

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



METODOS DE COMPROBACION EN PROCESO

DE

ESTERILIZACION

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

ANGEL CADENA GUTIERREZ

MEXICO, D.F.,

1983.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

* I N D I C E *

Introducción

Esterilización por agentes químicos

Factores que influyen en la acción antimicrobiana

Modo de acción

Esterilización por calor húmedo

Esterilización por calor seco

Esterilización por membrana

Esterilización por óxido de etileno

Esterilización por radiaciones

Controles de Esterilización

Parte experimental y resultados

Conclusiones

Bibliografía.

* INTRODUCCION *

A medida que ha ido transcurriendo la vida, el hombre fue conociendo y tratando de saber la causa de las enfermedades a las que ha estado expuesto y fue hasta el siglo pasado cuando habiendo descubierto los principios básicos de la morfología y fisiología microbianas, cuando pudo controlar las enfermedades, descomposición de los alimentos y cualquier proceso donde intervienen microorganismos.

Este descubrimiento trajo como consecuencia que se han propuesto diferentes métodos de esterilización por medio de los cuales se puede eliminar a los microorganismos, que son causantes de las diferentes alteraciones que sufren los organismos superiores y medicamentos que requieren por su vía de administración la ausencia de microorganismos.

Así pues, en este trabajo se exponen los métodos de esterilización por autoclave, calor seco, filtración por membrana, óxido de etileno y radiaciones.

Es fundamental mencionar que la validación de los procesos de esterilización que se lleven a cabo en la industria farmacéutica tienen una gran importancia ya que de ello depende que los artículos a esterilizar queden todos ellos estériles y como consecuencia se tendrá una seguridad de que no habrá contaminación al ser usados.

Estos temas se exponen tratando de englobar el mayor con

cimiento posible, para que las personas que los consulten obtengan una visión más amplia del porque y como se llevan a cabo.

Si este trabajo llega a ser utilizado como guía para llevar a cabo la esterilización y su validación, se habrá cumplido el objetivo.

ESTERILIZACION POR AGENTES QUIMICOS

Existe una gran variedad de sustancias químicas que actúan sobre los microorganismos de modo que inhiben su crecimiento o los matan.

Antes de enumerar las sustancias que existen, se mencionarán algunos términos, los cuales tienen relación con la esterilización por medios químicos y físicos.

- 1).- Esterilización.- Se define como destrucción total de todas las formas de vida por medio de algún procedimiento.
- 2).- Desinfectante .- Sustancia química que destruye las formas vegetativas pero no las esporuladas.
- 3).- Antiséptico .- Término que indica el impedimento del desarrollo o la acción de los microorganismos ya sea matándolos o inhibiendo su crecimiento.
- 4).- Germicida, Bactericida y virucida.- Términos que implica la muerte de los microorganismos.
- 5).- Bacteriostático.- Términos que indican la inhibición del crecimiento de los microorganismos.
- 6).- Antimicrobiano.- Término que implica el no

crecimiento de los microorganismos.

Entre los compuestos químicos que actúan sobre los microorganismos tenemos:

1.- Fenoles: Son los compuestos más usados desde tiempos pasados, su acción está determinada por la concentración que se este usando ya que puede actuar como bactericida o bacterios tático.

Su actividad se ve afectada por la presencia de jabones, bajas temperaturas, pH alcalino o materia orgánica; mientras que en presencia de cloruro de sodio su acción se ve aumentada.

2.- Alcoholes: Se usan como desinfectantes de la piel, su acción sobre los microorganismos es bactericida ya que provoca la coagulación de las proteínas.

El alcohol absoluto produce deshidratación en las células lo que hace que no actúen sobre ellas y se tenga un estado de bacteriostasis.

3.- Yodo: Este elemento tiene acción bactericida, esporocida y fungicida; viéndose afectada su acción por la cantidad de materia orgánica

presente y el grado de deshidratación.

Sus soluciones tienen aplicación cutánea.

4.- Cloro y sus componentes: Tiene acción desinfectante, higienizante antiséptica y germicida, esta última se lleva a cabo por la combinación de cloro con sustancias celulares con la consiguiente intoxicación.

5.- Metales pesados: La acción de estos metales se define como bactericida y esto se debe a que precipitan las proteínas celulares lo que hace que se inactive la célula y muera.

Los metales más activos al respecto son la plata, el mercurio y el cobre.

6.- Colorantes: Su modo de acción no está aclarada y se supone que actúan combinándose con las proteínas de los microorganismos produciendo alteraciones nocivas.

7.- Detergentes y jabones: La acción de estos se debe a que reducen la tensión superficial trayendo como consecuencia que se aumente el poder humectante del agua y al producirse espuma los microorganismos quedan atrapados en ella y son arrasados por las aguas de lavado.

Estos se dividen en dos grupos los cuales se ionizan dando compuestos aniónicos y catiónicos como por ejemplo:

Lauril Sulfato de Sodio ($C_{12}H_{25}OSO_3$) Na^+	Cloruro de Cetil Piridinio $N-C_{16}H_{33} Cl^-$
---	---

Aniónico

Catiónico

Considerándose los detergentes catiónicos más germicidas que los aniónicos.

8.- Compuestos de amonio cuaternario: Estos compuestos tienen propiedades bactericidas, fungicidas, germicidas y su toxicidad es muy baja. Su modo de acción no se conoce exactamente pero se cree que tienen las siguientes acciones:

a).- Inactivar las enzimas de los microorganismos debido a su propiedad de combinarse con las proteínas y desnaturalizarlas.

b).- Que alteran la superficie de la célula dando lugar a que los constituyentes celulares salgan hacia el exterior.

9.- Peróxido de hidrógeno y Permanganato de Potasio:

Son antisépticos de acción ligera y deben su efecto germicida a las propiedades oxidantes.

10.- Ácidos y álcalis: La acción de estos componentes esta en función del grado de disociación que tengan; así, los ácidos entre más alta sea la concentración de hidrogeniones su acción será más efectiva.

En cuanto a los álcalis, entre mayor sea la concentración de hidroxilos su acción será más eficaz y puede influir el ion metálico presente ya que actúa como agente tóxico contribuyendo a que la acción sea mucho más efectiva.

FACTORES QUE INFLUYEN EN LA ACCION ANTIMICROBIANA

1.- Concentración y acción del agente químico:

La concentración es un factor importante - ya que entre más concentrado esté el agente antimicrobiano, su acción será más efectiva y dependiendo de la concentración en que se encuentra el agente actuará como -- bactericida o bacteriostático.

2.- Intensidad y naturaleza del agente físico:

Los microorganismos morirán rápidamente si se les expone a condiciones drásticas; es decir, cuanto más intenso es dicho agente los microorganismos morirán en un tiempo - más corto.

3.- Tiempo:

La cantidad de microorganismos que mueren al estar en contacto con los agentes es - función del tiempo debido a que a mayor - tiempo de exposición mayor cantidad de microorganismos morirá.

4.- Temperatura:

La temperatura es un factor muy importante ya que al aumentar la temperatura la muerte de los microorganismos se producirá más rápidamente.

5.- Número de microorganismos:

A mayor número de microorganismos se requerirá más tiempo para que toda la población muera y viceversa.

6.- Forma del microorganismo:

La forma de los microorganismos va a influir en su destrucción ya que las formas vegetativas mueren más fácil que las formas esporuladas debido a que éstas son más resistentes que las primeras.

7.- Naturaleza del material soporte de los microorganismos:

Este factor influirá en la destrucción de los microorganismos ya que en un momento dado la naturaleza del material soporte podrá ayudar a que la temperatura, la concentración, la intensidad etc. del agente, no llegue al microorganismo en su totalidad y como consecuencia no lo mate.

MODO DE ACCION

Las diferentes formas de acción que tienen diversos agentes antimicrobianos se enumeran a continuación:

1.- Lesiones en la pared celular:

Las paredes celulares son atacadas y destruidas trayendo como consecuencia que los componentes celulares se dispersen.

2.- Alteración de la permeabilidad celular:

Al alterarse la permeabilidad celular se producen acciones nocivas sobre la célula ya que la permeabilidad se vuelve selectiva y se produce la inhibición del crecimiento o la muerte.

3.- Alteración del protoplasma celular:

El protoplasma celular debe tener las condiciones requeridas por la célula para que ésta sobreviva.

Las temperaturas altas y las concentraciones excesivas producen efectos letales sobre los microorganismos.

4.- Inhibición de la actividad enzimática:

Al inhibirse la acción enzimática se va ha pro-

ducir la muerte de la célula ya que se alteran todas las funciones de la célula, produciendo la muerte de la misma.

5.- Interferencia en procesos sintéticos:

Al igual que en la actividad enzimática si los procesos de síntesis celulares son inhibidos, se produce la muerte de la célula; la inhibición de los procesos sintéticos se lleva a cabo por antimetabolitos que son sustancias que se parecen a los metabolitos (sustancias que sirven para que la célula lleve a cabo sus procesos normalmente) pero que producen efectos no deseados.

ESTERILIZACION POR CALOR HUMEDO

La esterilización por calor húmedo se lleva a cabo en el autoclave y es este aparato el más utilizado para ejecutar dicha operación. Su uso en el laboratorio es aproximadamente del 95%, no pudiéndose esterilizar en ella: los productos no miscibles con el agua (grasas y aceites) ya que el vapor no penetra en su interior quedando los microorganismos viables y sustancias termolábiles.

Su modo de acción sobre los microorganismos es coagulando las proteínas, lo que es causa de su destrucción.

CONSTRUCCION DEL AUTOCLAVE

El autoclave consta de las siguientes partes:

- 1.- Entrada de agua. Que se vaporizará y actuará sobre el equipo o material a esterilizar.
- 2.- Regulador de presión. Encargado de introducir el vapor a la cámara del autoclave.
- 3.- Válvula de vacío. Encargada de sacar todo el aire que se encuentra en el autoclave.
- 4.- Manómetro interior. Encargado de medir la pre

si3n que se tiene en el interior del autoclave.

- 5.- V3lvula de seguridad.- Encargada de verificar que ha salido todo el aire.
- 6.- Filtro de aire.- Encargado de introducir aire limpio y est3ril a el autoclave.
- 7.- C3mara de esterilizaci3n.- Es ah3 donde se coloca el material a esterilizar y donde se lleva a cabo la esterilizaci3n.
- 8.- Camisa o chaqueta.- Es por donde fluye el vapor para llegar al interior del autoclave.
- 9.- Puerta.- Su funci3n es cerrar herm3ticamente el autoclave.
- 10.- Descarga o salida.- Encargada de desalojar el vapor del autoclave.

FUNCIONAMIENTO DEL AUTOCLAVE

Para llevar a cabo una buena esterilizaci3n se recomienda definir perfectamente las condiciones a las cuales se va a trabajar y seguir en orden los siguientes pasos:

- 1.- Cargar el autoclave.
- 2.- Cerrar el autoclave y aplicar un vacío de 80 mm lo cual facilita la penetración del vapor una vez que se ha eliminado el aire.
- 3.- Dejar que se llegue a las condiciones preestablecidas de trabajo.
- 4.- Una vez que se llegue a tales condiciones empezar a contar el tiempo de esterilización el cual estará también preestablecido.
- 5.- Una vez que se ha hecho la esterilización, dejar enfriar y eliminar el vapor.
- 6.- Abrir el autoclave y descargarla.

