

ESTERILIZACION Y DESINFECCION

*no aprendes lo que te enseñan
sino lo que quieres aprender, pero...*

RAFAEL VIGNOLI

INTRODUCCION

Los procesos de esterilización y/o desinfección son diariamente llevados a cabo, no solamente en el laboratorio, donde son fundamentales para evitar la contaminación de medios, cultivos, placas etc., sino también en otros ámbitos tales como los hospitales, donde fallas en estos procedimientos aumentan la morbimortalidad de los pacientes.

Pensemos lo que sucede en los quirófanos donde se deben desinfectar pisos, paredes y techos, esterilizar instrumental quirúrgico e indumentaria del personal, y descontaminar el aire del ambiente.

O en contraposición, lo que sucedería si materiales como catéteres, agujas, jeringas, empleados en maniobras médicas diarias (extracción de sangre, vías venosas, punciones lumbares, toracocentesis, etc.) fueran utilizados aunque fueran con niveles mínimos de contaminación.

Un ejemplo cotidiano donde debe prevalecer el mismo concepto de esterilidad es en la utilización de agujas para la realización de tatuajes (¿conoce alguna enfermedad infecciosa que pueda transmitirse de esta forma?).

El estudiante de medicina en este momento, debe rápidamente familiarizarse e interiorizarse con ciertos procesos de desinfección y antisepsia como, por Ej.: la cutánea, previa a la administración de un inyectable o durante la cura de una herida, la desinfección de un termómetro clínico o el **lavado de manos**.

Parece **imprescindible** entonces, que el estudiante que se apresta a ingresar a la clínica en breve y que en este momento ya está en contacto con distintas poblaciones bacterianas, debe saber manejar en forma **fluida** la información que le permita discernir cuándo es necesario **desinfectar** o **esterilizar**, y llevar a cabo el proceso correspondiente en forma satisfactoria con el **conocimiento** de los **fundamentos** de lo realizado.

Comencemos por definir algunos términos que utilizaremos:

ESTERILIZACION: es el proceso mediante el cual se alcanza la muerte de todas las formas de vida microbianas, incluyendo bacterias y sus formas esporuladas altamente resistentes, hongos y sus esporos, y virus. Se entiende por muerte, la pérdida irreversible de la capacidad reproductiva del microorganismo. (¿deberían estar incluidos dentro de esta definición la eliminación de estructuras como los priones?)

Se trata de un término absoluto, donde un objeto está estéril o no lo está, sin rangos intermedios.

DESINFECCION: en este proceso se eliminan los agentes patógenos reconocidos, pero no necesariamente todas las formas de vida microbianas.

Es un término relativo, donde existen diversos niveles de desinfección, desde una esterilización química, a una mínima reducción del número de microorganismos contaminantes. Estos procedimientos se aplican únicamente a objetos inanimados.

ANTISEPSIA: es el proceso que por su baja toxicidad, se utiliza para la destrucción de microorganismos presentes sobre la superficie cutáneo-mucosa. Este término tampoco implica la destrucción de todas las formas de vida.

Existen agentes como los alcoholes que son antisépticos y desinfectantes a la vez.

Dado que el tema que se está abordando es: métodos para controlar o destruir distintas poblaciones bacterianas; es necesario saber previamente la cinética de dicha destrucción, es decir de que modo muere una

población, y que parámetros inciden sobre este efecto.

CINETICA DE DESTRUCCION DE LAS POBLACIONES BACTERIANAS

Cuando una población bacteriana es expuesta a un agente letal físico o químico, se produce una **progresiva** reducción del número de sobrevivientes, de modo que la curva que representa el número de sobrevivientes en función del tiempo, tiene forma exponencial decreciente (Fig. 1A).

Si graficamos la curva en una escala semilogarítmica, obtenemos una recta como la de la Fig. 1B. En la misma, la pendiente (negativa) representa la velocidad de muerte de la población. Resulta claro que cuanto mayor sea el valor absoluto de la pendiente, los microorganismos morirán más rápido.

Este comportamiento debe tenerse presente siempre, más aún en las técnicas de esterilización, donde el tiempo de exposición al agente es fundamental para alcanzar el objetivo buscado.

El efecto letal de un agente (por Ej.: el fenol) cambia en relación a las distintas cepas, incluso dentro de una misma especie bacteriana.

Existen además un conjunto de condiciones fundamentalmente ambientales que afectan la cinética de destrucción.

Dentro de estos se encuentran:

- 1) concentración del agente**
- 2) tiempo de exposición**
- 3) pH del medio**
- 4) temperatura**
- 5) presencia de materiales extraños**
- 6) resistencia propia del microorganismo**
- 7) número inicial de la población**

1. Concentración del agente:

Si bien este aspecto varía según el desinfectante y el microorganismo, existe una relación inversamente proporcional entre concentración y tiempo de exposición. A mayores concentraciones de desinfectante, menor es el tiempo de exposición para conseguir el mismo efecto. También se modifica la cinética de muerte, como lo muestra el cambio de forma en la curva de sobrevivientes-tiempo, que se transforma muchas veces de exponencial a altas concentraciones (Fig. 1A) en sigmoide para concentraciones intermedias (Fig. 2).

En estos casos existe un tiempo inicial de muerte muy lento que luego se acelera para volver a decaer al final.

Este factor es tan crítico, que se sabe que concentraciones mínimas de casi cualquier desinfectante no solo no elimina los microorganismos sino que permiten su desarrollo.

2. Tiempo de exposición:

Dada una concentración de desinfectante, existe un tiempo mínimo de acción que hay que respetar para conseguir el efecto buscado. Para dar una idea gráfica de esto, en la Fig. 3 se representa el porcentaje de reducción de la flora bacteriana residente en piel de brazos y manos en función del tiempo, para diferentes antisépticos de uso más o menos común.

3. Ph:

Entre otras cosas determina el grado de ionización del agente, siendo en general la forma no disociada la que atraviesa mejor las paredes del microorganismo.

4. Temperatura:

El aumento de la temperatura aumenta el poder bactericida del agente, siempre que no lo desnaturalice. Así para temperaturas bajas, por lo general, por cada 10°C de incremento de esta, la tasa de mortalidad se duplica.

5. Presencia de materiales extraños:

La presencia de materia orgánica, por ej. mucus, pus, sangre, heces, etc. influyen negativamente en la actividad de muchos desinfectantes, incluso llegando a inactivarlos.

Por lo general forman cubiertas que impiden el contacto microorganismo-desinfectante, o se combinan con el agente formando compuestos inertes o menos activos, etc. Por esto es esencial un buen lavado de la superficie, antes de intentar un proceso de desinfección o esterilización.

Además el lavado y arrastre también disminuye la población de microorganismos sobre la cual actúa el agente contribuyendo a una más rápida destrucción

6. Resistencia innata de los microorganismos:

La eficacia de cada agente depende también de las propiedades características de cada microorganismo contra el cual se lo está aplicando.

Así el tipo de pared, la presencia de esporos, la fase de desarrollo, etc., modifican la resistencia.

Dentro de las formas vegetativas, es el género **Micobacterium** el más resistente. Luego dentro de los Gram (+) se destacan **Staphylococcus** y **Enterococcus**. Dentro de los Gram(-) **Pseudomona**, **Klebsiella**, **Enterobacter**, y **Serratia** son los más resistentes.

Son estos microorganismos (cocos Gram (+) y bacilos Gram (-), los más frecuentes causantes de epidemias intrahospitalarias debido en primer lugar a no practicar el lavado de manos tantas veces como sea necesario y en segundo lugar (por lejos) a la mala utilización de desinfectantes y antisépticos.

7) número inicial de la población

Finalmente el número de la población bacteriana inicial es importante, porque a mayor número de microorganismos, mayor deberá ser la concentración del agente y su tiempo de exposición al mismo.

