



FACULTAD DE QUÍMICA UAEM.

“Esterilización” (Calor húmedo)

U.A.: Microbiología General
Programa Educativo de
Químico Farmacéutico Biólogo.

(Unidad de Competencia I)

M en SHO Lidia Sandoval Flores

Octubre/2015



Objetivo:

Conocer el fundamento y la aplicación de la esterilización por calor húmedo como métodos para estudiar a los microorganismos





Contenido:

I. Reducción microbiana

- Antecedentes
- Definiciones
- Métodos físicos y químicos

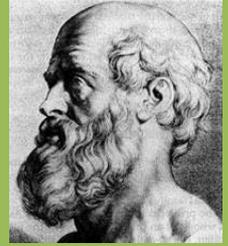
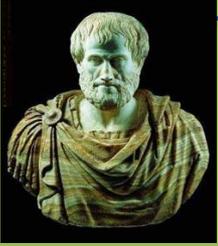
II. Esterilización

- Fundamento y proceso

III. Controles

- Bioindicadores

I. Reducción o eliminación microbiana



Antecedentes históricos:

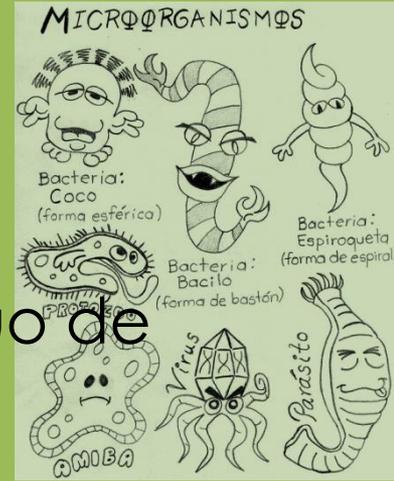
- **Moisés** (1450 a.C.) – Sistema de purificación por fuego.
- **Hipócrates** (430-370c.C.)- Separa la medicina de la filosofía. Irriga las heridas con vino o agua hervida.
- **Aristóteles** recomienda a Alejandro Magno que la tropa beba agua hervida para no enfermar.

La reducción o eliminación por técnicas de higiene y sanidad ambiental que controlan la presencia o ausencia de microorganismos indeseables, ha permitido el avance de la Microbiología y su aplicación en diferentes áreas como la medicina, la industria alimentaria y la farmacéutica.



Definiciones

Esterilizar, del latín *sterilis* – privar a un individuo de reproducirse.



Esterilizar: La destrucción, eliminación o reducción total de todos los microorganismos contenidos en un objeto por medios físicos o químicos.

En Microbiología, es eliminación o destrucción de todo organismo o forma de vida: vegetal o animal, macroscópica o microscópica, nociva o inocua.

(Está vivo cuando es capaz de reproducirse)



II. Esterilización

- **Esterilización:** Eliminación completa de toda forma viva (viables) de un medio o material.
- Un medio **es estéril** cuando la ausencia de microorganismos es “**completa**”.
- El término estéril es “**absoluto**”.
- Inactiva totalmente todo tipo de microorganismo.
- No hay la capacidad de reproducción.
- Sin embargo, No implica la destrucción de los constituyentes celulares: enzimas, toxinas, etc



Reducción microbiana

- **Desinfectar:** Proceso de reducción de microorganismos patógenos en objetos inertes.
- **Sanitizar:** Proceso que reduce a un nivel de sanidad y seguro el número de microorganismos presentes en superficies y en el ambiente.
- Términos que no son absolutos.
- **Área aséptica:** zona comprendida dentro de una área limpia, diseñada y construida para minimizar la contaminación por partículas viables y no viables, manteniéndola dentro de límites preestablecidos.

Esterilización

- **Temperatura:** Medida de la intensidad de calor.
- **Termopar:** Dispositivo formado por la unión de dos metales distintos que produce un voltaje que es función de la diferencia de temperatura entre uno de los extremos denominado unión caliente o de medida y el otro denominado unión fría o de referencia.

Esterilización

- **Validación:** Evidencia documentada que demuestra que a través de un proceso específico de calificación se obtiene, que un producto cumple consistentemente con las especificaciones de calidad establecidas.
- **Calificación de la instalación:** Evidencia documentada de que las instalaciones, sistemas, y equipos se han instalado de acuerdo a las especificaciones de diseño previamente establecidas.