Factores que pueden influir para que no se lleve a cabo una buena esterilización.

- 1.- Temperatura.- Debido a que ésta es la que mata a los microorganismos y no la presión, se debe tener mucho cuidado para controlarla, esto se logra eliminando todo el aire que pudo haber quedado ocluido en el interior del autoclave, -

así como, cambiando constantemente el filtro de salida de aire y por último el perfecto acomodo del material a esterilizar.

2.- Colocación adecuada del equipo a la corriente de vapor.

a).- Acomodar los paquetes separados para que pueda entrar y salir fácilmente el vapor.

b).- El tamaño de los paquetes deberá ser aproximadamente de las mismas medidas.

c).- La envoltura de los paquetes se hará con material el cual puede ser fácilmente penetrable por el vapor y no se usará material no penetrable por el vapor, como plástico o hule.

3.- El tiempo adecuado de la esterilización deberá de controlarse de acuerdo con las condiciones de trabajo.

El material a esterilizar deberá ser lo más similar posible con el objeto de evitar que se pierda tiempo ya que unos materiales pueden necesitar menos tiempo de exposición que otros.

MANTENIMIENTO DE LAS AUTOCLAVES

Para que funcione bien el autoclave se deberá someter a pruebas periódicas durante toda su vida, para que tenga un funcionamiento adecuado.

Entre esas pruebas tenemos las siguientes:

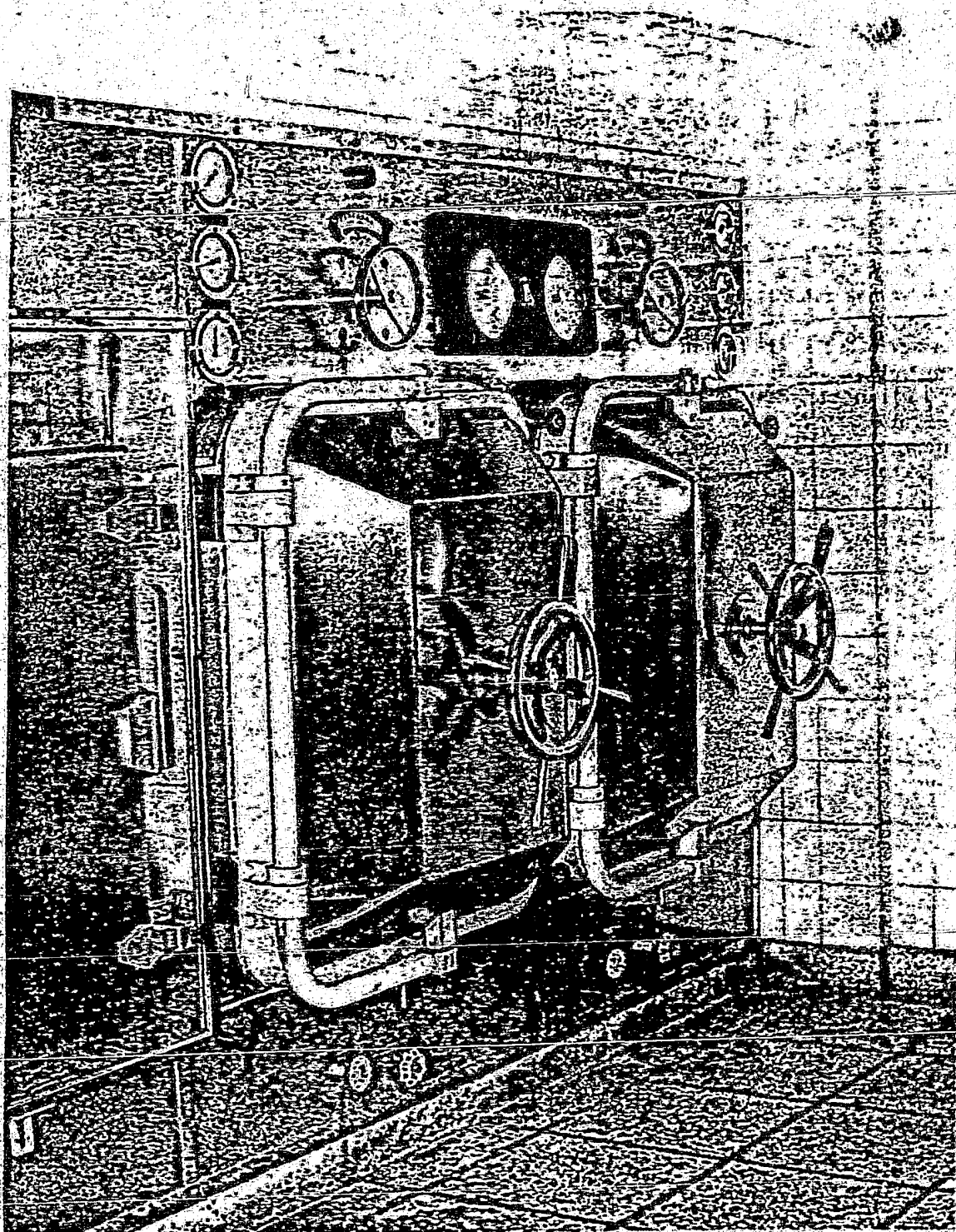
- 1.- No se debe observar pérdida de líquido en ninguna de las conexiones, ni deformaciones en la cubierta y en el fondo.
- 2.- La hermeticidad deberá ser excelente, así como el tiempo de conservación del vacío.
- 3.- El calor deberá ser uniforme en toda el afea.

VENTAJAS

- 1).- La temperatura alcanzada es muy superior a la temperatura de ebullición del agua.
- 2).- El aumento de temperatura reduce el tiempo de esterilización.
- 3).- Por evaporación de la corriente de vapor se puede obtener materiales secos.
- 4).- Ofrece rapidez de calefacción, penetración y humedad abundante lo que favorece la coagulación de las proteínas.

DESVENTAJAS

- 1).- No se puede esterilizar sustancias oleosas debido a que el vapor no las penetra.
- 2).- No se pueden esterilizar sustancias termolábiles o materiales que sufren deformaciones físicas.



Autoclave para esterilización al vapor. (Cortesía de sus fabricantes Longhi Hnos, S. A. C. I. F. y A., Buenos Aires, Argentina).

ESTERILIZACION POR CALOR SECO

La esterilización por calor seco se puede dividir en:

a) Llama directa

Calor seco

b) Aire caliente

a).- La esterilización por calor seco consiste en la destrucción por incineración de todos los organismos vivos mediante la aplicación de la llama directa, que sin duda es de resultados indiscutibles pero debido al daño que puede ocasionar al material o producto calentado, su uso está limitado a la esterilización de las asas de platino, espátulas, bocas de los tubos en el momento de la siembra.

Este tipo de esterilización se puede aplicar de 3 maneras:

- 1).- Colocando el material a la llama hasta que logre el rojo y dejándolo así unos cuantos segundos.
- 2).- Pasando rápido y repetidas veces el material por la llama durante dos o tres minutos.

3).- Poniendo alcohol en un recipiente y colocando el material a esterilizar en este, se prende el alcohol y se mueve el recipiente de tal forma que la llama toque la superficie del material a esterilizar.

b).- Aire caliente.- Para esterilizar con aire caliente debe quedar claramente establecido que sólo se puede aplicar, cuando la naturaleza del material no permita someterlo a la acción del vapor a presión.

Se acepta en general que el calor seco destruya los microorganismos por oxidación de los constituyentes intracelulares.

La esterilización por calor seco se lleva a cabo en hornos en los cuales se coloca el material a esterilizar. Este material debe ir colocado u acomodado de tal manera que permita el flujo del aire para que se lleve a cabo una esterilización correcta, cuidando que el material no toque las paredes del horno. El acomodo del material se deberá hacer cuando el horno esta a temperatura ambiente y una vez cerrado, la esterilización propiamente dicha se llevará a cabo a partir que se tenga la temperatura de 160 - 170° C que se mantendra por un espacio de 2 horas.

Para cumplir con ese requisito es muy importante tener en cuenta la naturaleza de la fuente de calor y su ubicación en el horno, así como instalar una convección -- forzada, colocando equipos auxiliares para la circulación de aire, de esta manera se logrará una temperatura homogénea en el horno y se reducirá el tiempo de esterilización y como consecuencia una mayor seguridad en el proceso.

CICLO DE ESTERILIZACION

La esterilización por el calor seco consta de varias etapas las cuales se enumeran a continuación:

- 1).- Encendido del horno.
- 2).- Período de calentamiento el cual consiste en calentar el material hasta llegar a la temperatura de 160° - 170° C . Antes de esta temperatura no se debe contar el tiempo que se tardó en llegar a ella y desde el momento en que se llega a esta temperatura se comenzará a tomar el tiempo de esterilización.
- 3).- Período de esterilización el cual consiste en -- que una vez que se ha llegado a la temperatura de 160° - 170° C esta se mantendrá invariablemente por un espacio de 2 horas.

Aunque este período de esterilización es variable dependiendo de la técnica que se este llevando a cabo.

- 4.- Enfriamiento del horno, este período tiene por objeto apagar el horno dejándolo enfriar hasta que llegue a la temperatura ambiente, para posteriormente abrirlo y descargarlo.

CONSTRUCCION DE LOS HORNOS

Para llevar a cabo la construcción de un horno se debe tener en cuenta todas las ventajas y desventajas que tienen estos con el objeto de construirlos con la mayor perfección posible. Generalmente tienen doble pared de acero inoxidable y suelen estar revestidos de a mianto o de algún otro material aislante que disminuya la pérdida de calor, la puerta que se encuentra al --- frente y cierra en forma hermética. Utilizando el sistema de circulación de aire caliente, el instrumento de regulación de aire se encuentra en la pared frontal.

En su interior la diferencia de temperatura en es te tipo de hornos es mínimo, esto se debe a la confi guración especial de la pared interior en lo que se re--- fiere a la resistencia eléctrica.

En este tipo de hornos el termómetro se encuentra

en la puerta.

El aparato se enciende con una llave simple y la iluminación de un botón rojo constituye su indicador; por lo general, estos hornos se encuentran regulados a una temperatura determinada con el fin de mantener la misma graduación durante todo el proceso de esterilización; aquellas que están reguladas a una temperatura de 160° C se utilizan específicamente para instrumental de vidrio. Al alcanzar la temperatura deseada, se apagan en forma automática y mediante un termostato, vuelven a encenderse para mantenerla, además se escuchan unos golpes secos que produce al prenderse y a partir de ese momento, se debe comenzar a contar el tiempo de esterilización.

APLICACION DEL CALOR SECO.

Se aplica en los casos en que se desea tener un producto completamente seco y estéril como cuando se desea material de vidrio o en la esterilización de vaselina o soluciones oleosas sobre todo se están envasadas en recipientes herméticos. También se aplica a la esterilización de polvos.

INSTRUCCIONES PARA USO DEL HORNO

1.- Cargar el horno.

- 2.- Observar que el material para esterilizar este ~~colocado en una disposición favorable para que~~ haya una buena circulación de aire.
- 3.- Encendido se ilumina el botón rojo.
- 4.- Tomar el tiempo de esterilización cuando comiencen a oírse los golpes del termostato al prenderse y apagarse y verificar la temperatura que será de 160° a 170° C y se mantendrá por dos horas.
- 5.- Cualquier falla que se haga notar será motivo de la suspensión del proceso.
- 6.- Al terminar el período de esterilización apagar y dejar que el material se enfríe en él.