En este punto al igual que en la remoción de materiales extraños, toma fundamental relevancia el lavado de manos, donde por arrastre se consigue una disminución importante de la flora normal transitoria, mejorando así las condiciones de utilización del agente a utilizar.

A continuación iremos viendo progresivamente, el lavado de manos, y la utilización de antisépticos, desinfectantes, hasta llegar finalmente a la esterilización, primero química y luego química y física.

LAS "CRUZADAS" BACTERIANAS

Como se recordará, las bacterias tienen un "aparato locomotor" constituido fundamentalmente por flagelos, que les permiten movilizarse en medios líquidos pero no a través de superficies sólidas o vías aéreas.

Por lo tanto para que estos microorganismos "ávidos de colonización y conquista" puedan trasladarse de un lugar (o una persona) a otro(a) necesitan de un vehículo, de un transportador, de un "vector mecánico". Algunas veces (pero no la mayoría) las gotitas de pflugge cumplen con este cometido.

Sin embargo, a nivel mundial los hospitales universitarios presentan un índice de morbi-mortalidad superior (sobre todo causado por infecciones intrahospitalarias) que los hospitales no universitarios (ver Capítulo Infecciones Intrahospitalarias).

Cuando los estudiantes arriban al hospital, ya sea durante el pasaje por las clínicas, o las guardias; su afección por tocar, palpar y tactar, unido en ocasiones a la mala distribución de las canillas o lo inapropiado de los jabones y en el peor de los casos a la falta de ejemplo del médico responsable del servicio, se les ofrece a los microorganismos uno de los más efectivos y trágicos "vectores": **nuestras manos**.

De esta forma estos microconquistadores de mil batallas (que muchas veces han adquirido resistencia tanto a desinfectantes como a antibióticos), pueden llegar por intermedio del estudiante, a otros pacientes, que en general presentan distinto grado de inmunocompromiso y nivel más alto de exposición.

Esto provoca que muchas infecciones oportunistas (por Ej.: las causadas por **P.aeruginosa**) den origen a verdaderas epidemias a nivel intrahospitalario.

Existe una medida **sencilla, rápida y barata** para evitar esta diseminación de microorganismos:

EL LAVADO DE MANOS. Para fundamentar la efectividad de tan simple medida, recordaremos algunos conceptos de flora normal.

Existen dos tipos de flora: la flora residente, compuesta por microorganismos adaptados a cada nicho ecológico en particular, capaz de unirse a los receptores cutáneo-mucosos de la zona, instalarse y multiplicarse en los mismos, permaneciendo allí por largo tiempo y desarrollando una relación de comensalismo o mutualismo con el huésped. No es sobre esta que actúa fundamentalmente el lavado de manos rutinario, ni es la gran responsable de colonizaciones cruzadas dentro del hospital.

La flora transitoria, incluye microorganismos que llegan adheridos a desechos orgánicos, que se depositan sobre la superficie cutáneo-mucosa pero no están necesariamente adaptados a las condiciones ambientales zonales, no se unen a los receptores, ni son capaces de sobrevivir en el lugar en forma prolongada.

Estos son los principales causantes de dichas infecciones intrahospitalarias y el blanco fundamental del lavado de manos, que por el arrastre del agua y la acción del jabón reduce eficientemente esta flora.

Pero no todos los procedimientos requieren las mismas exigencias con respecto a las técnicas de lavado.

Así para un contacto rutinario como tomar la presión, auscultar, etc. basta con un lavado vigoroso durante 10" con agua y jabón. En otros casos deberá agregarse el uso

de algún antiséptico, como ser:

1. antes de realizar procedimientos invasivos (aunque se utilicen guantes estériles);
2. antes y después del contacto con heridas quirúrgicas o traumáticas;
3. antes del contacto con pacientes especialmente susceptibles (por Ej.: inmunodeprimidos y recién nacidos);
4. luego de entrar en contacto con una fuente contaminada, como puede ser un paciente infectado o sus secreciones;
5. antes y después del contacto con un paciente de CTI;
6. antes de cualquier procedimiento quirúrgico.

TECNICA DEL LAVADO DE MANOS

1. Remoción de alhajas (anillos, pulseras, etc.).
2. Lavado vigoroso con agua y jabón durante 10" y enjuagado con agua corriente. Para un contacto rutinario basta con estos dos pasos. Tras secarse con papel, se cierra la canilla con el mismo.

Para un procedimiento invasivo-quirúrgico, se agrega además:

3. Cepillado de uñas (reservorio importante de microorganismos).
4. Cepillado de piel de manos y antebrazos (se remueve así la flora transitoria y parte de la residente).

CLASIFICACION DE LOS DESINFECTANTES

Para este ordenamiento no nos basaremos en su composición química sino en dos criterios diferentes:

1. el rango de actividad y efectividad sobre los microorganismos (**nivel de desinfectante**);
2. según su mecanismo de acción.

Trataremos de jerarquizar el primer punto, ya que en la práctica es el criterio fundamental para escoger un desinfectante.

5. Enjuague abundante con agua corriente (tener precaución con los restos de jabón, que de quedar pueden inactivar los antisépticos).
6. Aplicación de un antiséptico (los más utilizados son: alcohol al 70%, iodóforos, alcohol iodado al 0.5% y Clorohexidina al 4%)

Corresponde ahora ingresar en el estudio de las propiedades de los antisépticos y desinfectantes mas comúnmente utilizados.

AGENTES ANTIMICROBIANOS QUIMICOS (DESINFECTANTES Y ANTISEPTICOS)

INTRODUCCION: los desinfectantes (que los separamos de los antisépticos por no utilizarse en piel y mucosas), también se diferencian de los ATBs.

Antibióticos	Desinfectantes y Antisépticos
1) Pueden aplicarse sobre piel, mucosa y el medio interno	1) No pueden utilizarse en el medio interno y los desinfectantes ni siquiera sobre piel o mucosas
2) Tienden a ser selectivos para las células procariotas no actuando sobre eucariotas	2) No poseen selectividad, actuando sobre células procariotas y eucariotas, razón por la cual no pueden usarse sobre el medio interno.
3) Actúan sobre microorganismos en multiplicación activa ya que interfieren con algún paso metabólico.	3) Actúan sobre microorganismos en cualquier estadio metabólico (en multiplicación o no).
4) Se necesitan pequeñas cantidades para obtener el efecto deseado.	4) Se necesitan mayores concentraciones que los ATBs para conseguir el efecto.
5) Actúan específicamente sobre bacterias y no sobre hongos virus u otros microorganismos	5) Son tóxicos para muchos tipos e micro- organismos, por ej.: hongos, virus, etc.

1. NIVEL DE LOS DESINFECTANTES:

Estos son clasificados en tres niveles (alto, mediano y bajo), según la intensidad de su actividad sobre bacterias y esporos, virus (lipídicos y no lipídicos), hongos y sus esporos, etc.

A. Desinfectantes de alto nivel:

Se caracterizan por actuar inclusive sobre los esporos bacterianos (forma más resistentes dentro de los microorganismos), produciendo una esterilización química si el tiempo de acción es el adecuado.

Se utilizan sobre instrumentos médicos o quirúrgicos termosensibles.

Son rápidamente efectivos sobre bacterias no esporuladas. Por lo general el número de esporos en el material a desinfectar es insignificante, por lo que la esterilización es rápida.

Dentro de este grupo se encuentran:

- I. Oxido de Etileno
- II. Formaldehído al 8% en alcohol 70%
- III. Glutaraldehído al 2%
- IV. Peróxido de Hidrógeno

Todos estos son desinfectantes estrictos, no pudiéndose usar como antisépticos.

B. Desinfectantes de mediano nivel:

Si bien no destruyen esporos, si lo hacen con gérmenes tipo: **M.tuberculosis**, hongos y virus no lipídicos.