Esterilización

- **Calificación de la ejecución o desempeño:** Evidencia de que las instalaciones, sistemas y equipos se desempeñan cumpliendo los criterios de aceptación previamente establecidos.
- **Calificación del diseño:** Evidencia documentada que demuestra que el diseño propuesto de las instalaciones, sistemas y equipos es conveniente para el propósito proyectado.
- **Calificación operacional:** Evidencia documentada que demuestra que el equipo, las instalaciones y los sistemas operan consistentemente, de acuerdo a las especificaciones de diseño establecidas.



Biocarga o Carga microbiana

En una muestra, los microorganismos se originan de diversas fuentes: materias primas, materiales, agua utilizada, del equipo, del personal o del medio ambiente, por lo que se debe controlar la población microbiana durante los procesos.

Los métodos de esterilización pueden ser de 3 tipos:

- a. Por destrucción total de microorganismos
- b. Por muerte o inactivación
- c. Por eliminación con medios físicos

Esterilización

Métodos físicos:

- **Calor:**

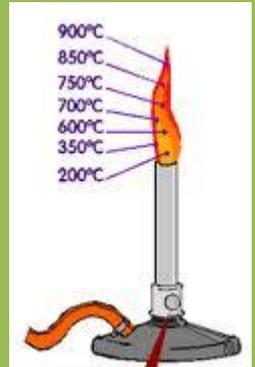
- Calor seco: Flama, Horno, Incineración
- Vapor o calor húmedo: autoclave, ebullición
- Tyndalización

- **Radiación**

- Ionizante: radiaciones gamma
- No ionizante: UV
- Altas Presiones, Microondas, pulsos eléctricos.

- **Microfiltración, Ultrafiltración**

- **Osmosis inversa**



Esterilización

Métodos Químicos

- Peróxido de Hidrógeno
- Plasma de peróxido de hidrógeno
- Oxido de etileno
- “Desinfección química: aldehidos”



Métodos/ Esterilizadores



BM3



Cámara / 77 lts.
construida totalmente
en acero inoxidable.

Pantalla de
programación

Impresora de
datos



Más equipo industrial

STERILIZER

**VERTICAL AND ZPPI
MODELS**

**QUALITY
ASSURED**

High Speed Performance



Equipos/hospital/laboratorio



Esterilización / Calor

- **Factores - Calor:**

- Temperatura
- Tiempo de exposición

Acción del calor: Muerte

- **Calor seco:** desnaturalización de Proteínas, fusión y desorganización de membranas y/o procesos oxidantes irreversibles en los microorganismos.
- **Calor húmedo:** desnaturalización y coagulación de Proteínas.
 - Agua especie química muy reactiva
 - Muchas estructuras biológicas son producidas por reacciones que involucran o eliminan agua.

Esterilización / Calor

Transferencia del calor por 3 métodos:

- ✓ Conducción en sólidos
- ✓ Convección en fluidos (líquidos o gases)
- ✓ Radiación a través de cualquier medio transparente a ella

Diferencia de temperatura:

Si hay una diferencia de temperatura de calor siempre viajará del lugar más caliente al más frío.

Acción del Calor: Muerte

- **Calor seco:** produce desecación en la célula, tóxico por niveles elevados de electrolitos, fusión de membranas.
 - Por transferencia de calor (contacto directo) desde los materiales a los microorganismos.
 - La acción sobre las Proteínas y lípidos requiere mayor temperatura cuando el material está seco o la actividad del agua del medio es baja.
- **Calor húmedo:** desnaturalización y coagulación de Proteínas.
 - Agua especie química muy reactiva.
 - Muchas estructuras biológicas son producidas por reacciones que involucran o eliminan agua.

Ventajas y Desventajas

- **CALOR SECO**

Ventajas :

- Para materiales resistentes a temperaturas altas: vidrio, metal, entre otros.
- Polvos, sustancias no acuosas y viscosas no volátiles.
- No es corrosivo para metales e instrumentos
- Económico.

Desventajas:

- Baja penetración de calor.
- Requiere mayor tiempo y temperatura que calor húmedo.

Ventajas y Desventajas

- **CALOR HÚMEDO:**

- **Ventajas:**

- Transferencia de calor por conducción y por convección.
 - 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 para soluciones que formen emulsiones con el agua.
 - Corrosivo para algunos instrumentos metálicos.

Consideraciones/ Calor húmedo

- Para cada microorganismo existe una temperatura máxima de crecimiento, por encima de la cual mueren.
- A temperaturas altas, las moléculas pierden su estructura y su función por el proceso llamado desnaturalización.
- La presencia de agua disminuye la temperatura requerida para desnaturalizar las proteínas.