MODO DE ACCION

La muerte de un microorganismos por la aplicación del calor, es la resultante de alguna reacción química, que posiblemente ocurre en un solo 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:

- 1.- Activación de la molécula por energía calorífica, seguida por rompimiento de enlaces químicos internos sin la intervención de otras moléculas.
- 2.- Reacción entre una molécula compleja de microorganismos y el oxígeno (esta reacción ha sido -- propuesta para la destrucción de las esporas por este método.)

RESISTENCIA AL CALOR DE LOS MICROORGANISMOS

La destrucción de los microorganismos se puede dividir en dos grupos los cuales son los siguientes:

- a).- Formas vegetativas.
- b).- Formas esporuladas.

Debe tenerse en cuenta que la destrucción de los microorganismos por el calor seco no se produce en forma -- instantánea ya que existe una relación temperatura-tiempo condiciones generales del producto a esterilizar, que son variables dependiendo del microorganismo que se este manejando.

La destrucción de las formas vegetativas es relativamente pequeña ya que por regla general se requiere de una exposición de un minuto a la temperatura de 80° C para su destrucción.

La destrucción de las formas esporuladas es un poco más variable ya que se necesita una temperatura de 100° C y tiempos relativamente largos para la destrucción - de estas.

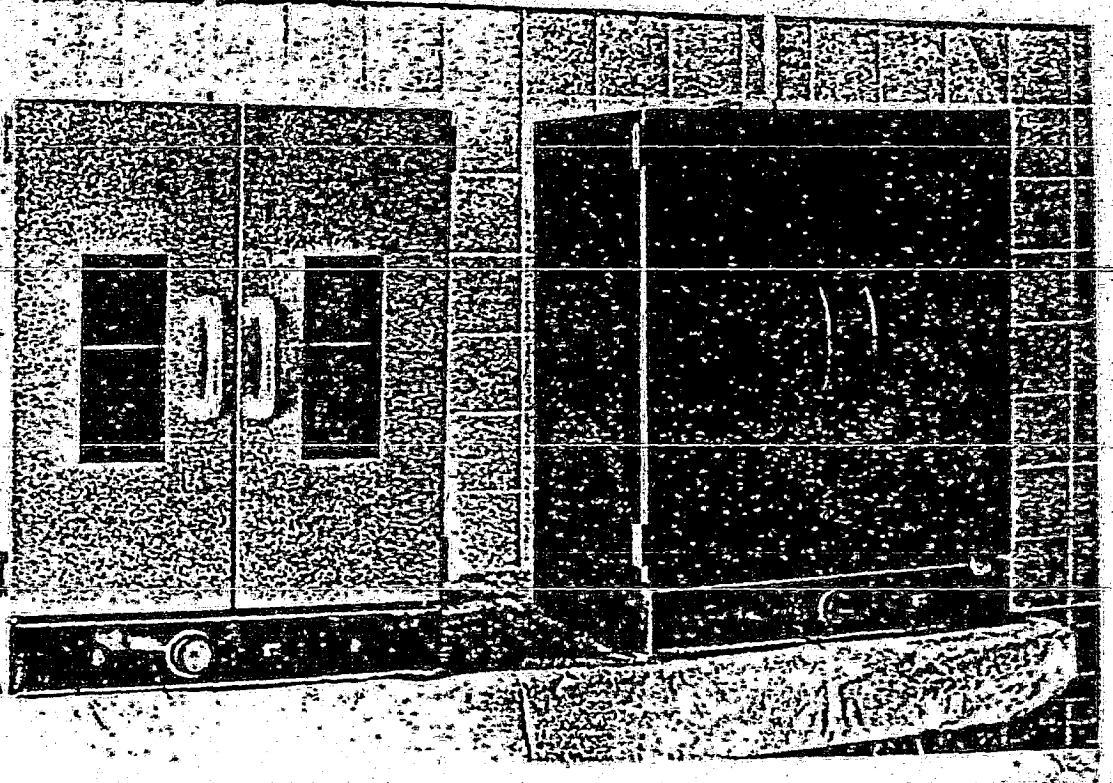
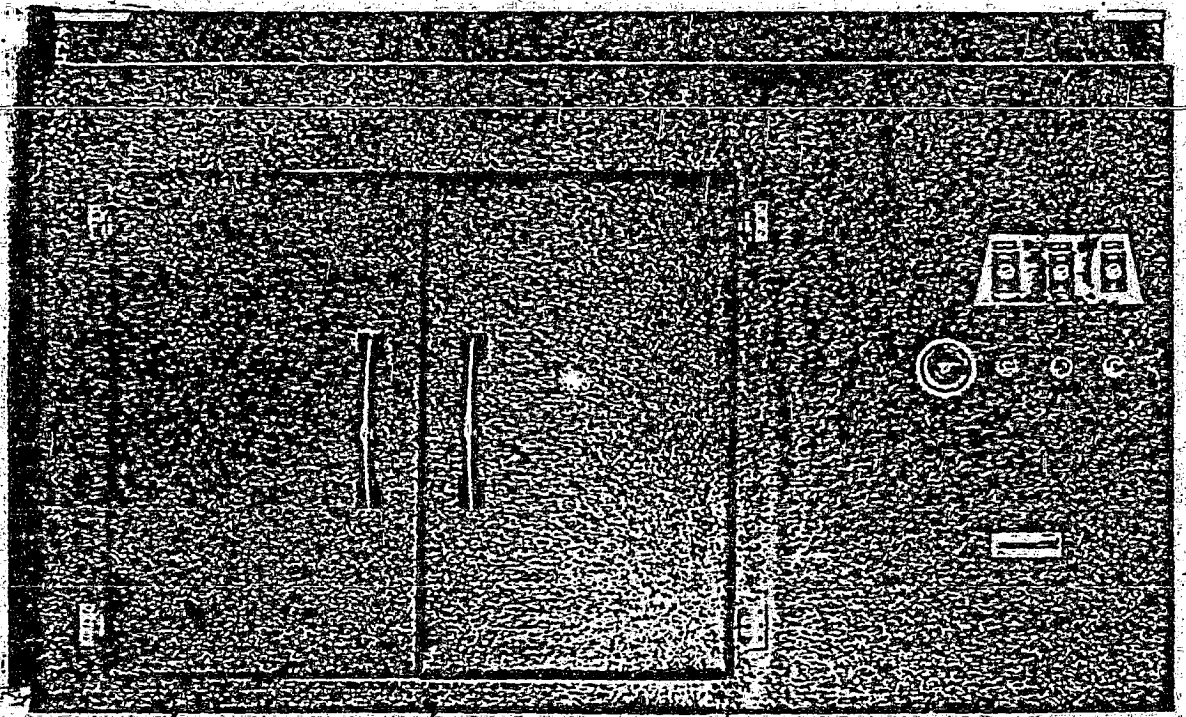
VENTAJAS Y DESVENTAJAS DEL METODO

VENTAJAS:

- 1).- El material que se somete a este tipo de esterilización como es el material de vidrio que obtienen estéril y completamente seco.
- 2).- Las sustancias como son la vaselina, aceites o sustancias oleosas se esterilizan completamente por este método, sobre todo si están envasados en recipientes herméticos.

DESVENTAJAS:

- 1).- No se puede esterilizar sustancias que sufran alteraciones en su molécula.
- 2).- No se puede esterilizar sustancias de plástico u objetos que sufran modificación en su forma física.
- 3).- El calor seco penetra tan fácilmente como el calor húmedo, requiriendo el primero más tiempo para que se lleve a cabo la esterilización.



Hornos para esterilizar por calor seco

ESTERILIZACIÓN POR MEMBRANA

La filtración por membrana se utiliza generalmente, para esterilizar líquidos o soluciones de sustancias termolábiles, que sufren o pueden alterarse por medio del calor.

Este tipo de esterilización se puede dividir en dos operaciones y son las siguientes:

- a).- Esterilización de líquidos como agua, agua destilada y soluciones para uso inyectable.
- b).- Esterilización de gases, principalmente la esterilización de ambientes y del aire.

Al efectuarse la esterilización por filtración el líquido filtrado se recoge en un recipiente estéril del cual el líquido filtrado se usará para llenar los viales y ampollitas del proceso o para llevar a cabo la operación correspondiente, mientras que en la membrana quedan retenidos los microorganismos, los cuales pueden esterilizarse directamente con calor húmedo o seco.

El tamaño promedio de los poros que tienen las membranas es de unas cuantas micras, y es variable de acuerdo del filtro que se trate y para lo que vaya a ser usado.

Se ha visto que el tamaño del poro de los filtros no es el único factor que previene el paso de los organismos sino que también influyen; la carga eléctrica del material filtrante, la carga eléctrica que transportan los organismos y la naturaleza del líquido filtrante.

CARACTERISTICAS QUE DEBEN PRESENTAR LOS FILTROS

- a).- Que no cedan materiales solubles al líquido.
- b).- Que no alteren las características organolépticas del líquido que se esté filtrando a que se vaya a filtrar.
- c).- que tengan un tamaño de poro uniforme en toda la superficie de la membrana.
- d).- Que separe con seguridad los gérmenes que contenga el líquido a esterilizar.
- e).- Que sea fácil de limpiar y de ser posible que sea desechable.
- f).- Que soporte la esterilización a 120° C por el tiempo indicado.
- g).- Que sea fácil de maniobrase y económico.
- h).- Que soporte las presiones a las que sea sometido y que no sufra alteraciones estructurales por efecto de las soluciones.

APARATO DE ESTERILIZACION POR FILTRACION

El aparato que se usa en la filtración consta de varios accesorios entre los cuales se encuentran: el soporte del filtro que generalmente es de acero inoxidable con una infinidad de agujeros por los cuales sale la solución estéril, el seguro contra la presión que es otro disco de acero inoxidable igualmente agujerado que se coloca antes del soporte del filtro, entre estos últimos accesorios va un círculo de hule el cual hace que el soporte y la lámina no se junten, al igual tenemos otro accesorio de hule entre el seguro contra la presión y la tapa del equipo - que de igual manera hace que no se peguen las dos partes y principalmente que no se presenten fugas de aire, así como, asegurar la filtración.

Una vez que estas partes se unen se aprietan por medio de una abrazadera de cerrojo la cual hace presión sobre los discos asegurando que estos queden herméticamente cerrados.

El equipo también consta de una entrada y salida de la solución que se va a esterilizar, otra parte de que consta el equipo son las patas, las cuales dan altura a los discos filtrantes dichas patas tienen cuerda en los extremos con los cuales atornillan a los discos filtrantes quedando así armado el aparato de filtración y acomodándolo con sus respectivas juntas quedará listo para usarse.

PROCESO DE ESTERILIZACION POR MEMBRANA

- 1).- ~~Colocar un disco filtrante esterilizado en una de las partes del aparato de filtración.~~
- 2).- Comprobar que el filtro se encuentre en buenas -- condiciones aplicando la prueba de la burbuja.
- 3).- Se filtra el líquido una vez que está totalmente armado y esterilizado el aparato. Una vez filtra da la solución en la membrana quedarán retenidos los gérmenes de la solución en ella.
- 4).- Se desarma el equipo de filtración y la membrana con los gérmenes se esteriliza con calor o vapor húmedo.