Algunos agentes son:

- I. Compuestos clorados (por ej.: hipoclorito de sodio)
- II. Compuestos iodados (iodóforos y alcohol iodado)
- III. Compuestos fenólicos
- IV. Alcoholes
- V. Clorohexidina

La mayoría de estos son utilizados como desinfectantes y antisépticos.

C. Desinfectantes de bajo nivel:

Son aquellos que actuando durante un tiempo razonable, no destruyen esporos, ni **Micobacterium**, ni virus no lipídicos por Ej.:

- I. Compuestos de Amonio cuaternario
- II. Compuestos mercuriales

En la práctica estos compuestos se utilizan para la limpieza doméstica mientras que están prácticamente en desuso en los hospitales y laboratorios debido al empleo de tácticas más agresivas para la desinfección.

La selección del agente o el procedimiento a utilizar depende en gran parte de las características del objeto, y de la probabilidad que tiene éste de producir una infección si es utilizado estando contaminado.

Se clasifican así en elementos **crítico**, **semicrítico** y **no crítico**.

El nivel y tipo de desinfección que deberá lograrse, va a depender de la categoría a la que pertenezca el objeto, su naturaleza y su forma de uso.

Elementos CRITICOS:

Son los que se introducen directamente en el cuerpo, la sangre, o cualquier área del organismo que suele ser estéril; por Ej.: catéteres, agujas hipodérmicas, equipos de hemodiálisis, etc.

Evidentemente existe un altísimo riesgo de producir una infección si estos objetos se encuentran contaminados en el momento de su uso.

El tratamiento para estos elementos deberá ser esterilización, en lo posible por métodos térmicos, radiaciones, o de lo contrario con un desinfectante de alto nivel, por Ej.: óxido de etileno, glutaraldehído, ácido peracético, etc., como sucede con los materiales descartables.

Elementos SEMI CRITICOS:

Están en contacto con las mucosas intactas (que normalmente están colonizadas por la flora normal) pero no la atraviesan. Encontramos en este grupo: termómetros (de uso rectal y oral), fibroscopios, tubos endotraqueales, broncoscopios, etc.

También la esterilización es lo más aconsejable, pero se acepta una desinfección con agentes de alto o mediano nivel, siempre posterior a un cuidadoso lavado con agua y detergente.

Elementos NO CRITICOS:

Se encuentran en contacto con la piel sana pero no con las mucosas. En condiciones normales poseen poca posibilidad de producir infecciones. Sin embargo, pueden funcionar como "vectores mecánicos" que transfieren gérmenes de un paciente a otro, lo que favorece la aparición de infecciones cruzadas, mas graves en el caso de pacientes inmunodeprimidos.

Estetoscopios, máscaras faciales y humidificadores, entre otros, son los objetos que se agrupan aquí.

Se considera suficiente el lavado con agua y detergente, seguido de la aplicación de un desinfectante de mediano nivel.

Teniendo ya una visión global de los agentes químicos, podemos comenzar a describirlos, asociados a su:

2. MECANISMO DE ACCION:

La mayoría de los desinfectantes se los agrupa en tres categorías:

- A. los que lesionan la membrana celular;**
- B. los inactivadores irreversibles de proteínas;**
- C. los que lesionan los ácidos nucleicos.**

No obstante, algunos desinfectantes comparten más de uno de estos mecanismos.

PRINCIPALES AGENTES QUIMICOS

DESINFECTANTES DE ALTO NIVEL:

Por su mecanismo de acción, todos los que veremos aquí actúan modificando en forma irreversible grupos funcionales de proteínas y/o ácidos nucleicos. Entre otros efectos, esto provoca inhibición enzimática, lo que lleva a la muerte celular. Los agentes que predominan en este grupo son los Alquilantes (**Oxido de etileno, formaldehído, glutaraldehído**).

Estos producen la alquilación de proteínas que contengan hidrógenos lábiles, los que se encuentran en los grupos: carboxilo, hidroxilo, sulfhidrilo, amino y fenol de dichas proteínas)

OXIDO DE ETILENO (ETO GAS):

Este gas actúa además de lo dicho, a nivel de los ácidos nucleicos, produciendo mutaciones tanto en bacterias como en tejidos humanos.

Se utiliza ampliamente para la esterilización de instrumentos termolábiles como ser: tubuladuras de polietileno (catéteres, sondas), equipos electrónicos medico-quirúrgicos, materiales biológicos, drogas, etc.

El equipo de esterilización, si bien es similar al autoclave que funciona por gravedad, es más complejo y de manejo dificultoso. Es necesario controlar ciertos parámetros para asegurar un buen resultado. Estos son:

- a.** Composición del gas: se debe usar mezclas con freón o CO₂ (12% óxido de etileno-88% freón o CO₂) ya que puro es altamente inflamable.
- b.** Grado de humedad (entre 40 y 80%).
- c.** Temperatura (de 52 a 58°C).
- d.** Tiempo de exposición (entre 3 y 6 hs).

Cada ciclo de esterilización debe ser sometido a controles biológicos con esporos de B.subtilis.

PRINCIPALES DESVENTAJAS: Es altamente tóxico, mutagénico y carcinogénico para los tejidos; irrita los ojos y las mucosas.

Por lo tanto, una vez finalizado el ciclo de esterilización, el gas debe evacuarse del equipo y eliminar por arrastre

con aire filtrado los residuos que puedan haber quedado.

GLUTARALDEHIDO:

Se utiliza a temperatura ambiente en solución al 2%.

Es esporicida para tiempos de acción de 6 a 10 hs.

Es el desinfectante más utilizado en la esterilización de equipos de endoscopia y de tratamiento respiratorio ya que no corroe metales y gomas, ni deteriora lentes.

DESVENTAJAS: Es tóxico para piel, mucosas y ojos; también desprende vapores tóxicos para el aparato respiratorio.

FORMALDEHIDO (FORMOL):

Se utiliza en forma gaseosa o líquida. En su estado gaseoso se usa para desinfectar ambientes, muebles y artículos termolábiles. En estado líquido (**formalina**), se obtiene comercialmente en solución al 37%, y se utiliza para conservar tejidos frescos y, para inactivar virus en la preparación de vacunas, ya que interfiere poco en la actividad antigénica microbiana.

DESVENTAJAS: produce vapores altamente irritantes, tóxicos y carcinogénicos, además de tener escaso poder de penetración.

Por todo esto no se utiliza en el laboratorio como un desinfectante común.

Utilizado en concentraciones elevadas (37%) tiene acción esporicida; para la preparación de vacunas se utiliza formalina al 0.2 o 0.4%.

Además de los agentes alquilantes, dentro de este grupo se encuentra el **peróxido de hidrógeno**, que es un agente oxidante.

PEROXIDO DE HIDROGENO:

Además de su mecanismo de acción como agente oxidante (ver más adelante) este compuesto produce la formación de radicales libres hidroxilos, que contribuyen a desestabilizar las moléculas celulares.

Utilizado en solución al 3% es de escasa y breve actividad como antiséptico, ya que es rápidamente inactivado por las enzimas catalasa, tanto de los microorganismos como las tisulares.

En soluciones estabilizadas al 10% actúa como desinfectante de alto nivel. Se utiliza sobre dispositivos

medico-quirúrgicos, lentes de contacto de plástico blando, etc.

Otra forma de utilización es en combinación con ácido peracético para esterilizar maquinarias (por Ej.: equipos de pasteurización).

El peróxido de hidrógeno en solución al 30% y luego vaporizado, se utiliza para esterilizar superficies (por Ej.: cabinas de seguridad)

DESINFECTANTES DE MEDIANO NIVEL:

Se destacan los que actúan a nivel de proteínas y ácidos nucleicos (agentes oxidantes) y los que actúan a nivel de la membrana citoplásmica; dentro de estos se encuentran compuestos fenólicos y los alcoholes.