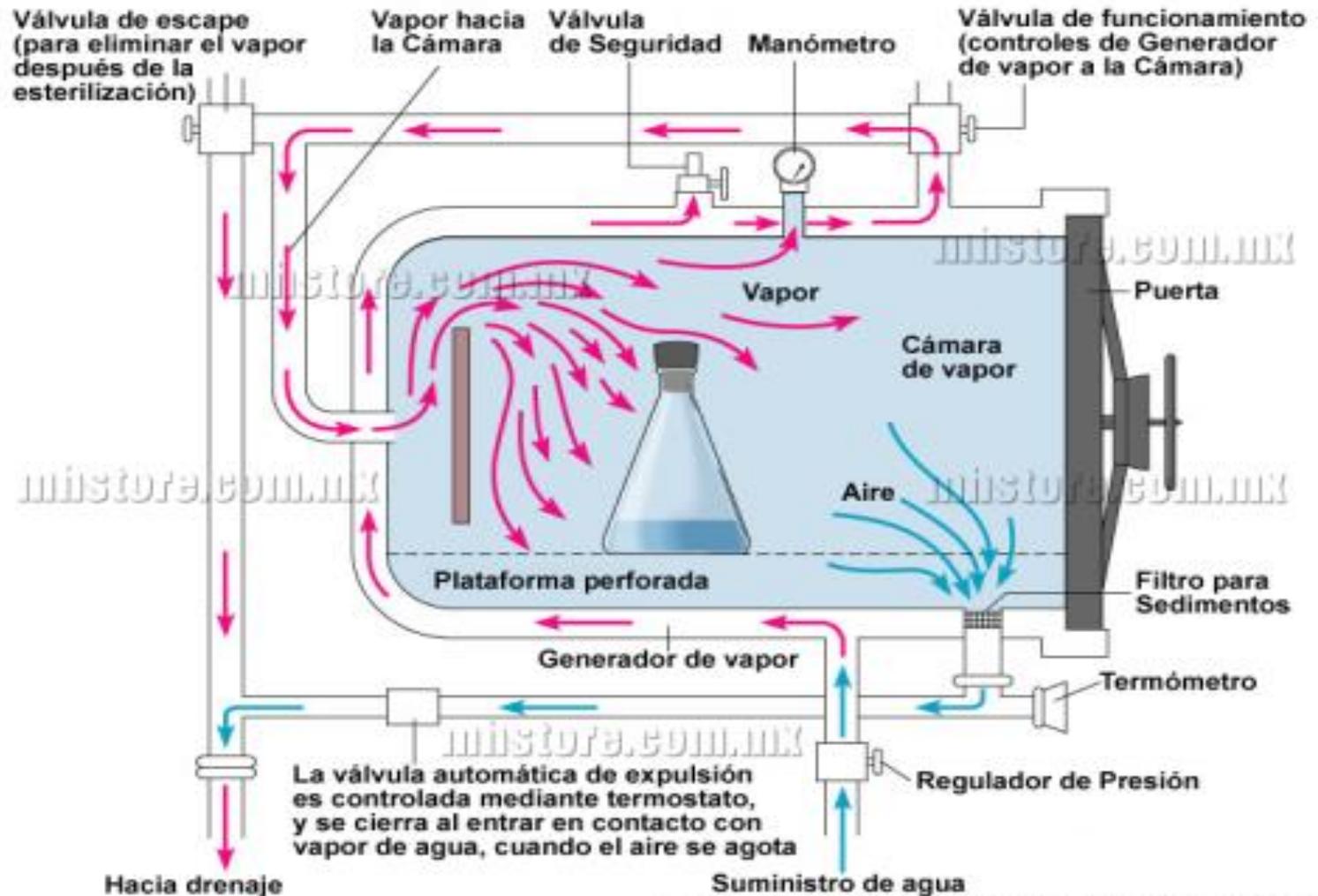


Consideraciones/ Calor húmedo

- Se utiliza vapor saturado bajo presión en una autoclave, actualmente llamada esterilizador.
- Este es el método más común de esterilización utilizado, ya que tiene un efecto muy predecible y reproducible en la destrucción de microorganismos.
- La esterilización por vapor se realiza generalmente a 121 ° C 15 lb.