VENTAJAS DEL PROCESO

- 1).- Se puede filtrar un volumen muy grande de solu-- ción, quedando los organismos retenidos sobre la membrana.
- 2).- Una vez terminada la filtración, la membrana pue de incubarse con el fin de diferenciar las bacte

rias presentes.

3).- ~~Los resultados son obtenidos rápidamente.~~

4).- Empleando los medios necesarios se puede diferenciar ciertos tipos de bacterias.

5).- Al efectuarse el armado del aparato de filtración, generalmente se coloca una membrana como prefiltro que tiene por objeto retener las partículas mayores dando como consecuencia una mayor durabilidad al filtro membrana principal o sea la membrana que esta llevando a cabo la esterilización.

PRUEBA DE LA BURBUJA

Para que se lleve a cabo una buena filtración de un líquido por medio de los filtros membrana es necesario controlar la integridad de éstos.

El proceso que se realiza para comprobar la integridad de los filtros membranas se llama la prueba de la burbuja, esta prueba se recomienda que se efectúe antes y después del proceso de filtración con el objeto de estar seguros que durante el proceso no hubo alteraciones y se llevó correctamente el proceso.

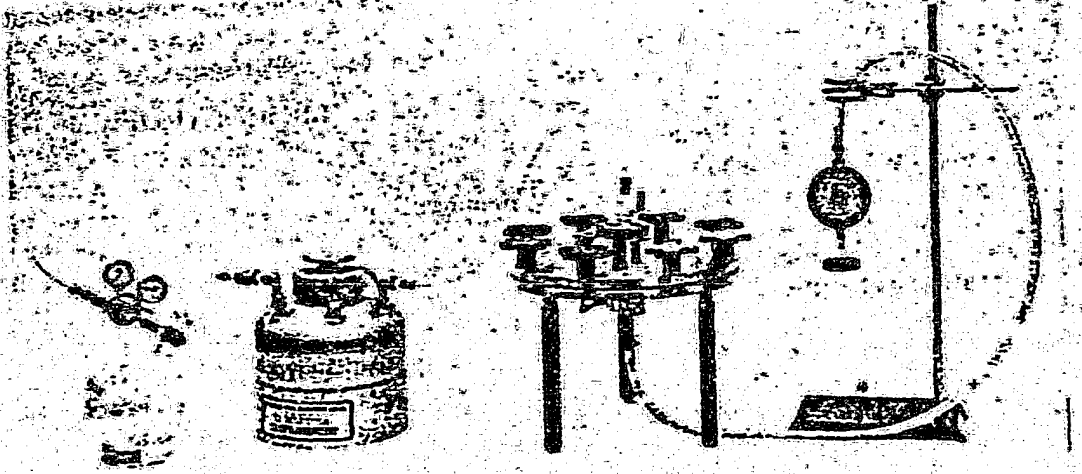
Los filtros membrana tienen pasajes discretos y uniformes que atraviesan su espesor y que pueden considerarse como capilares finos y uniformes. Cuando estos capilares están llenos de líquidos, la presión de gas necesaria para forzar el líquido hacia afuera debe ser suficiente como para superar la tensión superficial del líquido que se está filtrando.

La prueba de la burbuja se realiza de la siguiente manera:

Una vez que se armó el aparato de filtración conteniendo las membranas correspondientes se procede a humedecer con agua la membrana para posteriormente filtrar el aire y aplicar una presión de 3.9 kg/cm^2 , la salida de -

aire estará conectada una manguera que estará sumergida en agua de tal manera que si se producen burbujas estas nos indicaron que la membrana esta defectuosa y por lo tanto no servirá para que se realice el proceso.

La prueba que indica que el proceso se puede llevar a cabo es que al filtrar el aire con la presión de 3.9 kg/cm^2 no se produzcan burbujas, lo que indica que el proceso puede seguir adelante y una vez terminado -- se volverá a repetir dicha prueba.



Típico sistema de filtración esterilizante.

FILTRACION DE PEQUEÑOS VOLUMENES

La filtración de pequeños volúmenes se lleva a cabo por medio de jeringas las cuales tienen un portafiltros integrado, mismo que se encuentra sostenido por medio de un cierre Luer, el cual tiene como función evitar que el portafiltro se desprenda de la jeringa al aplicarse la presión correspondiente y la jeringas deberán tener una capacidad mayor de 5 ml debido a que las jeringas de menor capacidad pueden aumentar los límites de presión y como consecuencia averiar la membrana.

La aplicación que tiene este tipo de filtrado es en:

- Aditivos y soluciones intravenosas.
- Productos radiofarmacéuticos para suministro humano.
- Soluciones oftálmicas.

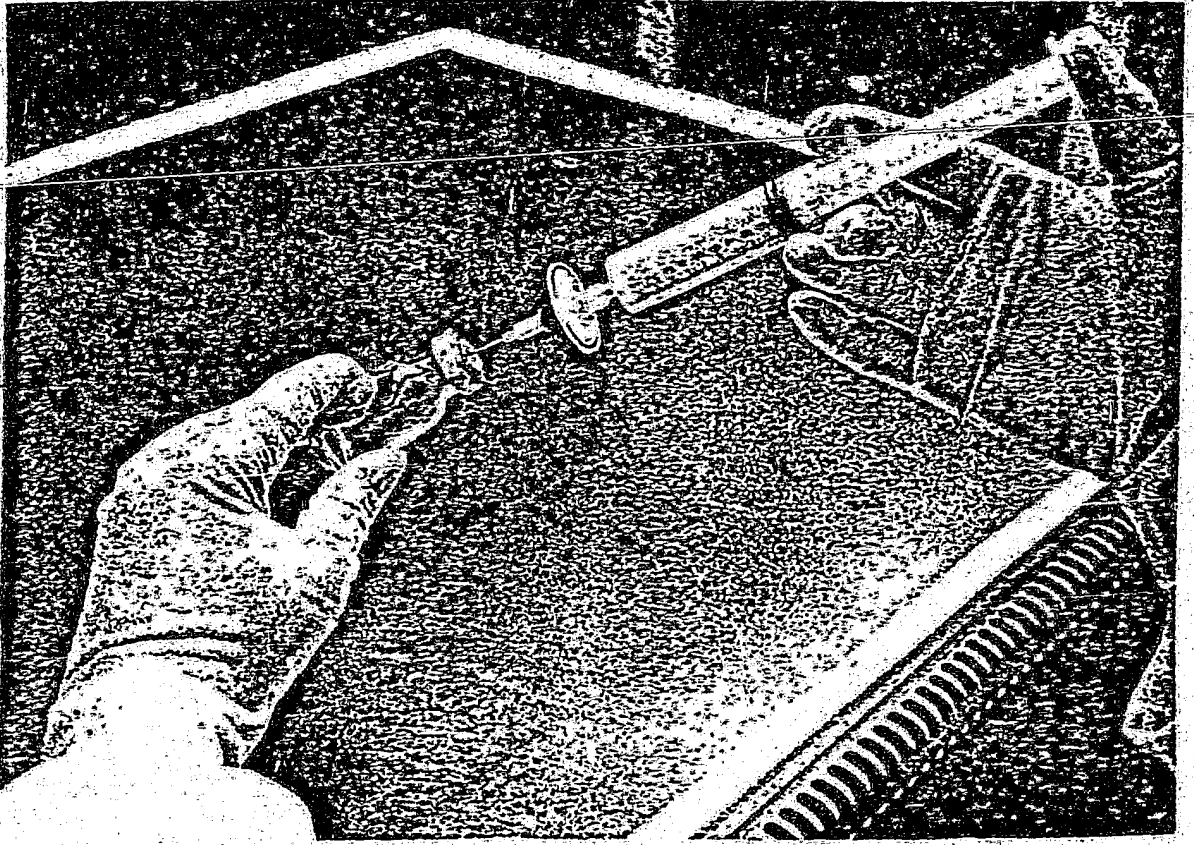
El procedimiento para usar las jeringas es el siguiente:

- a).- Colocar en el portafiltros la membrana.
- b).- Esterilizar en autoclave con óxido de etileno.
- c).- Llenar la jeringa con el líquido a filtrar.

d).- Ajustar asépticamente la jeringa.

e).- Mantener perpendicular la jeringa llena y aplicar la presión necesaria hasta que una gota de líquido aparezca a la salida de la aguja.

f).- Desarmar la jeringa y sembrar la membrana en --
filtros o esterilizar la jeringa completa.



Portafiltros descartable esterilizado, prearmado por el fabricante con un filtro de $0.22 \mu\text{m}$
(grado para esterilizar).

VENTAJAS DE LOS PREFILTROS

- 1.- La eficacia de la membrana no se ve afectada por las diferencias de presión.
- 2.- Su estructura es homogénea y no permite el paso de microorganismos más grandes que el tamaño del poro.
- 3.- Absorben muy poco la solución filtrante debido a que su superficie interna es muy baja.
- 4.- Se puede verificar su integridad constantemente por medio del ensayo del punto de burbuja.

OTRAS APLICACIONES DE LOS FILTROS MEMBRANA EN LA ESTERILIZACION DE GASES.

La esterilización de gases es de uso importante en filtración de aire estéril ya que tiene aplicación en la industria de las fermentaciones y la industria farmacéutica.

En estas industrias el aire estéril es de gran importancia para las operaciones que se ejecutan, como es

sabido el aire varía en número, concentración y tamaño de partículas por lo que en la industria farmacéutica es necesario filtrarlo para poder trabajar en el área estéril.

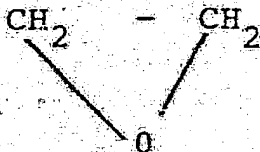
El mecanismo de filtración se hace por medio de filtros especiales (de alta eficiencia) los cuales han demostrado una gran eficacia para tal propósito.

Actualmente se cuenta con cartuchos que tienen membranas filtrantes que reúnen las mismas características de porosidad y eficacia que las membranas para esterilizar soluciones, colocadas con prefiltros que aseguren una elevada resistencia mecánica y el caudal necesario para el proceso.

El montaje de los filtros debe hacerse con mucha precisión para evitar que anulen sus ventajas, pues un error en el montaje de estos puede ser de efectos fatales.

ESTERILIZACION POR OXIDO DE ETILENO

El óxido de etileno es un compuesto orgánico relativamente sencillo cuya fórmula es:



El óxido de etileno es considerado como el gas ideal para llevar a cabo la esterilización. Entre las propiedades de este gas tenemos: Gas incoloro, olor etéreo, inflamable y altamente explosivo en presencia de aire, soluble en el agua y en la mayor parte de los solventes orgánicos:

Peso molecular	44.05
Punto de ebullición	10.7° C a 50 mm Hg-44°C
Punto de congelamiento	11.3° C
Tensión de vapor a 20° C	1.50
Calor de disolución en agua	1.5 K cal/mol.
Calor de combustión	312.5 cal/mol.
Calor de evaporación	6,101 cal/mol.
Calor de fusión	1,236.4 cal/mol.