AGENTES OXIDANTES:

Mecanismo de acción: oxidan los grupos sulfhidrilos (SH) a disulfuro (SS), lo que inactiva las enzimas que los poseen. Ya hablamos del peróxido de hidrógeno, aquí hablaremos de los **halógenos**.

HALOGENOS:

Dentro de estos elementos se encuentran el yodo y el cloro.

COMPUESTOS CLORADOS:

Son los desinfectantes de mediano nivel más económicos, efectivos e inocuos para el hombre.

Pueden presentarse como cloro puro, combinado con una sulfonamida (Cloramida T) o en sus formas más utilizadas: Hipoclorito de sodio (en solución acuosa) o de calcio (en tabletas).

El principio activo de todos es el mismo: la liberación de cloro molecular, que en presencia de agua se combina con esta para formar ácido hipocloroso, el cual es un fuerte agente oxidante a pH neutro o ácido.



Si bien es de mediano nivel, el hipoclorito tiene una débil acción esporicida. Además es tuberculicida, bactericida para todas las formas vegetativas, destruye los virus envueltos (por Ej.: **HIV**) e incluso algunos desnudos (**HBV**).

La estabilidad de estos productos depende entre otras cosas de:

1. el pH: si bien actúa mejor a pH neutro o ácido,

es más estable a Ph 8;

2. la presencia de materia orgánica: es uno de los desinfectantes de mediano nivel que se inactiva más drásticamente ante la presencia de sustancias como pus, sangre, heces, etc.
3. la exposición a la luz. Las diluciones acuosas se degradan más rápidamente que las soluciones concentradas. Por lo tanto, para conservar productos clorados, es necesario mantenerlos en recipientes opacos, sin materia orgánica, lo más puro posible y a pH 8.

Aun con todas estas precauciones, los productos así preparados deben renovarse al menos una vez al mes.

La concentración de cloro activo se mide en partes por millón (PPM) o gramos por litro (gr/l) de modo que 1000 PPM=1 gr/l o lo que es lo mismo **1PPM = 1 mg/l**.

Las formas comerciales más comunes tienen concentraciones de 40.000 PPM (Agua jane, Sello rojo, etc.) o 5.000 PPM (Electrón).

Según la cantidad de cloro activo y el uso que le vamos a dar, es la dilución que debemos hacer, por Ej: desinfección de:

1.	Chatas, violines, o heridas muy sucias	5.000 PPM
2.	Bocales c/pipetas contaminadas	2.500 PPM
3.	Mamaderas o heridas en general	1.000 PPM
4.	Frutas, verduras, vajilla, ropa blanca	250 PPM
5.	Potabilización del agua	2 PPM

Para hacer la dilución de una solución concentrada de hipoclorito de sodio utilizamos la ecuación $V1 * C1 = V2 * C2$

Ej: se necesita preparar 1 lt. de solución de hipoclorito de sodio que contenga 2.500 PPM de cloro activo para preparar un bocal.

$$\begin{aligned}C1 &= 50.000 \text{ PPM} \\V1 &= x \\C2 &= 2.500 \text{ PPM} \\V2 &= 1.000 \text{ ml}\end{aligned}$$

Entonces tenemos: $40.000 \text{ PPM} * V1 = 2.500 \text{ PPM} * 1.000 \text{ PPM}$
despejando $V1 = 2.500 \text{ PPM} * 1.000 \text{ ml} / 40.000 = 62,5 \text{ ml}$ Se deben tomar 50 ml de solución concentrada y agregarle agua hasta completar 1 lt.

Algunas equivalencias útiles son:

1 cucharada de sopa = 25 ml

1 cucharadita de te = 5 ml

1 gota = 0.05 ml

Precauciones

- a) las diluciones en agua tibia actúan más rápida e intensamente que en agua fría, pero se degradan pronto.
- b) no es recomendable combinar estas soluciones con detergentes, los cuales pueden inactivarlas (sobre todo los catiónicos). No obstante, es aconsejable limpiar previamente con un detergente las superficies a desinfectar, para eliminar restos orgánicos.

COMPUESTOS DE IODO:

En medicina se los utiliza en soluciones, tinturas o iodóforos, como desinfectantes pero sobre todo como antisépticos.

Usos: preparación pre operatoria, antisepsia quirúrgica de manos, así como también de piel previo a: inyecciones, parto, transfusiones, extracción de sangre, etc. Como desinfectante se utiliza sobre termómetros clínicos, ampollas de dosis múltiples, sobre superficies, etc.

Tanto las tinturas (2% de iodo + 2.4% de yoduro de sodio en solución acuosa y alcohol) como las soluciones fuertes (5% de iodo + 10% de yoduro de potasio en solución alcohólica) son inestables en presencia de materia orgánica y calor, manchan la ropa, tiñen piel y mucosas, desencadenan reacciones alérgicas y tienen mal olor; además su uso prolongado corroe metales y altera plásticos.

Por todo esto se prefiere la utilización de **iodóforos** que son menos tóxicos e irritantes.

Iodóforos:

Esta forma de desinfectantes está constituida funcionalmente por tres componentes: un transportador o portador de iodo, el iodo disponible y el iodo libre.

Transportador (carrier): es un solubilizante que actúa como reservorio de iodo. Generalmente se utilizan para esto detergentes, de modo de limpiar la piel a la vez de liberar el halógeno. También se utilizan otro tipo de agentes activos de superficie, como compuestos de amonio cuaternarios, polyvinylpyrrolidona (povidona), etc.

Iodo disponible: es el iodo en solución, generalmente al 1%. Con-forma el reservorio de complejos de iodo, el que liberado en pe-queñas cantidades asegura una concentración constante de iodo li-bre.

No es el iodo que actúa en la destrucción de los microorganismos.

Iodo libre: es el activo, el de acción microbici-da, se cuantifica en PPM y es el que le da el nivel de potencia a este desinfectan-tante. Así los iodoforos son capaces de destruir bacterias (in-cluida **M.tuberculosis**), hongos y virus desnudos, no así los no lipídicos (por Ej: Polio y Rotavirus).

Si bien tienen cierta actividad esporici-da, el tiempo de exposi-ción debe ser demasiado largo para darle esta utilidad.

Ventajas: (sobre otros compuestos iodados) mayor poder de penetra-ción, mayor tiempo de acción, menor producción de reacciones ad-versas debido a la baja concentración de iodo disponible (1%).

Precauciones: dado que el iodo libre es muy difícil de medir, cuando sea necesario preparar un iodóforo a partir de un compuesto concentrado, se deberá seguir las instrucciones del fabricante es-strictamente, ya que si producimos diluciones mayores o menores a las estipuladas, estaremos disminuyendo la cantidad de iodo libre.

Alcohol iodado (iodo 0.5% en alcohol etílico al 70%); posee un buen nivel antiséptico, se utiliza para preparación quirúrgica de piel, sitios de punción, desinfección de superficies.

Reduce efectivamente la flora cutánea en un minuto.

AGENTES QUE LESIONAN LA MEMBRANA CITOPLASMICA:

Hablaremos aquí de los compuestos fenólicos y los alcoholes, que se integran a los desinfectantes de mediano nivel.

Mecanismo de acción: a nivel general, estos compuestos producen un desordenamiento estructural de la membrana citoplásmica, que in-terfiere con su funcionamiento normal.

Esto provoca la pérdida de pequeños metabolitos del medio intrace-lular y dificulta tanto el transporte activo como el metabolismo energético.

COMPUESTOS FENOLICOS:

Agregan a la acción ya descrita, la activación en forma irreversi-ble de las oxidasas y deshidrogenasas que se encuentran unidas a la membrana.