Autoclave: Funcionamiento



Autoclave de Vapor Autogenerado

Consideraciones/ Calor húmedo

Condiciones aproximadas para destruir μoo (mesófilos) con calor húmedo

μoo	Células vegetativas	(Esporas*)
Levaduras	5 min a 50-60° C	5 min a 70-80° C
Mohos	30 min a 62° C	30 min a 80° C
Bacterias*	10 min a 60-70° C	De 2 a > 800 min a 100° C
Virus	30 min a 60° C	0.5 -12 min a 121° C

Factores en la esterilización



Método

Factores

Húmedo

Seco

Filtración

Radiación

Temperatura y tiempo

Tamaño de partícula
(BUBBLE PRESSURE Test)/
Membrana

Dosis de Radiación
absorbida (Dosímetro)

**INDICADORES
DE
ESTERILIZACIÓN**

QUÉ SON?

Físicos



QUÉ SON?

Químicos

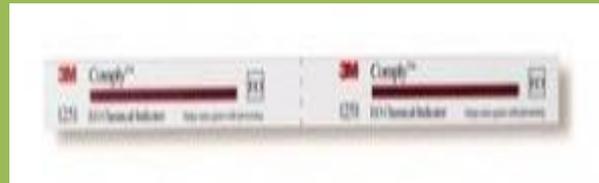


QUÉ SON?

Biológicos

Indicadores químicos y físicos

- **Controles químicos:** son dispositivos especiales impregnados de compuestos químicos, sensibles de cambiar su estructura a una temperatura específica y se manifiesta por cambio de color.

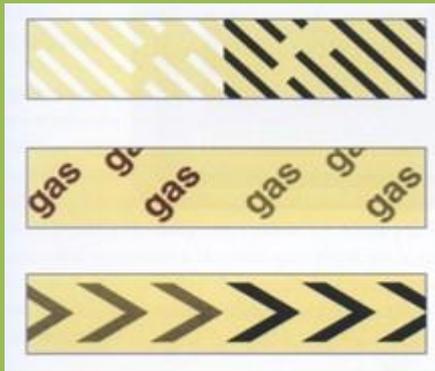


- **Indicadores físicos:** dispositivos con productos químicos sensibles de modificar su estructura cuando alcanzan una temperatura específica de cada del producto y se manifiesta por cambiar su estado físico (de estado sólido a líquido).



Indicadores de esterilización

- Indicadores Químicos:

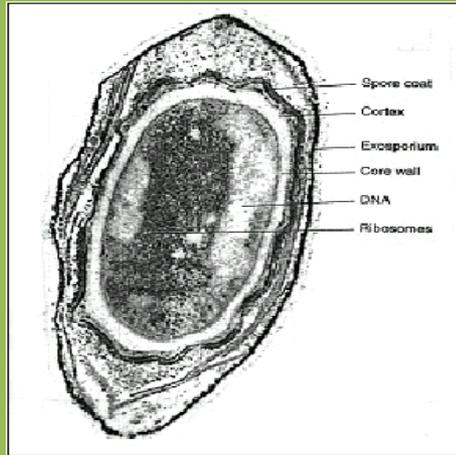


EXPOSURE	134°C
1.0 mins	→ 121° C 12 MINS → 134° C 4 MINS <small>MANUFACTURED IN THE US - ALBERT BROWNE CO.</small>
2.0 mins	→ 121° C 12 MINS → 134° C 4 MINS <small>MANUFACTURED IN THE US - ALBERT BROWNE CO.</small>
3.0 mins	→ 121° C 12 MINS → 134° C 4 MINS <small>MANUFACTURED IN THE US - ALBERT BROWNE CO.</small>
4.0 mins	→ 121° C 12 MINS → 134° C 4 MINS <small>MANUFACTURED IN THE US - ALBERT BROWNE CO.</small>
4.5 mins	→ 121° C 12 MINS → 134° C 4 MINS <small>MANUFACTURED IN THE US - ALBERT BROWNE CO.</small>

- Indicadores Físicos:

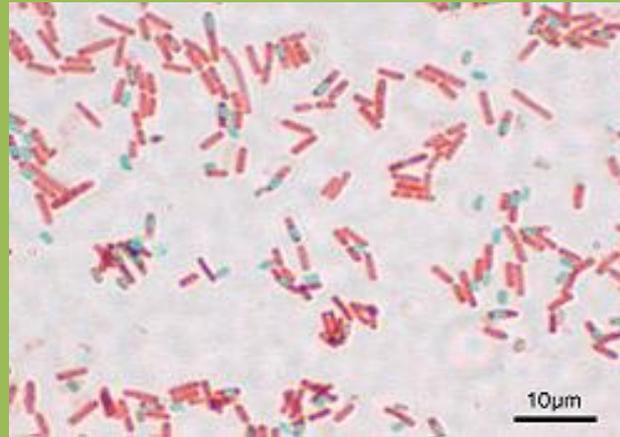


Bioindicador: *Bacillus*



**Espora
bacteriana**

B subtilis



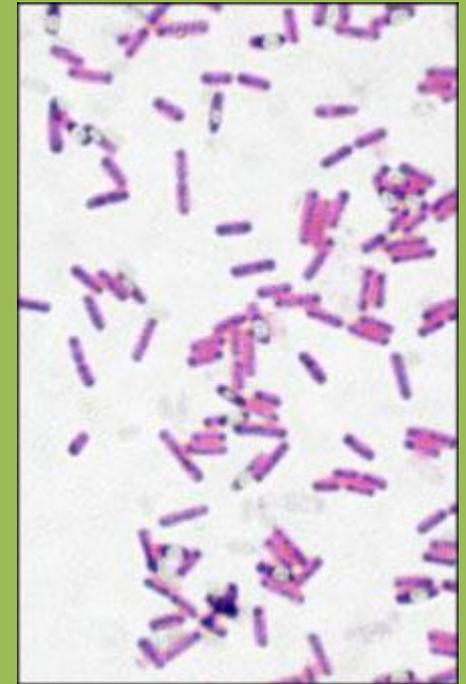
Bacilo esporulado



**Colonia de
*Bacillus***

Género: *Bacillus*

- Bacilo Gram positivo
- Aerobio
- Puede formar cadenas de bacilos
- Presenta esporas
- Saprófitos
- Muy resistente a condiciones adversas (nutricionales, de temperatura, humedad, presión, radiaciones, sanitizantes, entre otras)
- Produce antibióticos, vitaminas, alcoholes y enzimas.



Indicadores de esterilización

- Un indicador biológico se define como una preparación caracterizada de microorganismos específicos que proporciona una resistencia definida y estable a un proceso de esterilización específicos.
- Los microorganismos utilizados como indicadores biológicos son bacterias formadoras de esporas, ya que poseen una resistencia mayor a la microbiota normal frente a la mayoría de los procesos de esterilización.



Indicadores de esterilización

- Se utilizan para controlar ciclos de esterilización establecidos, evaluando la capacidad del proceso empleado para descontaminar.
- Monitorean o controlan si el proceso de esterilización funciona correctamente.
- En la actualidad no es suficiente someter los materiales al proceso de esterilización, sino que además se requiere cierto grado de seguridad en la eficiencia del procedimiento.

Presentaciones

- Tiras de esporas. Franja de papel filtro impregnada con una suspensión de esporas bacterianas y contenidos dentro de un sobre de papel cristal. En algunos procesos, otros sustratos, por ejemplo, aluminio, acero inoxidable, fibra de vidrio, pueden ser utilizados.



- Discos de esporas. Piezas circulares de papel filtro impregnado con una suspensión de esporas.

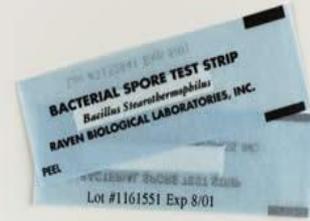


Presentaciones

- Suspensiones de esporas en un medio líquido con un indicador de pH.
- Una suspensión de esporas con la que se puede realizar la inoculación en la superficie de un material.
- Unidades auto contenidas con tiras de esporas y los medios de cultivo en la que van a ser incubados, permitiendo una mayor sencillez de uso.



Presentaciones



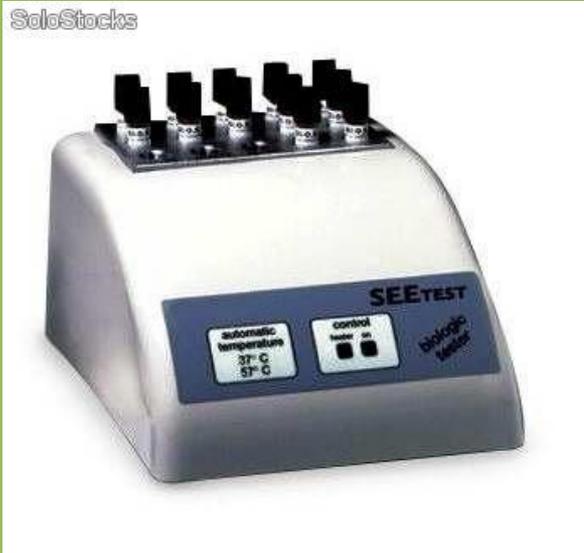
Lectura e interpretación:

Después de la exposición de los bioindicadores a un proceso de esterilización, siendo células microbianas esporuladas, su viabilidad se pone de manifiesto sembrando las tiras en medio de cultivo, las presentaciones que integran las esporas y el medio, al igual que las anteriores se incuban a la temperatura indicada y se observa el desarrollo o inhibición por turbidez o cambio de pH si contiene un indicador (por el metabolismo de carbohidratos).