Presión crítica	70.2 atm.
Índice de refracción a 7° C	1.3597
Densidad en relación con el aire	1.52
Densidad licuado a 4° C	0.884

Su toxicidad es comparable con la del Amoniaco puro, es vesicante al 100 %, irrita el sistema respiratorio, -- los ojos y la inhalación por tiempo prolongado provoca -- náuseas, vómito y dolor de cabeza.

CARACTERISTICAS DE UN GAS IDEAL ESTERILIZANTE

- 1.- Que tenga una acción rápida y segura sobre la ma yor parte de los microorganismos sobre los que se aplique.
- 2.- Que el material que se esterilizó no sufra ningu na alteración o modificación y tampoco necesiten equipos de alta resistencia química a la corro sión.
- 3.- Que se elimine rápido del producto esterilizado, así como, difunda rápidamente y que tenga mayor

poder de penetración sobre el material esterilizado.

- 4.- No ser tóxico, ni irritante.
- 5.- No ser inflamable, ni explosivo.
- 6.- Fácil de manipular.
- 7.- Que no se requiera ambiente húmedo para actuar.
- 8.- Que sea económico y de fácil adquisición en el mercado.

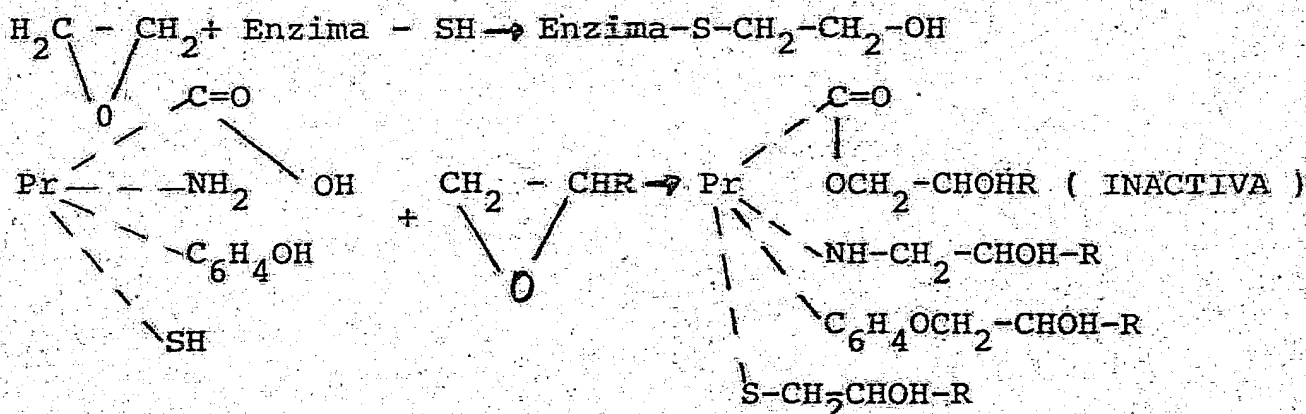
El óxido de etileno es un agente esterilizante poderoso y excepcional. Las esporas bacterianas cuya resistencia es muchas veces superior a las de las células vegetativas, estimado con otros agentes antimicrobianos, son poco resistentes a la acción de el óxido de etileno.

El óxido de etileno tiene una acción de penetración muy grande ya que penetra y esteriliza grandes bultos, envoltorios de paño y algunos plásticos.

Este gas es activo a temperaturas bajas y algo muy importante es que no deteriora muchos de los materiales

expuestos a él, aunque uno de sus inconvenientes es que su acción es relativamente lenta.

De acuerdo con la experiencia se ha visto que el óxido de etileno actúa por medio de reacciones de alquilación sobre las enzimas y las proteínas; dicha alquilación consiste en la sustitución de un átomo de hidrógeno activo en un compuesto orgánico. En dicha reacción el ciclo de la molécula de óxido de etileno se abre y se fija en el lugar que ocupa el hidrógeno.



Las mezclas de óxido de etileno que generalmente se usan para llevar a cabo la esterilización son las que están con triclorofluorometano y óxido de etileno en igual concentración; bióxido de carbono y óxido de etileno al 10%. Se utilizan estas mezclas debido a que el óxido de etileno es muy explosivo en estado puro.

En la siguiente hoja se muestran las mezclas de óxido de etileno. Una característica importante del óxido de etileno es la formación de un polímero que es producido o catalizado por los siguientes elementos: Hierro, --

estaño, vidrio, aluminio, acero, plomo y zinc, produciendo una sustancia oleosa amarillenta que puede transformarse en gomoso.

MEZCLAS A BASE DE OXIDO DE ETILENO

O.E %	CO ₂ %	presión de esterilización, atm
10	90	1
10	90	0a 1.9
10	90	
11	--	0.35 a 1.2
12	--	--
20	80	1
90	10	0.052
10	--	2.5
15	85	4-5
9.6	10.4 hasta	6

Esta polimerización puede evitarse lavando la cámara con un gas inerte (N₂) y los recipientes almacenados a la sombra; además no se debe emplear como material de construcción el cobre, plata o mercurio porque es capaz de producir acetiluros que actúan como desencadenantes de explosiones.

El óxido de etileno se usa por lo común para esterilizar los elementos y materiales termolábiles e instrumentos y aparatos delicados.

Un aparato sencillo para utilizar el óxido de etileno es un recipiente de acero inoxidable con una tapa hérmetica, dentro de él, se colocan los materiales a esterilizar. Se quiebra a mano la ampolla de óxido de etileno licuado, envuelto en una bolsa de plástico que no debe romperse y se ubica dentro del receptáculo que se tapaná de inmediato; se coloca boca abajo durante un período de 12 horas y al cabo de ese espacio se termina el proceso.

Entre los microorganismos sensibles al óxido de etileno tenemos:

Bacillus globigii

Aspergillus tamarii

Escherichia coli

Bacillus subtilis

Pseudomas aeruginosa

Mycobacterium tuberculosis

Bacillus cereus

Bacillus megaterium

Bacillus mesentericus

Bacillus licheniformis

Staphylococcus aureus

Mycobacterium phlei

Corynebacterium sepedonicum

Bacillus anthracis

Staphylococcus pyogenes

Clodtridium welchii

Salmonellas.

Algunas veces al usar el óxido de etileno se encuentran resultados negativos pero ésto es debido o provocado por un mal manejo de los factores que deben tenerse en cuenta como son: la concentración del óxido de etileno, temperatura, tiempo, humedad relativa y presión, ninguno de los cuales debe dejar de ser considerado si se quieren obtener resultados seguros.

Entre los materiales que resultan perjudicados por óxido de etileno se encuentran los siguientes:

La estreptomycin, Vitamina B₁₂, Proteínas, Tiamina, Nicotinamida, Piridoxina, Rivo flavina, Acido fólico y Kanamicina sulfato ácido,

AUTOCLAVES PARA ESTERILIZAR CON OXIDO DE ETILENO

Las autoclaves que se utilizan para este tipo de esterilización son los diseños comerciales que se producen generalmente en las fábricas tradicionales de autoclaves para vapor y se podrá decir que toda autoclave de este tipo esta dotada de una bomba de vacío que es útil para trabajar con las mezclas de óxido de etileno.

CICLO DE ESTERILIZACION CON OXIDO DE ETILENO

El ciclo de esterilización en la autoclave con óxido de etileno se lleva a cabo como sigue:

- 1).- Se carga la autoclave con el material que se va a esterilizar.
- 2).- Se establecen las condiciones a las cuales se va a trabajar.
- 3).- Se procede a dar el vacío para eliminar al máximo el aire que haya dentro de la cámara y el que pueda estar incluido en los materiales.
- 4).- Se deja que la presión se estabilice.
- 5).- Se rompe el vacío con la mezcla esterilizante y se deja que esta actúe durante el período que se haya determinado.
- 6).- Al terminar la esterilización nuevamente se hace el vacío para eliminar el óxido de etileno.
- 7).- Se deja un período de 15-30 minutos para favorecer la eliminación de óxido de etileno residual y se rompe el vacío por la entrada de aire estéril a través de un filtro seguro.
- 8).- Sacar el material esterilizado y dejarlo al aire por un período de 24 horas con el objeto

que desprenda todo el óxido de etileno que haya absorbido.

En este tipo de esterilización, la naturaleza de los materiales hace necesario protegerlas de la infección posterior, precaución que se simplifica teniendo en cuenta que se pueden guardar en bolsas de polietileno que se cierran herméticamente, en el caso de material de vidrio bastará una torunda de algodón la cual actuará como filtro, de esta forma se asegurará que la mezcla gaseosa se distribuya por todos los rincones del autoclave incluyendo los del material a esterilizar.

VENTAJAS DEL OXIDO DE ETILENO

- 1.- Se puede aplicar a sustancias termolábiles y aparatos delicados.
- 2.- El óxido de etileno puede penetrar al plástico lo que asegura la esterilización, cuando el plástico es sellado.
- 3.- Actúa sobre una gran variedad de bacterias incluyendo las esporas.

DESVENTAJAS

- 1.- El tiempo de esterilización es muy prolongado.

- 2.- El óxido de etileno altera la naturaleza de algunas materias.
- 3.- No se debe poner en recipientes de cobre o plata porque forma acetiluros.
- 4.- Algunos elementos como el Hierro, Estaño y Zinc catalizan la formación de un polímero que termina en gomoso.

ESTERILIZACION POR RADIACIONES

La palabra radiación incluye la emisión y propagación de la energía en el espacio o a través de un medio material.

Las radiaciones que tienen acción nociva sobre los organismos son los siguientes:

a).- Radiaciones ionizantes como:

los rayos X, rayos gamma y rayos catódicos.

b).- Las radiaciones electromagnéticas de mayor longitud de onda (rayos U.V.) y ondas ultrasónicas de muy alta frecuencia.

Uno de los aspectos más notables de la esterilización por dichas radiaciones ionizantes es que producen muy poco calor en el material irradiado; de aquí el término de esterilización fría nombre con el cual también se conoce a dicha esterilización pudiéndose aplicar esta a sustancias termolábiles.

Este tipo de radiación es capaz de destruir cualquier tipo de vida principalmente la de los microorganismos y para destruir a estos existen varios factores que influyen como son: la naturaleza de la energía misma, la sensibilidad del microorganismo, su concentración en el medio, la naturaleza del medio y las condiciones de irradiación.

Aunque estas radiaciones pueden producir efectos indeseables en los productos a esterilizar. Por eso es que se debe buscar el tipo de radiación adecuada para el producto que se va a esterilizar y no provocar malformaciones o alteraciones en dicho producto.

Luz Ultra Violeta.- La radiación ultravioleta es absorbida fuertemente por las proteínas y los ácidos nucleicos.

Esto parece indicar que el efecto nocivo sobre la célula esta en la alteración de la sustancia nuclear, provocando formación de peróxidos y muy probablemente reacciones de oxidación.

De hecho, cuando un material se expone a la luz ultravioleta produce mutación genética, muerte o inactivación de enzimas. Debido a que la luz U.V. esta constituida por fotones de baja energía, tiene un mayor efecto a 2650 A° pero en la práctica se utiliza la radiación de 2537 A°.

Las limitaciones que tiene el uso de lámparas con luz ultravioleta son:

- a).- Que al exponer las lámparas al aire hay formación de ozono.
- b).- Eritema.- que se puede evitar teniendo al personal con la vestimenta adecuada.
- c).- Conjuntivitis.- que se puede controlar usando gafas de vidrio.