El fenol (ácido carbólico) como tal, ya no es utilizado más que como patrón para comparar otros desinfectantes. Esto es debido a su alta toxicidad, carcinogenicidad y su poder corrosivo.

La sustitución de uno de los hidrógenos del núcleo fenólico por grupos funcionales tales como alquilo, difenilo, fenil y cloro, disminuye notablemente los efectos adversos y aumenta la actividad antibacteriana de estos compuestos.

La unión de estos fenoles modificados a jabones aumentan aún más su acción, a la vez que los hidrosolubilizan.

Dentro de las sustituciones más utilizadas se encuentran los al-quilo fenoles (**cresoles**) y los compuestos difenlicos (**hexacloro-fenol**).

Los compuestos fenólicos utilizados en las concentraciones adecua-das y con el tiempo suficiente son: bactericidas, virucidas y fun-gicidas; por Ej: el HIV es inactivado por una solución fenólica al 0.5%, mientras que se necesita una solución al 2% para inactivar hongos. Por lo general la concentración utilizada oscila entre 2 y 5%.

CRESOLES:

Se los divide en tres grupos: orto meta y paracresol, aunque suele utilizarse una mezcla de los tres denominada tricresol.

Derivados de la destilación del alquitrán de hulla son mezclados con jabón y se comercializan por Ej.: como Creolina.

Esta se utiliza para desinfección ambiental por Ej.: paredes, pi-sos, etc.

HEXACLOROFENOL:

Es un derivado halogenado con gran acción bactericida, fundamen-talmente sobre bacterias Gram (+), sobre todo estrepto y estafilo-cocos.

Posee acción persistente, hasta el punto que su máxima acción bac-tericida se manifiesta luego de varios días de

uso consecutivo.

ALCOHOLES (ALCOHOL ETILICO):

Se utilizan como desinfectantes y como antiséptico.

Mecanismo de acción: producen precipitación y desnaturalización de proteínas, también lesionan la membrana citoplásmica. La precipitación y desnaturalización de proteínas depende de la presencia de: 1) agua y 2) materia orgánica.

1. El alcohol etílico rectificado (95%) provoca gran deshidratación en los microorganismos, de manera que impide su penetración en los mismos. Por lo tanto, las concentraciones más efectivas son las que oscilan entre el 60 y 80% en agua destilada, siendo la preparación más efectiva al 70%.
Concentraciones por debajo del 50% no causan ningún efecto.
2. La materia orgánica inactiva los alcoholes, por lo que se recomienda limpiar la superficie antes de desinfectar con alcohol.

Las lesiones en la membrana citoplásmica se deben a que el alcohol penetra en la región hidrocarbonada, desorganizando la estructura lipídica.

El alcohol 70% es rápidamente bactericida sobre las formas vegetativas bacterianas tanto Gram (+) como Gram (-), es tuberculicida, fungicida y viricida, incluyendo a Citomegalovirus (CMV), HIV, y HBV. No actúa sobre esporos.

Principales características:

- a. No tiene buena penetración sobre materia orgánica.
- b. No esteriliza desinfecta.
- c. Se utiliza fundamentalmente para desinfectar materiales semi críticos y no críticos (por Ej: termómetros clínicos, pinzas, limpieza de mesadas, etc.) y antisepsia de piel.

A nivel de piel se utiliza para antisepsia de manos, previo a inyecciones, punciones venosas, etc.

Los alcoholes se evaporan rápidamente, sin dejar residuos sobre las superficies tratadas. Esto es ventajoso cuando se aplica sobre la piel ya que no mancha ni deja mal olor, pero es inconveniente cuando se aplica a objetos inanimados, ya que no se consiguen largos períodos de contacto entre el desinfectante y el objeto.

Para esto deben ponerse los objetos en inmersión en un recipiente tapado.

Para preparar las diluciones (por Ej.: de alcohol 70%) a partir de alcohol rectificado (95%), podemos utilizar la fórmula: $C1 \cdot V1 = C2 \cdot V2$ de igual manera que para el hipoclorito de sodio. Así para preparar 100 ml de alcohol 70% tenemos:

$$95\% \cdot V1 = 70\% \cdot 100\text{ml} \text{ despejando } V1 \text{ tenemos:}$$
$$V1 = 70\% \cdot 100\text{ml} / 95\% = 73.6\text{ml}$$

A esta cantidad se le agrega agua destilada hasta completar los 100ml.

CLOROHEXIDINA:

Se encuentra dentro de los antisépticos más utilizados a nivel hospitalario.

Se trata de un compuesto fuertemente básico, que en este estado es insoluble en agua y poco soluble en la mayoría de los solventes orgánicos. Para solubilizarla se preparan distintas sales (la más utilizada es el gluconato), donde se obtiene una concentración de clorohexidina de hasta el 20%.

Las preparaciones más utilizadas contienen entre un 0.5 y 4% de producto.

Su pH óptimo de acción se encuentra entre 5.5 y 7.

A pH 5 y 6 actúa fundamentalmente sobre Gram (-), mientras que a pH mayores actúa también sobre Gram (+).

Como el estudiante recordará, la flora normal de la piel está constituida fundamentalmente por microorganismos Gram (+), por lo tanto a pH neutro, la clorohexidina se transforma en un excelente antiséptico cutáneo.

Su espectro es bastante amplio, abarcando bacterias Gram (+) y Gram (-), hongos y levaduras, es bacteriostático (detienen el crecimiento pero no mata) para **M.tuberculosis**, más no tiene actividad sobre esporos.

Mecanismo de acción: Su acción se debería a su unión a grupos negativamente cargados de las moléculas celulares. Esto produciría precipitación de proteínas y ácidos nucleicos, inactivación enzimática y pérdida irreversible del contenido citoplásmico.

La clorohexidina no presenta absorción cutánea significativa, por lo que prácticamente no tiene efectos adversos por esta vía. Ocasionalmente produce sensibilización cutánea a nivel genital, las soluciones

concentradas pueden producir hematurias cuando son utilizadas para lavado vesical; también ototoxicidad y causar irritación de las conjuntivas y otros tejidos sensibles.

PRINCIPALES CARACTERISTICAS:

- a. Actúa en forma mas lenta que los alcoholes pero su efecto persiste más tiempo.
- b. Tiene efecto acumulativo.
- c. Buena acción sobre bacterias Gram (+), Gram (-) y virus.
- d. Baja toxicidad e irritabilidad.
- e. Sus diluciones mantienen mas que los iodóforos la actividad bactericida.
- f. Al 4% es ideal para el lavado quirúrgico de manos y preparación pre-quirúrgica de piel.

Esto último se debe a:

- a. actúa rápidamente, reduciendo la flora transitoria en un 99% en 15" y la residente en un 99.9% en 30" (se recomiendan lavados de 2';
- b. si bien tiene efecto inmediato con una sola aplicación, presenta efecto acumulativo con el uso regular. De manera que va aumentando su acción bactericida de un lavado de manos a otro;
- c. tiene acción persistente: tanto las manos del cirujano como la piel que circunda la cisura debe mantenerse libre de gérmenes durante la intervención.
El sobrecrecimiento de la flora normal en ambas partes es un hecho frecuente, por su gran afinidad por la piel (a la cual se adhiere) la clorohexidina evita esto, manteniendo por varias horas su acción.

Las preparaciones más utilizadas son:

- A. **Jabón quirúrgico:** constituido por gluconato de clorohexidina al 4% y se utiliza en: lavado quirúrgico de manos, preparación quirúrgica de piel, antisepsia general de piel, lavado y antisepsia de heridas, preparación de piel para procedimientos invasivos, etc.
- B. **Solución alcohólica:** constituida por gluconato de clorohexidina al 0.5% en alcohol etílico al 70%, se utiliza en: antisepsia general de piel, preparación de piel para procedimientos invasivos, etc.

