

BioPEB

Material de estudio

Esterilización.

Proceso de esterilización.

Los agentes transmisibles (como esporas, bacterias y virus) pueden eliminarse a través de la esterilización, diferente de la desinfección, que únicamente elimina los organismos capaces de causar enfermedades.

La esterilización es la eliminación o muerte de todos los microorganismos que contiene un objeto o sustancia, y que se encuentran acondicionados de tal forma que no pueden contaminarse nuevamente.

Algunos métodos utilizados para realizar la esterilización serán descritos a continuación.

1. Agentes físicos.

1.1 Calor.

Todos los microorganismos son susceptibles, en distinto grado, a la acción del calor. El calor provoca desnaturalización de proteínas, fusión y desorganización de las membranas y/o procesos oxidativos irreversibles en los microorganismos.

La efectividad del calor como método de esterilización depende de dos cosas:

- Temperatura
- Tiempo de exposición

1.1.2 Calor Húmedo.

El calor húmedo produce desnaturalización y coagulación de proteínas. Estos efectos se deben principalmente a dos razones:

- El agua es una especie química muy reactiva y muchas estructuras biológicas (DNA, RNA, proteínas, etc) son producidas por reacciones que eliminan agua. Por lo tanto, reacciones inversas podrían dañar a la célula a causa de la producción de productos tóxicos. Además, las estructuras secundarias y terciarias de las proteínas se estabilizan mediante uniones puente de hidrógeno intramoleculares que pueden ser reemplazadas y rotos por el agua a altas temperaturas.
- El vapor de agua posee un coeficiente de transferencia de calor mucho más elevado que el aire. Por lo que, los materiales húmedos conducen el calor mucho más rápidamente que los materiales secos debido a la energía liberada durante la condensación.

El autoclave es el aparato más comúnmente utilizado en los laboratorios para esterilizar cultivos y soluciones que no formen emulsiones con el agua y que no se desnaturalicen a temperaturas mayores a 100 °C. Una temperatura de 121 °C (una atmósfera de sobrepresión) con un tiempo de exposición mayor a 15 minutos sirve para destruir organismos formadores de esporas.

Ventajas.

- Rápido calentamiento y penetración
- Destrucción de bacterias y esporas en corto tiempo
- No deja residuos tóxicos
- Hay un bajo deterioro del material expuesto
- Económico

Desventajas.

- No permite esterilizar soluciones que formen emulsiones con el agua
- Es corrosivo sobre ciertos instrumentos metálicos

1.1.3 Calor Seco.

El calor seco produce desecación de la célula, efectos tóxicos por niveles elevados de electrolitos, procesos oxidativos y fusión de membranas. Estos efectos se deben a la transferencia de calor desde los materiales a los microorganismos que están en contacto con éstos. El aire es mal conductor del calor, y el aire caliente penetra más lentamente que el vapor de agua en materiales porosos. La acción destructiva del calor sobre proteínas y lípidos requiere mayor temperatura cuando el material está seco o la actividad de agua del medio es baja. Esto se debe a que las proteínas se estabilizan mediante uniones puente de hidrógeno intramoleculares que son más difíciles de romper por el calor seco.

La estufa de esterilización es el artefacto utilizado en los laboratorios para esterilizar por calor seco. Se requiere mayor temperatura y tiempo de exposición que el autoclave. La temperatura varía entre 120° y 180°C, requiriéndose distintos tiempos de exposición. A 140°C se necesitan por lo menos 5 horas de exposición, mientras que a 160°C se requieren al menos 2 horas de exposición.

Sirve para esterilizar material de vidrio. El papel y el algodón no pueden ser esterilizados a más de 160°C.

Ventajas.

- No es corrosivo para metales e instrumentos.
- Permite la esterilización de sustancias en polvo y no acuosas, y de sustancias viscosas no volátiles.

Desventajas.

- Requiere mayor tiempo de esterilización, respecto al calor húmedo, debido a la baja penetración del calor.

Existen otras formas de eliminar microorganismos por calor seco. La incineración se utiliza para destruir material descartable contaminado. La acción directa de la llama elimina a los microorganismos cuando se lleva al rojo el material de metal como ansas, lancetas, agujas de disección.

1.2 Radiaciones.

Su acción depende de:

- Tipo de radiación
- Tiempo de exposición
- Dosis

1.2.1 Ionizantes.

Producen iones y radicales libres que alteran las bases de los ácidos nucleicos, estructuras proteicas y lipídicas, y componentes esenciales para la viabilidad de los microorganismos.

Tienen gran penetrabilidad y se las utiliza para esterilizar materiales termolábiles (termosensibles) como jeringas descartables, sondas, etc. Se utilizan a escala industrial por sus costos.

No se utilizan para medios de cultivo o soluciones proteicas porque producen alteraciones de los componentes.

1.2.2 Ultravioletas.

Afectan a las moléculas de DNA de los microorganismos debido a que forman dímeros de pirimidinas adyacentes que inducen errores en la duplicación y por lo tanto la pérdida de la viabilidad de las células. Son escasamente penetrantes y se utilizan para superficies.

2. Agentes químicos.

Dentro de los compuestos químicos podemos encontrar agentes esterilizantes, desinfectantes y antisépticos.

La efectividad de estos agentes depende de las condiciones bajo las que actúan.