APLICACIONES

Se aplica a la esterilización de líquidos y soluciones pero estas deben ser limpias puesto que de lo contrario su poder de penetración es muy pobre, aunque esto depende del producto que se esté esterilizando.

La luz ultravioleta se puede aplicar de dos maneras: directa e indirecta.

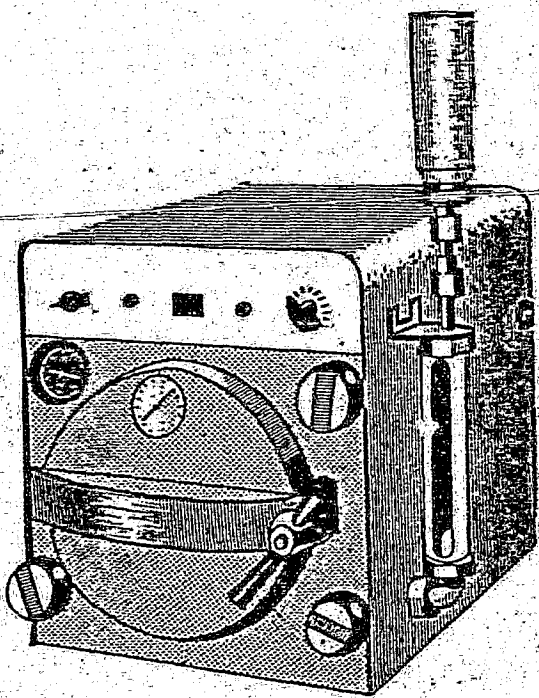
La primera tiene mayor efecto puesto que los rayos ultravioletas caen directamente sobre el producto que se quiere esterilizar.

VENTAJAS DE USAR LA LUZ U.V.

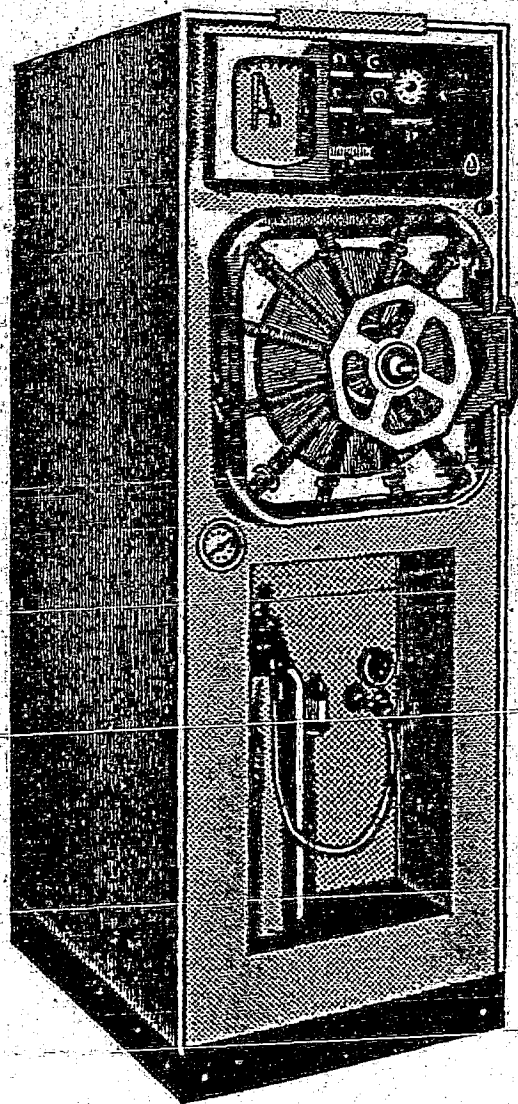
- 1.- La utilización de la luz U.V. se puede hacer a la temperatura ambiente o si es necesario a temperaturas bajas.

- 2.- Al esterilizar los productos con luz U.V. no hay alteraciones de las propiedades organolépticas aunque puede ser que se presenten algunas excepciones.
- 3.- Los contenedores de los materiales a esterilizar se pueden construir con materiales de baja resistencia térmica, para que se lleve a cabo una perfecta esterilización.
- 4.- Las propiedades químicas de la mayoría de los compuestos esterilizables no se alteran. Aunque aquí hay muchas excepciones.
- 5.- Ciertos productos pueden esterilizarse ya que se encuentren envasados.

Para esterilizar lugares grandes con este tipo de luz basta con poner lámparas en los lugares indicados.



Autoclave pequeño para esterilizar
óxido de etileno, aplicando la mezcla contenida
tubo suficiente para cada ciclo



Autoclave mayor con mezcla esterilizante
contenida en cilindros.

RAYOS GAMMA

Las radiaciones gamma son aplicables a productos o materiales termolábiles y de gran importancia en el campo industrial, tanto el cartón como el plástico y el aluminio permite el paso de las radiaciones, por lo que es posible que se esterilicen antibióticos, vacunas y elementos de sutura. Lo importante de este método es que la esterilización se hace en segundos.

Las radiaciones gamma son radiaciones de alta energía emitidos por ciertos isótopos radiactivos como el cobalto 60. Dichos isótopos son los que producen las radiaciones gamma. Estos rayos son semejantes a los rayos x - sólo que los gamma tienen una longitud de onda más corta lo que hace que sean más penetrantes y letales para los microorganismos.

La gran facilidad que tienen los rayos gamma de penetrar en los materiales así como su poder microbicida - hace a estos que tengan aplicación para esterilizar productos con mucho espesor, aunque puede haber problemas técnicos por cuestiones de seguridad al estar manejando dichos rayos.

La acción que tienen las radiaciones gamma y las otras radiaciones es que al incidir sobre el material - se produce una ionización, de ahí que estas radiaciones

reciban el nombre de radiaciones ionizantes, es decir, que al incidir un rayo gamma sobre alguna molécula del material a esterilizar, ocurre un desplazamiento de un electrón el cual es captado a su vez por otra molécula, de donde ambas moléculas adquieren un alto grado de reactividad y pueden reaccionar con otros constituyentes celulares. Se cree que una de las causas principales de los efectos nocivos de la radiación se debe a la ionización del agua intracelular con liberación de radicales hidroxilo e hidrógeno los cuales reaccionan con otros elementos de la célula causando el efecto letal.

Se han hecho estudios cuantitativos sobre el efecto de las radiaciones ionizantes en las células y se ha establecido la hipótesis del "blanco" que supone al incidir la radiación sobre el interior de la célula se produce la ionización y como consecuencia la muerte de la célula.

Los rayos beta tienen una acción semejante a la de los rayos gamma.

DESVENTAJAS DE LA ESTERILIZACION POR RADIACIONES.

- 1).- Se requiere personal capacitado para manejar el equipo.
- 2).- El equipo es muy costoso.

- 3).- El manejo debe hacerse con mucho cuidado ya que puede ocurrir desgracias.
- 4).- Puede producir degradación del principio activo por desencadenamiento de una reacción.

VENTAJAS

- 1).- La esterilización se lleva a cabo en segundos.
- 2).- Penetran fácilmente en los materiales a esterilizar.

CONTROLES DE ESTERILIZACION

Existen diversos medios de control para el proceso de esterilización como son:

- 1) Sustancias que funden a la temperatura de esterilización indicada.

Actualmente existen dos tipos de sustancias que se emplean para tales propósitos pero en diferentes casos.

Una sustancia está hecha para que sea empleada en la esterilización por autoclave y funde a 121°C mientras que la otra sustancia se emplea en la esterilización por horno y funde entre 160°C y 170°C .

Estas sustancias vienen envasadas en ampollas de vidrio y acompañadas de un colorante sólido, que al alcanzar la temperatura correspondiente funden cambiando de color debido probablemente a que al fundir la sustancia está reacciona con el indicador produciéndose el cambio de color.

En el caso del autoclave el cambio de color del indicador será de rosa a rojo intenso indicando el tono de color, el grado de esterilización en que se llevó a cabo en el proceso.

En el caso del indicador del horno el cambio de -

color será de azul a negro, de igual manera el tono del indicador será una manera de decirnos como se llevó a cabo el proceso.

Estos tipos de indicadores sirven para comprobar que la temperatura tanto del horno como la del autoclave se alcanzo satisfactoriamente.

2) Tiras de papel o cartón procesados con sustancias químicas.

Estos tipos de indicadores se usan principalmente en la esterilización por autoclave y su finalidad es comprobar que no se encuentre aire adentro del autoclave en el momento del proceso.

El cambio de color que se lleva a cabo en estos indicadores es de blanco a negro, ya que el color negro es más fácil de interpretar y de acuerdo con el tono de cambio es como se ha llevado el proceso. Para ayudar a la determinación del correcto cambio de color, las tiras indicadoras ilustradas utilizan una referencia standart de color pre-impreso. La letra "O" de la expresión "OK" esta impresa con tinta negra como punto de referencia, esta tira indicadora también lleva un punto marcado en la parte distal de la tira y una vez que se lleva a cabo el proceso de esterilización, la K, la flecha y el punto deben virar como mínimo a la misma intensidad de negro -

que la referencia. Si el aire esta presente en los paquetes el cambio de color a negro estará inhibido. Estos indicadores no determinan el tiempo de exposición, sino , la calidad del vapor (que no se encuentre aire dentro del autoclave cuando se lleve a cabo el proceso de esterilización). Estos indicadores se recomienda usarlos en las partes internas del paquete que es el lugar más difícil de que penetre el vapor.

Otro tipo de indicador utilizado es el llamado duo-record, este tipo de indicador tiene el mismo fundamento que el anterior además que en el reverso se puede anotar todos los materiales que se esterilizaron y en un momento dado controlarlos por ejemplo en el caso de que haya una contaminación porque no se llevó a cabo una esterilización correcta podremos identificar rápidamente toda la carga y volverla a reprocesar, además de que tienen doble uso puesto que se utilizan en el autoclave por vapor y en el autoclave con óxido de etileno. Estos indicadores cambian de blanco a negro.

Otro indicador es el once a day, este tipo de indicador fue desarrollado por Bowie and Dick y se utiliza para checar las utoclaves.

La prueba consiste en que se coloca en un paquete el indicador y se envuelve como si fuera un paquete

quirurgico normal. Este indicador esta impreso con una serie de circulos concentricos en tinta blanca reactiva al vapor y la continuidad de los circulos es lo importante de esta prueba.

Cuando el ciclo ha sido satisfactorio los circulos blancos cambian a un negro uniforme, si todo el aire no ha sido eliminado o si a habido alguna fuga, durante el ciclo de vacio antes de que la presión se consiga una o más partes de algunos circulos no cambiarán a negro, cualquier cambio que no sea el cambio completo de los círculos el color negro uniforme indica una prueba insatisfactoria para el esterilizador, se repete la prueba y en caso de salir nuevamente igual el esterilizador se mandará a compostura.

Otro tipo de indicador existente es el llamado time-card. Este tipo de indicador es el más completo de los que se han mencionado hasta qui por que es capaz de controlar los tres tipos de variables que pueden afectar la esterilización y son: temperatura, tiempo y eliminación de aire.