Sin crecimiento, turbidez o cambio de pH, indica que no hay células viables, hay esterilidad. El ciclo de esterilización se llevó a cabo correctamente.



Incubadoras de bioindicadores



Bioindicadores

Proceso	Tipo de Espora	Tiempo de Incubación	Código
Vapor	<i>G. stearothermophilus</i>	7 días a 55-60°C	SGMS
Oxido de Etileno	<i>B. atrophaeus</i>	7 días a 30-35°C	SGMG
Radiación	<i>B. pumilus</i>	7 días a 30-35°C	SGMR
LTS Formaldehído	<i>G. stearothermophilus</i>	7 días a 55-60°C	SGMLF/6
Dual	<i>B. atrophaeus</i> / <i>G. stearothermophilus</i>		SGMD/66
Oxido de Etileno		7 días a 30-35°C	
Vapor		7 días a 55-60°C	



Proceso	Espora	Incubación	Población n	Código
Gas	<i>B. atrophaeus</i>	72 Horas a 37°C	106	RG/100
Vapor	<i>G. stearothermophilus</i>	24 Hours at 60°C	106	RS5/100
			106	RS6/100



Bioindicadores

ORGANISMO	PROCESO DE ESTERILIZACIÓN	VALOR DE D
<i>G. stearothermophilus</i>	Vapor saturado 121°C	1.5 min.
<i>B. atrophaeus</i> (<i>subtilis</i> Var. <i>Niger</i>)	Calor seco 170 °C	1.0 min.
<i>B. subtilis</i> Var. <i>Globigii</i>	Oxido de etileno (600 mg/l, 50%HR 54°C)	3.0 min.
<i>B. pumilus</i>	Radiaciones Gamma	
	Húmedo	0.2 MRAD
	Seco	0.15 MRAD

Valores D, F, y Z.

VARIABLES ESENCIALES QUE PERMITEN LA EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE DESTRUCCIÓN TÉRMICA DE UN PROCESO DE ESTERILIZACIÓN:

Valor D. Tiempo de reducción decimal. Tiempo en minutos requerido para inactivar un logaritmo de la población microbiana.

Valor F. Tiempo equivalente a una temperatura específica entregada a un contenedor para destruir una población de esporas.

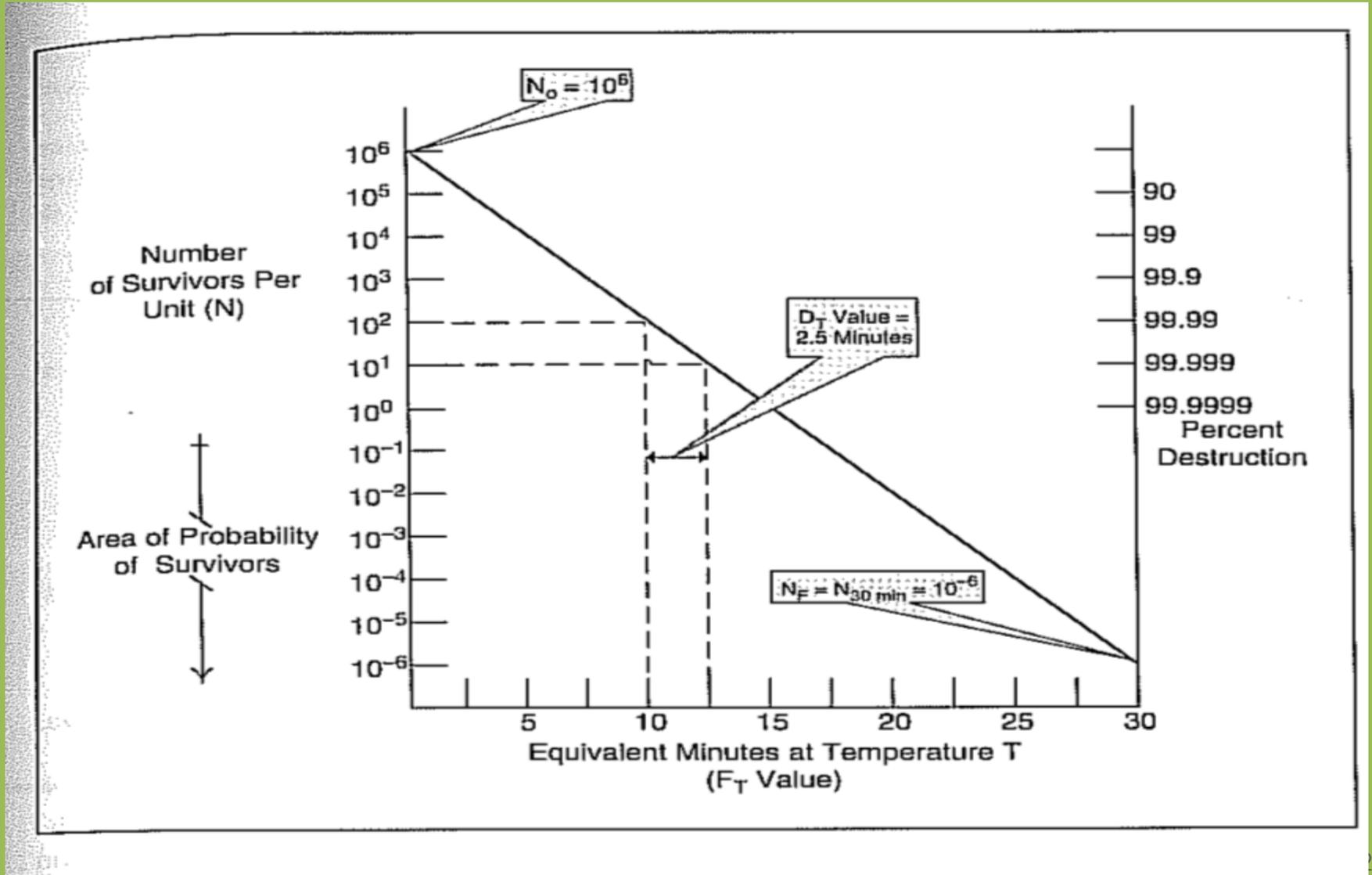
Valores F , D , y Z .

