y sepsis: putrefacción); es toda sustancia capaz de impedir la proliferación de bacterias, sea inactivándolas o destruyéndolas.

ASEPSIA: Conjunto de medios usados para impedir la penetración de gérmenes en un local que no los contenga.

BACTERICIDA: Tiene igual significación pero referido específicamente a las bacterias.

BACTERIOSTATICO: Sustancia que previene la multiplicación y crecimiento de bacterias.

CONSERVACION: Es la acción de preservar un objeto o sustancia de cualquier alteración. Conservación física o química.

CONSERVADOR: Sustancia que previene el desarrollo y multiplicación de gérmenes en un medio. Es análogo a bacteriostático.

DESINFECTANTE: Agente químico con actividad germicida sobre microorganismos patógenos. La actividad no siempre se extiende a las formas esporuladas.

DESINFECTAR: Destruir sólo los microorganismos patógenos, es un caso particular de esterilización.

ESTERILIZAR: Eliminar o destruir todas las formas de seres vivientes existentes en un objeto o material.

GERMICIDA: Sustancia capaz de matar las formas vegetativas de gérmenes.

TINDALIZACION: Es el calentamiento repetido, con intervalo adecuado. Consiste en el hecho de que el primer calentamiento destruye sólo las formas vegetativas, o sea, no mata las esporas. Estas, cuando el líquido se enfría, germinan de manera que al repetirse el calentamiento al segundo día quedan destruidas las formas vegetativas de las esporas que no habían muerto en el primer calentamiento.

Las esporas que permanecen viables serán destruidas en el tercer calentamiento.

Dichos calentamientos se realizan a temperaturas entre 60 y 100°C en tres días sucesivos.

EL TEST DE BOWIE DICK FUE DISEÑADO PARA ESTIMAR LA PENETRACIÓN DEL VAPOR EN LA CARGA YA QUE LA HOMOGENEIDAD EN LA DISTRIBUCIÓN DEL VAPOR ES CRITICA PARA LOGRAR UNA BUENA ESTERILIZACION. EL ENSAYO DEBE REALIZARSE UNA VEZ AL DIA Y CONSISTE EN LA ESTERILIZACION DE UN PAQUETE ARMADO COMO INDICA LA FIGURA, DONDE SE VERA EN LA CINTA CON INDICADOR QUIMICO UE EL VIRAJE DE COLOR SEA HOMOGENEO EN TODA LA SUPERFICIE.....