El time card tiene como finalidad controlar la esterilización por vapor con cualquier tipo de exposición que se escoja. Consta de 4 marcas indicadoras y siguiendo en orden la primera marca cambiará a los 5

minutos de exposición, la segunda de 10 a 13 minutos, la ~~tercera de 18 a 22 minutos~~ (para materiales hospitalarios) y la cuarta cambiará a los 25 minutos o más, esto es indicación de un proceso excesivo, con el objeto de tener la seguridad que el proceso se llevará a cabo y no habrá peligro de contaminación.

Este indicador esta hecho para ser usado en el auto clave y no debe ponerse en contacto con los materiales a esterilizar ya que los puede teñir debido a que la tinta se impregna (especialmente telas), en las fibras de los tejidos, se recomienda utilizar un soporte metálico para eliminar este efecto.

El cambio de color que se presenta es de violeta a verde y el tono nos dirá el grado en que se llevó a cabo la esterilización .

Otro de los indicadores que existen para controlar los procesos de esterilización es el duo-record y el gas-chex.

El primero mencionado anteriormente pero en este caso es para llevar a cabo una esterilización con óxido de etileno.

Este tipo de esterilización fue ideado para materiales sensibles a la temperatura, los ciclos más corrientes se llevan a cabo a 40° C y 55°C, el tiempo de exposición depende de la temperatura, así como, de la concen-

El indicador duo-record tiene la misma finalidad que se explico cuando se mencionó su uso en el auto-clave por vapor húmedo.

Tirillas impregnadas con microorganismos muy resistentes o sustancias contaminadas.

Estos tipos de indicadores se utilizan en los siguientes procesos de esterilización:

Esterilización por vapor húmedo, por calor seco y por óxido de etileno.

De todos los indicadores mencionados estos indicadores son los más importantes, debido a que son los que realmente nos dicen si un proceso de esterilización se ha llevado con éxito.

Los indicadores que existen en el mercado se mencionarán a continuación:

El primer indicador a mencionar es el sterikon que es una suspensión de esporas de *Bacillus stearothermophilus* es una solución nutritiva de glucosa conteniendo un indicador que es el púrpura de bromocresol.

Una vez que se ha realizado el proceso de esterilización el indicador no cambiará de color y se incubará a 55° C durante 7 días y si al cabo de este tiempo hay un cambio de color se podrá decir que el proce

so no se llevó a cabo satisfactoriamente y se tendrá que repetir.

El cambio de color es de púrpura a amarillo y se debe a que el microorganismo fermenta la glucosa del medio produciendo un producto ácido que hace virar el indicador.

El duo-spore es otro de los indicadores que existen en el mercado, este indicador consta de tres tirillas -- las cuales contienen dos tipos de esporas las del Bacillus subtilis var niger (globigii) y los del Bacillus stearothermophilus.

Este tipo de indicador esta recomendado para la esterilización por calor seco, vapor húmedo, óxido de etileno y radiaciones.

En el caso que se trabaje con autoclave los indicadores serán incubados a 55° C en medio de tripticaseína soya durante 7 días después de los cuales se verán los resultados.

En el caso que se trabaje con horno, autoclave de óxido de etileno y con radiaciones los indicadores se incubarán a 37° C durante 7 días después de los cuales se observará el resultado obtenido.

Estos tipos de indicadores cuentan con un indicador control que presenta las siguientes ventajas:

1.- Ver que el medio de cultivo sea el adecuado de lo contrario no habrá crecimiento.

2.- Que las esporas esten vivas antes de meterse al esterilizador.

3.- Comprobar que la carga quedó estéril una vez que se llevó a cabo el proceso.

4.- Sirve como muestra de retención ya que demuestra que el proceso se realizó correctamente.

70 70 79 79 83 83

* R E S U L T A D O S *

Y

* P A R T E E X P E R I M E N T A L *

Los resultados que se obtuvieron al llevarse a cabo la validación en los procesos de esterilización se exponen a continuación:

1.- Autoclave (Vapor húmedo). - Una vez que se hizo el chequeo adecuado del autoclave que se menciona en la teoría de la esterilización por vapor húmedo, se procedió a realizar el proceso de esterilización usando los indicadores que se mencionan a continuación y que tienen como función validar la esterilización. Este proceso se llevó a cabo a 121° C y a 2 atm. de presión realizándose 6 veces para cada indicador y se sigue repitiendo en la actualidad.

Los primeros indicadores usados fueron cintas y papel impregnados con sustancias químicas que al ser sometidas a las condiciones expuestas y colocados en los puntos más difíciles de penetrar por el vapor, después de terminado el proceso, se sacaron y se observaron dando como resultado una revelación completa de los indicadores lo que significa que el proceso se llevó a cabo satisfactoriamente; estos indicadores se colocaron también con el material a esterilizar observándose que dichos indicadores fueron revelados.

Los segundos indicadores usados fueron sustancias químicas (no se dan nombres de las sustancias químicas porque son de patente) contenidas en tubitos de ensayo que se colocaron en diferentes partes de la cámara con el objeto de ver si el calor se distribuía uniformemente y se llevó a cabo el proceso y una vez que se enfrió el autoclave y que el tiempo de exposición terminó se sacaron los indicadores dando como consecuencia que el proceso se había llevado a cabo positivamente ya que el indicador viró de color blanco a rojo-naranja.

Los terceros indicadores usados fueron indicadores biológicos los cuales tenían esporas de microorganismos que se encontraban en estado latente y liofilizados.

Estos indicadores se colocaron en varios lugares de la cámara del autoclave con el objeto de ver si el vapor se distribuía uniformemente por toda el área y se llevó a cabo el proceso y una vez que este terminó se sacaron dichos indicadores y se incubaron a 55° C en medio nutritivo de tioglicolato durante 7 días y diariamente se checaron los tubos con el medio y los microorganismos , no observándose ningún crecimiento lo que indica que el proceso se llevó a cabo con éxito. Todos los indicadores fueron colocados en el material a esterilizar obteniéndose los resultados mencionados anteriormente.

2.- Horno (Calor seco).- Para comprobar que el calor se distribuye homogéneamente por toda la cámara del horno, se colocaron los indicadores en distintos lugares y al finalizar el proceso se observaron los indicadores obteniéndose resultados satisfactorios ya que el proceso se había llevado a cabo con eficacia.

Para validar el proceso de esterilizar por el calor seco se utilizarán dos tipos de indicadores - haciéndose dichas validaciones periódicamente y - que en la actualidad se siguen llevando a cabo.

El primer indicador utilizado fue una sustancia química ocluida en un tubito de ensayo; este tipo de indicador se colocó tanto en la cámara del horno como en el material a esterilizar. El proceso se llevó a cabo a 250°C por 2 horas (En la teoría se mencionó que la validación se llevó a cabo entre 160° - 170°C durante 1 hora, pero en este caso se realizó a 250°C durante 12 horas lo que garantiza que el proceso esta super-estéril aunque en este caso se esta desperdiciando demaciada anergía ya que con esa temperatura el proceso de esterilización se podría efectuar en menos tiempo. Esta observación fue notificada a la persona indi

cada y se estan tomando medidas necesarias para corregir esta ejecución y realizarla como de be ser) observándose que los resultados fueron eficaces, ya que el indicador cambió de color blanco a negro comprobándose una vez más la validación del proceso.

El segundo indicador utilizado fue un indicador biológico formado de esporas en estado latente - los cuales fueron colocados en la cámara del hor no , así como, en el material a esterilizar y - una vez que se sacaron del horno se incubaron -- 7 días a 37° C en medio nutritivo de trioglicola to, al finalizar el tiempo requerido se observáron los tubos incubados y no se presentó desarrollo microbiano lo que indica que el proceso se - lleva a cabo con éxito una vez más.

cada y se estan tomando medidas necesarias para corregir esta ejecución y realizarla como de be ser) observándose que los resultados fueron eficaces, ya que el indicador cambio de color - blanco a negro comprobándose una vez más la validación del proceso.

El segundo indicador utilizado fue un indicador biológico formado de esporas en estado latente - los cuales fueron colocados en la cámara del horno , así como, en el material a esterilizar y - una vez que se sacaron del horno se incubaron -- 7 días a 37° C en medio nutritivo de trioglicolato, al finalizar el tiempo requerido se observaron los tubos incubados y no se presento desarrollo microbiano lo que indica que el proceso se - lleva a cabo con éxito una vez más.

3.- Filtración por membrana.- la validación por el método de filtración por membrana se lleva a cabo de la siguiente manera:

Una vez que el aparato estuvo armado completamente se aplicó la prueba de la burbuja observándose que en ningún caso de las 6 veces que se repitió la prueba hubo burbujeo lo que indicó que las membranas estaban en buenas condiciones y por lo tanto el proceso se realizó.

Por lo que se procedió a filtrar totalmente el líquido, se tomaron porciones de la solución y se inocularon en medios nutritivos de acuerdo con el microorganismo que se crea que puede ser el contaminante (para esto, en la farmacopea se dan las especificaciones correspondientes).

4.- Oxido de etileno.- Para la validación por óxido de etileno se debe comprobar que el autoclave este en buenas condiciones, por medio del manómetro externo se checa la presión, por medio de vacío se checa la herméticidad y por medio de indicadores se checa que el gas se distribuya por toda la cámara.

Una vez checada el autoclave se realizó el proceso de esterilización colocándose tarjetas impregnadas con sustancias químicas de igual manera que se hizo con los procesos anteriores y con el mismo objeto (ver si el gas se distribuye homogéneamente dentro de la cámara), dando como resultado un cambio de color que fue de verde a color marrón y con esto se comprobó la validación del proceso.

El proceso se llevó a cabo con las siguientes condiciones:

La presión de la cámara fue de 17 pulgadas de presión, la temperatura de 37° C y la humedad fue la ambiental.

El segundo control utilizado fue un indicador biológico (tirilla impregnada con esporas de microorganismos en estado latente) el cual se

distribuyó por la cámara del autoclave y el material a esterilizar y una vez terminado el proceso se incubó 7 días a 37° C en medio nutritivo de tioglicolato , observándose que no hubo desarrollo microbiano en los tubos lo que indica que el proceso se llevó a cabo positivamente.

79

79

83

83

5.- Esterilización por radiaciones. - La validación del ~~proceso de esterilización por radiaciones no fue~~ posible realizarla debido a que hubo problemas con la institución donde se iba a efectuar.

Sin embargo, la validación del proceso se lleva a cabo por medio de indicadores impregnados con sustancias químicas o biológicas, las cuales al ser alcanzadas por las radiaciones (una vez que se ha expuesto al proceso de esterilización) viran de color indicando con esto que el proceso se ha llevado a cabo satisfactoriamente.

En el caso de los indicadores biológicos se incuban a 37° C durante 7 días y se ve el resultado al final de este tiempo y en caso de haber crecimiento indica que el proceso se llevó a cabo mal, por lo que se tendrá que repetir.

INDICADORES

UTILIZADOS

O.K.