Valor Z . Número de grados de cambio de temperatura necesarios para cambiar el valor D por un factor de 10.

El uso de F , D y Z permite comparar la eficacia de los ciclos de esterilización usando un modelo matemático facilitando la adecuación de los mismos.

Estos valores se localizan en el certificado que debe acompañar la compra de bioindicadores.

Consideraciones/ Calor húmedo



Consideraciones/ Calor húmedo

Valor D y z de algunos agentes patógenos de origen alimentario

μoo	Sustrato	Valor D($^{\circ}$ C) en min	Valor z($^{\circ}$ C)
<i>C botulinum</i>	SRF	$D_{121} = 0.204$	10
<i>C perfringens</i> (cepa termorresistente)	Medio de cultivo	$D_{90} = 3-5$	6 - 8
<i>Salmonella</i>	Pollo a la King	$D_{60} = 0.39-0.40$	4.9-5.1
<i>S aureus</i>	Pollo a la King Pavo relleno NaCl 0.5%	$D_{121} = 5.17- 5.37$ $D_{60} = 15.4$ $D_{60} = 2.0-2.5$	5.2-5.8 6.8 5.6

Bryan 1979. CDCP Atlanta

Validación: Esterilización

En Ciclos o Procesos de esterilización para:

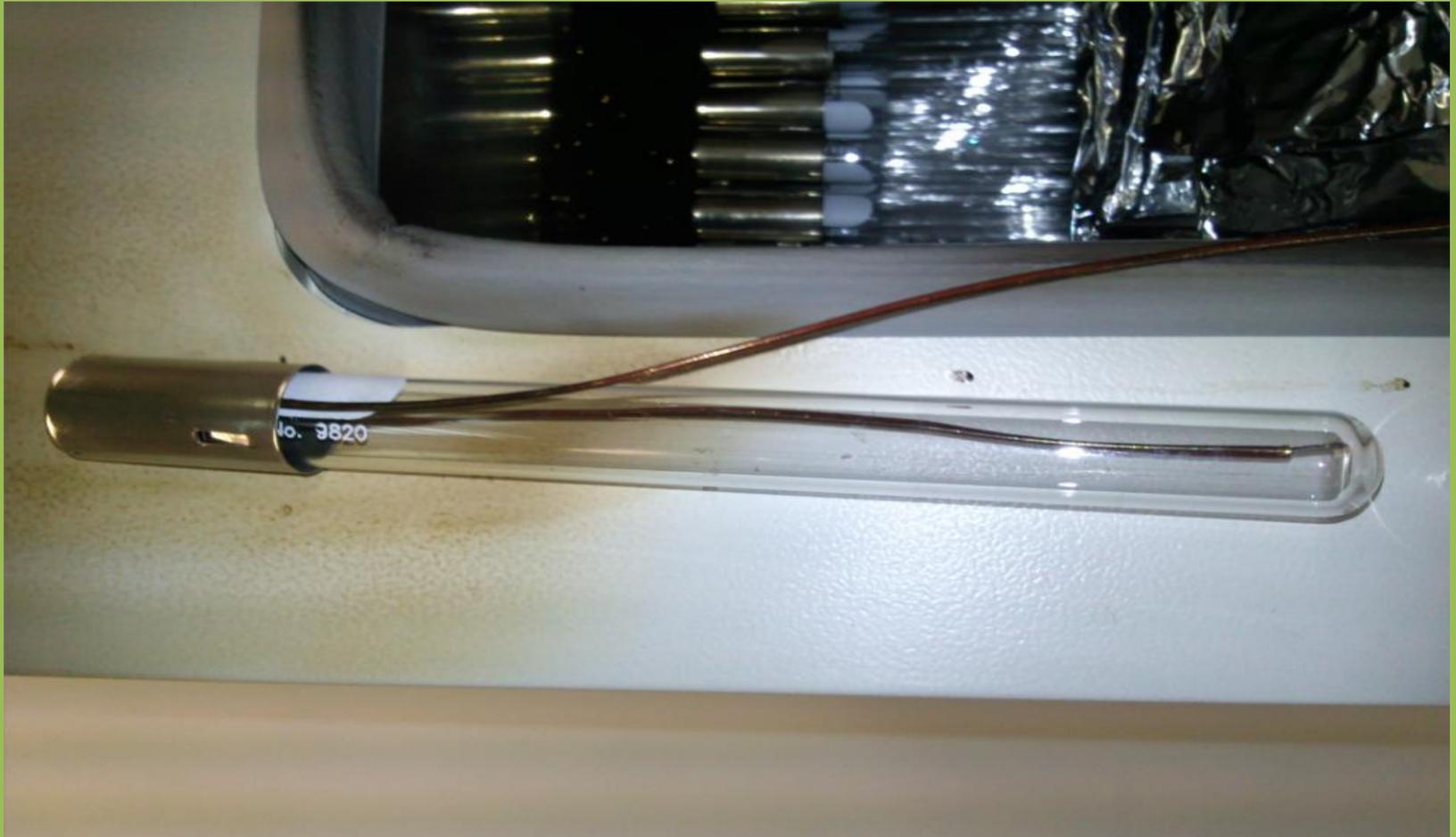
- Calificar,
- Validar
- Verificar

Periódicamente los ciclos

Calificar:

- Equipo
- Instalaciones
- Desempeño del equipo
- Proceso, entre otros

Uso de termopares



Identificar puntos fríos



Calificar equipo, proceso...



Bibliografía