DESINFECTANTES DE BAJO NIVEL: Se encuentran aquí los compuestos de amonio cuaternarios y los compuestos mercuriales.

Este tipo de agentes no deben usarse como antisépticos, ni para desinfectar elementos semicríticos; tampoco deben utilizarse dentro de recipientes (por Ej.: vocales) para desinfectar por inmersión, puesto que muchos microorganismos (por Ej.: **Pseudomona**) son capaces de multiplicarse en estas condiciones; han habido incluso epidemias intrahospitalarias a partir del mal manejo de estos desinfectantes.

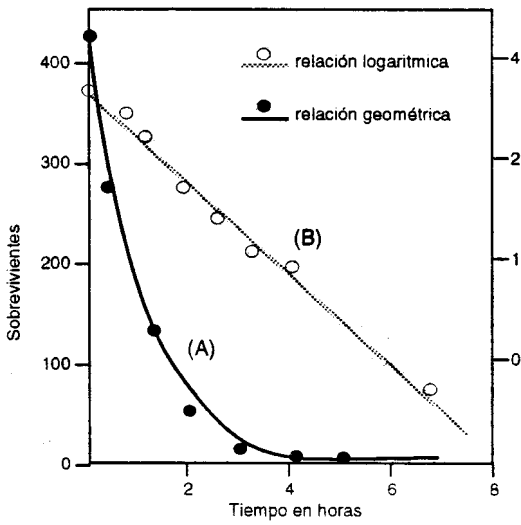


FIG 1: Representación del número de sobrevivientes de una población bacteriana en

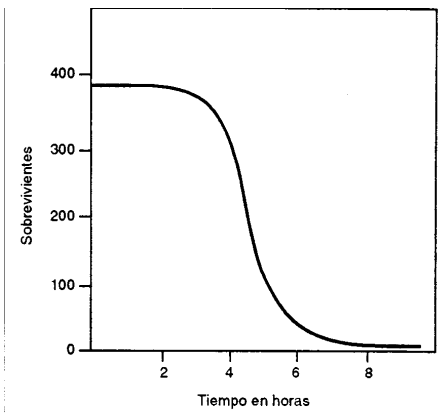


FIG:2 Representación del comportamiento sigmoide de la cinética de destrucción para concentraciones intermedias de desinfectantes

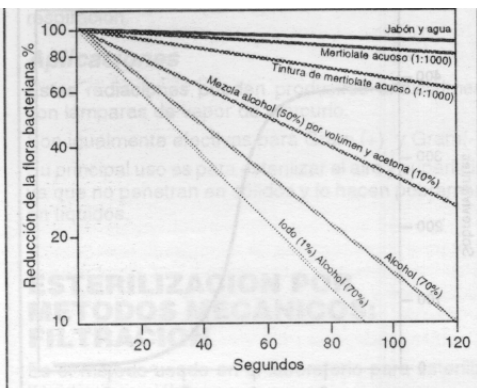


FIG3: Representación del número de sobrevivientes de la flora normal de manos y antebrazos en función del tiempo, para diferentes antisépticos de uso común.

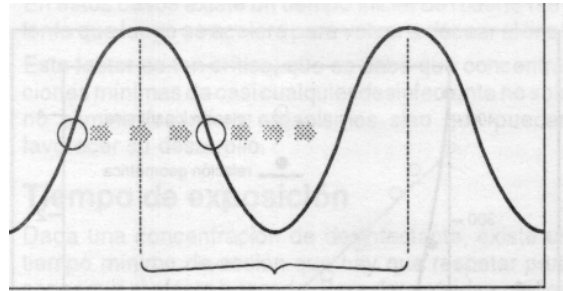


FIG 4: Trayectoria ondulante de un fotón. Lo comprendido dentro de la llave, corresponde a su longitud de onda

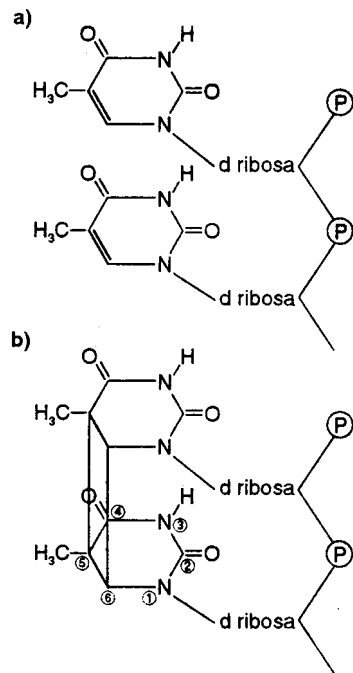


Fig. 5: Estructura de dos moléculas de pirimidina (timina-timina) adyacentes de la misma cadena.
A. Organización normal; B. organización luego de exposición a rayos UV donde se puede ver el ciclo butano que se forma entre los carbonos 5 y 6 de ambas moléculas.

COMPUESTOS DE AMONIO CUATERNARIO:

(Ej.: cloruro de benzalconio, Rocal, Zephiran, Tritón k12, etc.) son agentes catiónicos y actúan a nivel de la membrana celular (agentes activos de superficie). Los agentes activos

de superficie son anfipáticos (están constituidos por un sector hidrofóbico y uno hidrofílico). En este caso el residuo hidrofóbico se encuentra balanceado por el residuo hidrofílico positivamente cargado que constituye el núcleo de amonio cuaternario.

Al ponerse en contacto con la superficie bacteriana, el grupo catiónico se asocia a los grupos fosfato de los fosfolípidos de membrana, liberando al residuo hidrofóbico, que entra en la región hidrofoba de la membrana. Esto altera la semipermeabilidad de la membrana y provoca la salida de compuestos fosforilados.

Una vez ocurrido esto, el agente entra en la célula y desnaturaliza las proteínas.

Poseen un rango de acción que abarca fundamentalmente a bacterias Gram (+).

Las principales aplicaciones se dan para la desinfección de ítems no críticos y desinfección ambiental doméstica.

2. COMPUESTOS MERCURIALES: (Mertiolate, Mercuriocromo, Metafen, etc.). Son bacteriostáticos, necesitando grandes concentraciones para alcanzar efectos bactericidas.

Inhiben la actividad enzimática por unión del mercurio con los grupos sulfhidrilo de las mismas.

Estas sustancias están fuera de uso debido a:

- a. Aumento por parte de los microorganismos de la resistencia al mercurio.
- b. Poseen efectos tóxicos sobre tejidos y corrosivos sobre metales.
- c. Son poco activos al pH de los líquidos corporales.
- d. Se inactivan drásticamente con la presencia de materia orgánica.

Corresponde hablar finalmente de las:

TECNICAS DE ESTERILIZACION

Para esto contamos con procedimientos físicos o químicos.

Estos últimos ya han sido vistos al considerar los desinfectantes de alto nivel.

Los procedimientos físicos se dividen en energéticos y mecánicos. Dentro de los primeros se encuentran: **el calor y las radiaciones**, dentro de los segundos, **la filtración**.

A. DESTRUCCION DE MICROORGANISMOS MEDIANTE CALOR:

La energía térmica es la forma mas efectiva de esterilización.

Esta puede utilizarse como calor húmedo o seco.

I. CALOR HUMEDO:

Mecanismo de Acción: Al igual que los procesos de desinfección, la esterilización térmica destruye a los microorganismos en forma gradual; es por esto que no hay un único mecanismo de acción, sino más bien la suma de distintos eventos complejos que se van sucediendo a medida que aumenta la temperatura.

Así, aunque el efecto final de la esterilización por calor húmedo a 121°C es la desnaturalización y coagulación de las proteínas, son importantes otros mecanismos de destrucción, que justifican la utilización de calor húmedo a temperaturas inferiores, como veremos más adelante.

El primer efecto letal sería la producción de rupturas de cadena única en el ADN que provocarían la muerte celular por activación o liberación de enzimas con actividad de endonucleasas.