- Concentración: varía con el tipo de agente y de microorganismo, pues una misma concentración del agente puede producir un efecto diferente en distintos microorganismos.
- Tiempo: los microorganismos no son susceptibles a un agente en la misma forma, por lo que no todos los microorganismos mueren al mismo tiempo.
- pH: afecta tanto a los microorganismos como a los agentes químicos. El aumento de pH por encima de 7 incrementa la carga negativa de los microorganismos afectando la concentración del agente sobre la célula. El pH determina el grado de disociación y la efectividad del agente químico, pues a menor disociación mayor permeabilidad y mayor efectividad.

2.1 Antisépticos.

2.1.1 Alcoholes.

Lesionan la membrana celular de los microorganismos y desnaturalizan proteínas celulares. Desorganizan la estructura fosfolipídica.

No destruyen esporas y tienen una acción germicida lenta. Los alcoholes de cadena corta tienen un efecto nocivo mayor que los de cadena larga.

Se utilizan en concentraciones del 50 al 70%. Los más utilizados son el etanol e isopropílico.

2.1.2 Iodo.

Es un agente oxidante que modifica grupos funcionales de proteínas y ácidos nucleicos. Inactiva proteínas y enzimas por oxidación de los grupos -SH a S-S, pudiendo atacar también grupos amino, indoles, etc.

Se utiliza como desinfectante de la piel (tintura de iodo: yodo molecular 2% y yoduro de sodio 2% en alcohol), aunque es irritante.

Es efectivo contra esporas en una concentración de 1600 ppm de iodo libre.

2.1.3 Agentes iónicos y anfóteros.

Son sustancias que lesionan la membrana celular debido a que desordenan la disposición de las proteínas y de los fosfolípidos, por lo que se liberan metabolitos desde la célula, se interfiere con el metabolismo energético y el transporte activo.

No son esporicidas ni tuberculicidas aún en altas concentraciones. Sus principales ventajas se hallan en que son inodoros, no tiñen, no son corrosivos de metales, estables, no tóxicos y baratos.

- **Catiónicos:** Sales de amonio cuaternarias. Tienen mayor actividad a pH alcalino y los Gram + son más susceptibles.
- **Aniónicos:** Jabones y ácidos grasos. Tienen mayor actividad a pH ácido y son eficaces contra Gram +.
- **Anfóteros:** Actúan como catiónicos o aniónicos según el pH.

2.1.4 Órgano Mercuriales.

Estos tipos de compuestos se combinan con los grupos -SH de las proteínas, inactivando enzimas. Dentro de los mercuriales orgánicos se encuentran el metafen y el mertiolate.

2.1.5 Peróxido de Hidrógeno.

Es un antiséptico débil, con capacidad oxidante y formadora de radicales libres. Actualmente, el peróxido de hidrógeno gaseoso se está utilizando como desinfectante de superficies o descontaminante de gabinetes biológicos debido a que no posee las propiedades tóxicas y cancerígenas del óxido de etileno y formaldehído.

2.1.6 Colorantes.

Interfieren en la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas (acridina) o interfieren en la síntesis de la pared celular (derivados del trifenilmetano). La acridina se inserta entre dos bases sucesivas del DNA separándolas físicamente. Esto provoca errores en la duplicación del DNA. Los derivados del trifenilmetano (violeta de genciana, verde de malaquita y verde brillante) bloquean la conversión del ácido UDP-acetilmurámico en UDP-acetilmuramil-péptido.

3. Filtración

Se usan membranas filtrantes con poros de un tamaño determinado. El tamaño del poro dependerá del uso al que se va a someter la muestra. Hay que tener en cuenta que los filtros que se utilizan generalmente en los laboratorios no retienen virus ni micoplasmas, estos últimos están en el límite de separación según el diámetro de poro que se utilice.

Existen tres tipos básicos de filtros:

- Filtros profundos o Filtros de profundidad: consisten de un material fibroso o granular prensado, plegado, activado, o pegado dentro de los canales de flujo. En este tipo de filtros la retención de las partículas se produce por una combinación de absorción y de retención mecánica en la matriz.
- Membranas filtrantes: tienen una estructura continua, y la retención se debe principalmente al tamaño de la partícula. Partículas más pequeñas al tamaño del poro quedan retenidas en la matriz del filtro debido a efectos electrostáticos.
- Filtros de huella de nucleación (Nucleoporo): son películas muy delgadas de policarbonato que son perforadas por un tratamiento conjunto con radiación y sustancias químicas. Son filtros con orificios muy regulares que atraviesan la membrana verticalmente. Funcionan como tamices, evitando el paso de toda partícula con un tamaño mayor al del poro.

La filtración se utiliza para emulsiones oleosas o soluciones termolábiles. Su uso para esterilizar aceites, algunos tipos de pomadas, soluciones oftálmicas, soluciones intravenosas, drogas diagnósticas, radiofármacos, medios para cultivos celulares, y soluciones de antibióticos y vitaminas.

Referencias Web.

Pisa Farmacéutica.

http://www.pisa.com.mx/publicidad/portal/enfermeria/manual/4_6_5.htm

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Departamento de Química Biológica

<http://www.microinmuno.qb.fcen.uba.ar/Seminarioesterilizacion.htm>

Microbiología! Outside. Argentina.

<http://www.microbiologia.com.ar/>