- NORMA Oficial Mexicana. NOM-059-SSA1-2013, Buenas prácticas de fabricación de medicamentos.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, J. 2006. Brock. Microbiología de los Microorganismos. 10^a Ed. Pearson. Addison Wesley. España.
- Prescott, L. M., Harley, J. P., y Klein, D. A. 2004. Microbiología. 5^a Ed. McGraw-Hill Interamericana. España.
- Ramírez R. M.M., Validación de procesos de esterilización en autoclaves de vapor en la industria farmacéutica. Tesis. 2014. Toluca, México.

Bibliografía

- Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 11ª Ed. SSA. 2014. México.
- <http://www.microinmuno.qb.fcen.uba.ar/Seminarioesterilizacion.htm>
- <http://www.monografias.com/trabajos74/resena-historica-uso-desinfectantes/resena-historica-uso-desinfectantes.shtml>
- <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2012/fan731d/doc/fan731d.pdf>
- https://www.google.com.mx/search?q=esterilizadores&biw=1280&bih=663&source=Inms&tbm=isch&sa=X&ved=0CAYQ_AUoAWoVChMIpej1nl2lyAIVCJyACh1E8gNI#imgrc=13MrfP6pntSdcM%3A
- https://www.google.com.mx/search?q=esterilizadores&biw=1280&bih=663&source=Inms&tbm=isch&sa=X&ved=0CAYQ_AUoAWoVChMIpej1nl2lyAIVCJyACh1E8gNI#tbm=isch&q=esterilizacion&imgdii=PHz8kw1IRcOJSM%3A%3BPHz8kw1IRcOJSM%3A%3B14d1PCPwmQQZTM%3A&imgrc=PHz8kw1IRcOJSM%3A