El punto crítico aquí, para la supervivencia de la célula sería su capacidad para reparar la lesión, función que depende del estado genético y fisiológico de la bacteria.

A medida que aumenta la temperatura se agregaría la pérdida de la integridad funcional de la membrana citoplásmica, lo que produciría interferencias en el intercambio con el medio externo, los procesos respiratorios y la síntesis proteica.

Por último, las temperaturas más elevadas activarían ribonucleasas que degradando el ARNr producen la pérdida de viabilidad de las células expuestas.

Las temperaturas a la cual puede usarse el calor húmedo son:

- Por debajo de 100°C --- **Pasteurización**
- A 100°C --- **Ebullición y Tindalización**
- Por encima de 100°C --- **Autoclavado**

Pasteurización: se utiliza para la destrucción de gérmenes patógenos, con resistencia térmica similar o inferior a **M.tuberculosis, Brucella y Salmonella**.

Este no es un método de esterilización sino de desinfección, donde no se destruyen ni esporos ni virus no lipídicos (por Ej.: HAV).

Existen dos métodos de pasteurización: o se calienta a 65°C durante 30' o a 72°C durante 15". Luego ambas se enfrían rápidamente a 10°C.

Esta técnica se utiliza fundamentalmente en la descontaminación de la leche.

Ebullición: consiste en mantener un objeto o sustancia en un baño a 100°C durante 30'. Aplicado así destruye la mayoría de las formas vegetativas bacterianas, hongos y virus lipídicos (por Ej.: Herpesvirus y HIV). En cambio no es efectivo para la destrucción de esporos y virus no envueltos.

La repetición de este proceso durante tres días consecutivos, constituye la **Tindalización**. Su fundamento teórico está dado por la destrucción de las formas vegetativas durante los períodos de ebullición, permitiendo que los esporos germinen durante el reposo volviéndose susceptibles al próximo calentamiento. Tampoco aquí se esteriliza.

Autoclavado: utiliza vapor de agua a 121°C durante 15'o 20'. Esta temperatura se logra si se obtiene una presión de una atmósfera relativa (dos atmósferas absolutas), ya que el aumento de la presión provoca aumentos proporcionales en el punto de ebullición del agua. Es el mecanismo de destrucción microbiana más efectivo, y bien utilizado asegura esterilización. El equipo que se utiliza es el **autoclave**, del cual existen distintos tipos, como ser:

1. Vertical de manejo manual.
2. Que opera por gravedad.
3. De esterilización rápida.

1. AUTOCLAVE VERTICAL DE MANEJO MANUAL: consta de dos recipientes cilíndricos, uno externo con tapa de cierre hermético que se asegura por múltiples tornillos y uno interno donde se pone el material a esterilizar.

El recipiente externo contiene además, una válvula de seguridad, un manómetro o termómetro y una llave de salida o escape.

La fuente de calor puede venir incluida en el equipo,

como una resistencia eléctrica o se le suministra aparte, desde abajo, generalmente mediante gas.

Dentro del recipiente externo se coloca agua destilada, la cual al llegar al punto de ebullición producirá el vapor que al entrar en contacto con los microorganismos, actuará como agente esterilizante.

Los materiales se cargan dentro del recipiente interno que al no tener tapa permite una fluida entrada de vapor, pero evita el contacto de estos con el agua.

El aire es mal conductor del calor, lo que impide llegar a las 2 temperaturas necesarias, por lo que una vez cargado y cerrado el autoclave debe purgarse. Esto se consigue dejando la llave de escape abierta hasta que el vapor, por arrastre, elimine el aire contenido en el equipo. Se cierra la llave, se deja que la presión llegue a una atmósfera relativa (15 lbs.) y luego se cuenta el tiempo.

Terminado el ciclo, se apaga la fuente de calor y se deja descender la temperatura. **¡¡¡ No debe abrirse la tapa hasta que la presión del sistema se iguale a la atmosférica !!!**

Tampoco se debe provocar una liberación brusca del vapor (por Ej.: abriendo la llave de escape) ya que si hay líquidos dentro del autoclave, alcanzarán rápidamente estado de ebullición y se derramarán, debido a que disminuye la presión pero no la temperatura.

2. AUTOCLAVES QUE OPERAN POR GRAVEDAD: son equipos eléctricos, automáticos o manuales. El vapor se produce dentro de una doble pared y se libera desde la parte superior del autoclave, de manera de desplazar por gravedad el aire hacia abajo, y promover su escape por una llave de salida inferior.

Como precaución debe introducirse el vapor lentamente para que no se caliente el aire al salir.

Luego del purgado, las etapas son iguales a las del autoclave vertical.

3. EQUIPOS DE ESTERILIZACION RAPIDA: son automáticos y consiguen un ciclo de esterilización en 20'.

Si bien en sus partes fundamentales son similares a los anteriores, su funcionamiento es diferente. Poseen una bomba de vacío que extrae rápidamente el aire del equipo.

De este modo se reduce la presión; cuando esta llega a 15 o 20 mmHg, se libera el vapor, que en estas condiciones se distribuye en forma homogénea por todo

el espacio en breves minutos.

En estos autoclaves, se puede reducir el tiempo de esterilización a 3' ya que se puede llevar la presión a 3 Atm. absolutas (134°C).

La descompresión se logra permitiendo el ingreso de aire filtrado y precalentado. Algunos equipos permiten además el secado final mediante vacío y reentrada de aire caliente.

Mediante el autoclavado se pueden esterilizar una gran variedad de objetos y líquidos, siempre que no contengan por Ej.: antibióticos que pueden perder actividad, proteínas que coagulen, azúcares que se caramelicen, etc. Así se esterilizan guantes, telas, algodón, papel, líquidos, filtros, algunos plásticos y gomas, etc.

Los líquidos a esterilizar deben estar fraccionados en frascos cerrados pero con la tapa de rosca floja, de modo que pueda salir el aire y entrar el vapor.

Aquellos materiales que no se encuentren dentro de algún recipiente que los proteja de la recontaminación al sacarlos del autoclave, deberán ser envueltos con una doble capa de papel, de manera de formar pequeños paquetes; entre estos objetos se encuentran: guantes, ropa, placas de Petri, pipetas, tubos de ensayo, etc.

Se debe de tener cuidado de no sobrecargar el autoclave, de manera tal que los paquetes y frascos impidan el flujo libre del vapor.

No se deben esterilizar por este método equipos que resulten corroídos por el agua como instrumentos metálicos. Tampoco polvos o aceites ya que son impermeables al vapor.

II. CALOR SECO:

Mecanismo de acción: Es diferente al del calor húmedo. El calor seco (o desecación en general) provoca desnaturalización de proteínas, lesiones por oxidación y efectos tóxicos por niveles elevados de electrolitos.

La acción letal es el resultado del calor transmitido desde el material con el cual los microorganismos están en contacto, y no desde el aire caliente que los rodea.

Existen tres formas principales de esterilización por calor seco: **flambeado**, **incineración** y mediante la utilización del **horno Pasteur**. Hablaremos solamente de esta última.

Para ello se necesita alcanzar mayor tiempo y

temperatura que en el autoclave, debiéndose mantener un objeto a 160°C durante 2hs. El motivo de estos incrementos estarían dados porque la ausencia de agua disminuiría el número de grupos polares de las cadenas peptídicas, lo que daría mayor estabilidad a las moléculas bacterianas, por lo que se requeriría mayor energía para abrirlas.

HORNO PASTEUR O POUPINELL: consiste en un recinto metálico de doble pared con aislante entre ambas (para evitar la pérdida de calor) y una puerta.

La fuente de calor suele ser eléctrica y está incorporada. Posee un ventilador que facilita la circulación del aire caliente, para homogeneizar la temperatura.