Antes
De Usarse

FOR PROOF OF PENETRATION OF STEAM INTO PACKS WHITE
K ← AND WHITE ● CHANGE TO MATCH THE BLACK 'O'
U.S. Pat. No. 2,344,545 Proper Mfg. Co., Inc. L.I.C. N.Y. 11101

Contents _____
Date _____ Initial _____

O

FOR PROOF OF PENETRATION OF STEAM INTO PACKS WHITE
K ← AND WHITE ● CHANGE TO MATCH THE BLACK 'O'
U.S. Pat. No. 2,344,545 Proper Mfg. Co., Inc. L.I.C. N.Y. 11101

Contents _____
Date _____ Initial _____

OK ←

Despues
De Usarse

Duo-Record

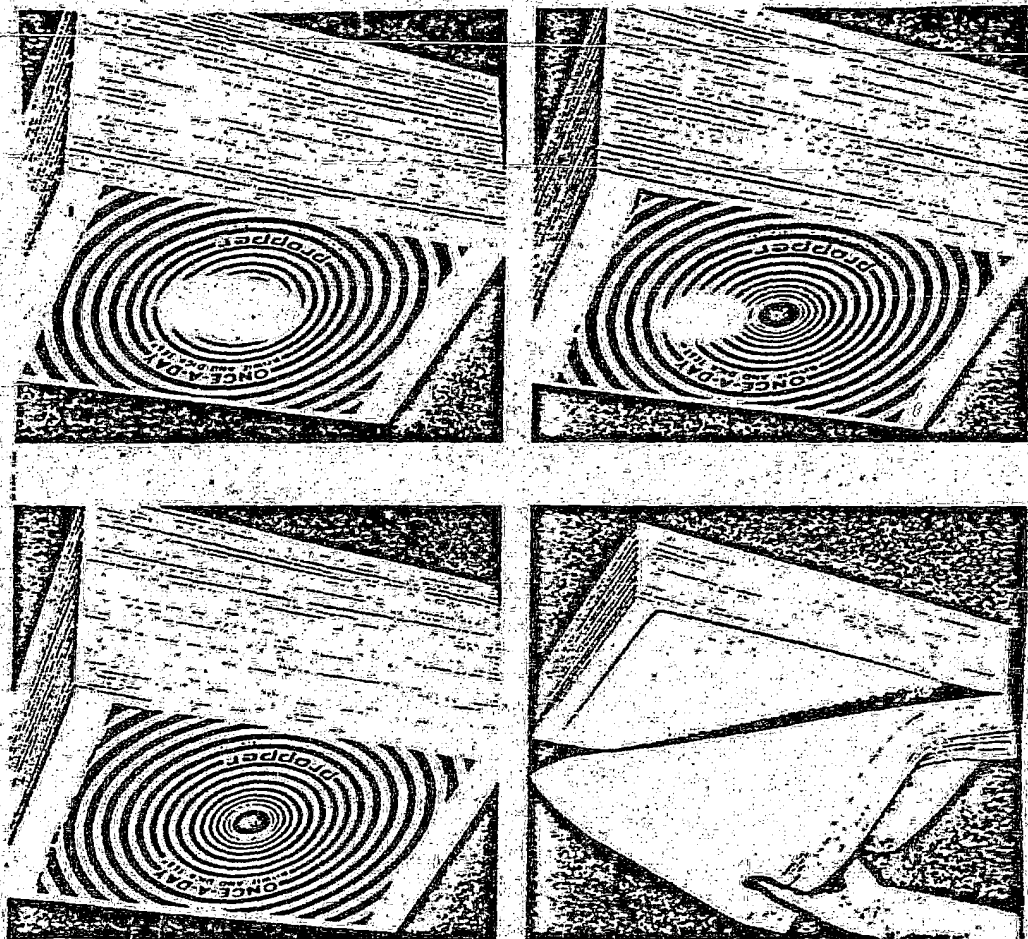
Gas O
Indicador de gas vira a verde, indicador a vapor permanece Inerte

Expiration Date _____
duo-record
FOR GAS AND STEAM STERILIZERS. Load Control No. _____
IN **gas** IN **steam**
RED CHANGES TO GREEN WHITE CHANGES TO BLACK
New York 11101

Expiration Date _____
duo-record
FOR GAS AND STEAM STERILIZERS. Load Control No. _____
IN **gas** IN **steam**
RED CHANGES TO GREEN WHITE CHANGES TO BLACK
Date _____ Sterilizer No. _____ No. of Bundles _____ Signature _____
proper manufacturing co., inc., long island city, new york, 11101

En vapor, indicador de vapor vira a negro, indicador de gas permanece Inerte

once-a-day



TIME CARD

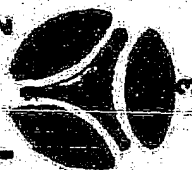
TIMECARD
1 2



DESUPES

3
For positive
proof of
sterilizing
conditions at
250°F (121°C)
proper
MFG. CO., INC.

TIMECARD
1 2



ANPES

3
For positive
proof of
sterilizing
conditions at
250°F (121°C)
proper
MFG. CO., INC.

Gas-Chex®

Antes
De Usarse

GAS-CHEX FOR ASSURANCE OF ETHYLENE OXIDE LEAKS PENETRATION INTO THE PACK THE RED AREA AT Contents _____
THE LEFT END AND THE MARK AT THE RIGHT END CHANGE TO GREEN WHEN EXPOSED TO E.O. _____
Your Signal of Safety is GREEN Proper Mfg. Co. Inc. L.T.C. N.Y. 11101 Date _____

GAS-CHEX FOR ASSURANCE OF ETHYLENE OXIDE LEAKS PENETRATION INTO THE PACK THE RED AREA AT Contents _____
THE LEFT END AND THE MARK AT THE RIGHT END CHANGE TO GREEN WHEN EXPOSED TO E.O. _____
Your Signal of Safety is GREEN Proper Mfg. Co. Inc. L.T.C. N.Y. 11101 Date _____

Despues
De Usarse

Duo-Spore

SUPERVISOR

DUO- SPORE

BACTERIOLOGIST

TEST PIECE - BACTERIAL SPORE ATTESTATION MONITOR

TEST PIECE - BACTERIAL SPORE STERILIZATION MONITOR

CONTROL PIECE - BACTERIAL SPORE STERILIZATION MONITOR

101-120

INSTRUCTIONS FOR USING STERILIZATION OF GAS, STEAM, OR DRY ORGANISM BACILLUS SUBTILIS sp. NEBII

This part of envelope contains two test monitors.

SUPERVISOR
Instructions for Sterilization

1. Include the two test tubes from this packet within pack of material to be sterilized, and locate in the most difficult area to be sterilized by the sterilization agent used (see procedure instructions for additional details).
2. Sterilize according to normal procedure.
3. Fill in data received on other side of this envelope.
4. After sterilization, remove both tubes from the pack, place them in this packet from the envelope and send to Bacteriology Laboratory for testing.

Expire _____
State of incident conditions, remove from E.O. gas. After expiration date, incubate _____

STERILIZATION EFFICIENCY MONITOR FOR DRY HEAT STERILIZATION OF BACILLUS SUBTILIS sp. NEBII (one each of envelope containing control and test tubes)

Instructions for Counting

1. Incubate in 5% CO₂ for 24 hours at 37°C. (37°C for 24 hours is preferred.)

2. Place each test tube in a rack and incubate in 5% CO₂ for 24 hours at 37°C. (37°C for 24 hours is preferred.)

3. Prepare for viable count by diluting 1:10 in 0.1% peptone water.

4. Plate 0.1 ml of each dilution on TSA and incubate for 24 hours at 37°C. (37°C for 24 hours is preferred.)

5. Observe tubes daily for growth. Growth should occur in both tubes if all records are correct.

6. Record results on Bacteriology Laboratory report.

7. If no growth is observed in either tube, the sterilization was successful.

C O N C L U S I O N E S

De los métodos de esterilización expuestos anteriormente se concluye que la validación de estos procesos es un método formal que garantiza la ausencia total de microorganismos viables en los artículos que se someten a dichos procesos.

Por otra parte, tenemos que la validación de los procesos de esterilización tienen una gran importancia ya que los artículos que son sometidos a dichos procesos como se dijo anteriormente tienen una garantía que se encuentran totalmente libres de microorganismos y sea cual fuere su destino al ser distribuidos se tendrá una seguridad al ser empleados.

Concluyo que los métodos de esterilización que se expusieron en éste trabajo, incluyen todas las posibilidades que existen para llevar a cabo la esterilización de equipo, material y sustancias que lo requieren y con la ayuda de los indicadores utilizados dará una seguridad que se encuentran todos ellos estériles de ahí la ventaja de estos indicadores que se pueden colocar en las partes más difíciles de las cámaras del autoclave y del horno a donde el vapor, el calor, gas o radiaciones no pueden llegar fácilmente, al finalizar el proceso de esterilización se podrán observar dichos indicadores y como consecuencia corroborar la validación del proceso que se llevó a cabo.

79

79

83

79

83

79

B I B L I O G R A F I A

- 1.- ~~Mayr, C., "Sterilization of Surgical Materials. Symposium, "The Pharmaceutical Press, London, p. 90 (1961).~~
- 2.- Perkins, J.J., and Lloyd R.S., "Sterilization of Surgical Materials. Symposium, "The Pharmaceutical Press, London, p. 76 (1961).
- 3.- Cpfell, John B., Wang, Yui-Loog, Louderback, Allan and Miller, Curtis E., "Penetration by Gases to Sterilize interior Surfaces of Confined Spaces, Appl. Microbiol. 12:27 (1964).
- 4.- Holmlund, L.G., "Steam Corrosion and Steam Corrosion Inhibition in autoclave Sterilization of Dental and Surgical Steel Materials, " Biotech. & Bioeng. 7:177 (1965).
- 5.- Hansen, N.H., and Riemann, H., " Factors Affecting the Heat Resistance of Nonsporing Organisms, " J. Appl. Bact. 26:314 (1963).
- 6.- Ernst, R.R., and shull, J.J. " Ethylene Oxide Gaseous

Sterilization I. Concentration and Temperature Effects,
"Appl. Microbiol. 10:342 (1962).

7.- Ernst, R.R., and Shull, J.J., " Ethylene Oxide Gaseous Sterilization II. Influence of Method of Humidification
Appl. Microbiol. 10;342 (1962).

8.- Royce, A., and Bowler, C., "Ethylene Oxide Sterilization Some Experiences and Some Practical Limitations,"
Pharm. Pharmacol. 13:87T. (1961).

9.- Medical Research Council Working Party, " Sterilization by Steam Under Increased Pressure," Lancet 1:425
(1959).

10.- Shull, J.J., Cargo, G.T., and Ernst, R.R., "kinetics of Heat Activation and of Thermal Death of Bacterial Spores." Appl. Microbiol. 11:485 (1963).

11.- Wilkinson, G.R., Peacock, F.G., and Robins, E.L., " A Shorter Sterilizing Cycle for Solutions Heated in an Autoclave," J. Pharm. Pharmacol. 12:197T (1960).

12.- Reddish, G.F. (Ed.) "Antiseptics, Disinfectants, Fungicides, and Chemical and Physical Sterilization, --

"2nd ed., Lea and Febiger, Phila., Pa., 1957.

13.- Rubbo, S.D. and Gardner, J.F., "A review of Sterilization and Disinfection," Year Book Publishers, Inc., Chicago, Ill., 1965.

14.- Gray, G. Microbiología Ed. Continental p.p. 126--214 1972.

15.- Bedon, Para: Fundamentos y Técnicas de Esterilización Ed. Panamericana 1977.

16.- Bryan H. Artur, Brayan A. Charles Bacteriología -- Ed. Continental p.p. 104-129 1976.

17.- José Helman, Farmacotecnia Teórica y practica Ed. Continental tomo IV Cap. 35 p.p. 1285-1342 1981.