Un termómetro (con alcance mínimo de 200°C) visible desde afuera, registra la temperatura del interior del recinto.

Por calor seco se pueden esterilizar: materiales de inyectables, vidrios, instrumentos quirúrgicos y objetos metálicos, así como aceites, vaselinas y polvos, que como ya se ha dicho son impermeables al vapor.

Precauciones:

- ❖ Colocar paquetes pequeños y espaciados, para no interferir con la difusión del calor.
- ❖ La recarga del horno debe hacerse cuando este se encuentre frío, de lo contrario su interior alcanzará la temperatura antes que el material a esterilizar, por lo que se medirá mal el tiempo.

Controles de esterilización: Existen tres tipos: **físicos**

químicos

biológicos

Controles físicos: están relacionados al operario que realiza el procedimiento y la vigilancia de ciertos parámetros como: presión, tiempo, temperatura, etc.

Controles químicos: consiste en tiras de papel con una sustancia que cambia de color al ser expuesto a la temperatura correspondiente. La ventaja de este método, es la rapidez con que se sabe el resultado, ya que es inmediato. La gran desventaja es que dice poco sobre el tiempo de exposición, por lo que no asegura un procedimiento correcto.

Estos controles deben utilizarse en todos los ciclos de esterilización

Controles biológicos: consisten en exponer esporos

bacterianos al ciclo de esterilización y luego verificar su viabilidad.

Son los más seguros. Dentro de una ampolla se encuentra un medio de cultivo apropiado para el desarrollo de las bacterias en estudio. Por fuera de esta, un tubo plástico, contiene una cinta de papel marcador de pH, impregnado con esporos de bacterias capaces de resistir temperaturas cercanas a los procesos realizados.

Se utilizan esporos de **Bacillus estearothermophilus** en el autoclave y de **B.subtilis** en la poupinell.

Este sistema se coloca dentro del paquete menos accesible ya sea para el calor o el vapor. Finalizado el ciclo de esterilización, se rompe la ampolla (por presión manual

PRINCIPALES CARACTERISTICAS DE LOS METODOS DE ESTERILIZACION POR AUTOCLAVADO Y POUPINELL

	<u>AUTOCLAVE</u>	<u>POUPINELL</u>
<u>Temp. requerida</u>	121°C	160°C
<u>Tiempo</u>	15-20'	2 hs.
<u>Mec. de acción</u>	Coagulación y desnaturalización de proteínas.	Desnat. proteica, lesiones por oxidación y toxicidad por producir aumento de electrolitos.
<u>Modo de acción</u>	Por difusión de vapor de agua.	Calentamiento por contigüidad.
<u>Materiales esterilizables</u>	Vidrios, medios de cultivo, gomas, telas, algodón, guantes, algunos plásticos, etc..	Vidrios, instrumentos metálicos, polvos, aceites y vaselinas, etc..
<u>Materiales no esterilizables</u>	Medios con ciertos ATBs, azúcares o proteínas; polvos; vaselinas y aceites; metales oxidables; instrumentos médicos termosensibles como broncoscopio, etc.	Gomas; plásticos; instrumentos .termosensibles; medios con ATBs, azúcares y proteínas; guantes; algodón; papeles.

sobre el tubo) , esto pone en contacto el medio con los esporos) y se incuba en un baño (a 60°C para **Bacillus estearothermophilus** y a 37°C para **B.subtilis**) durante más de 48hs. Si existen microorganismos viables, su metabolismo provocará un cambio de pH que hará virar el color del marcador, revelando el fallo del procedimiento, por lo que deberá volverse a esterilizar todo. Este tipo de controles debe realizarse periódicamente, o cuando se dude de la efectividad del procedimiento.

B. ESTERILIZACION POR RADIACIONES

Con este fin pueden utilizarse tanto las radiaciones ultravioletas (UV) como las ionizantes y rayos infrarrojos.

Como el estudiante recordará, con respecto a la naturaleza de la luz se acepta una combinación entre la teoría cuántica y la electromagnética. Es decir, que existe una partícula indivisible (denominada cuanto) constituida por un fotón que se desplaza a través del espacio describiendo una trayectoria ondulatoria (fig.4).

La energía de un fotón es inversamente proporcional a la longitud de onda de la radiación, sabiendo que longitud de onda es la distancia que existe entre dos puntos correspondientes de la trayectoria ondulante (Fig. 4). Parte de esta energía es absorbida por los sistemas biológicos cuando estos son expuestos a las radiaciones. La fracción de energía absorbida es directamente proporcional a la

intensidad de la radiación, al tiempo de exposición a la misma y a un coeficiente de absorción que es característico de cada material.

Veremos qué sucede a nivel molecular cuando las radiaciones interactúan con la materia.

Cuando la radiación incidente tiene energía suficiente puede elevar el nivel energético de los electrones, hasta el punto de arrancarlos de su orbital (produciéndose **ionizaciones**).

Si la energía es menor, los electrones aumentan su nivel de energía pero sólo temporalmente, volviendo a su estado inicial luego de un período de tiempo.

Este estado elevado de energía se denomina **estado excitado**. La molécula excitada podrá transferir ese exceso de energía a otras, en forma de energía vibratoria (produciéndose calor); o disiparla en forma de radiación electromagnética.

Debido a la relativamente baja cantidad de energía que son capaces de transmitir los rayos **UV**, sólo afectan a los electrones de los átomos periféricos de las moléculas, produciéndose solo estados de excitación.

Las **radiaciones ionizantes** son las que pueden extraer electrones de sus orbitales.

Los **rayos infrarrojos** sólo pueden provocar energía vibratoria, por lo que sólo generan calor.

Hablaremos a continuación solamente de las **radiaciones UV** ya que son las más utilizadas en **nuestros** laboratorios.

No obstante, el estudiante debe saber que las radiaciones ionizantes son cada vez más utilizadas en los laboratorios como técnicas de esterilización de rutina, ya que los adelantos tecnológicos han simplificado estos equipos y su manipulación. Se utilizan para la esterilización de materiales descartables como jeringas, agujas, materiales para vías, etc.

RADIACIONES UV:

Mecanismo de acción: el principal mecanismo del efecto letal de la luz UV sobre las bacterias, se atribuye a su absorción por el ADN y el resultante daño de este. Así provocan la formación de uniones covalentes entre los residuos de pirimidina adyacentes pertenecientes a la misma cadena, lo que provoca la formación de dímeros de pirimidina de tipo ciclobutano (Fig. 5).

Esto produce distorsiones en la forma del DNA e interfiere en el apareamiento normal de las bases.

El resultado final es la inhibición de la síntesis de ADN y secundario a esto, inhibición del crecimiento y la respiración.

APLICACIONES: estas radiaciones pueden producirse artificialmente con lámparas de vapor de mercurio.

Son igualmente efectivas para Gram (+) y Gram(-).

Su principal uso es para esterilizar el aire y superficies, ya que no penetran en sólidos y lo hacen pobremente en líquidos.

C. ESTERILIZACION POR METODOS MECANICOS: FILTRACION

Es el método usado en el laboratorio para esterilizar líquidos termolábiles.

Existen distintos tipos de filtros: de asbesto-celulosa, de vidrio, de cerámica y de ésteres de celulosa o membranas. Las membranas están compuestas por ésteres de celulosa biológicamente inertes. Los poros varían desde $0.025\mu\text{m}$ a $25\mu\text{m}$ de diámetro, siendo los de $0.22\mu\text{m}$ los más utilizados ya que son lo suficientemente pequeños para detener a todas las bacterias. Con este método se esterilizan: azúcares, urea, sueros, antibióticos, etc.

Los filtros de membrana también se utilizan en Microbiología para otros propósitos. Dado que son inertes, proporcionan un buen medio para recoger microorganismos, por ejemplo para cultivar bacterias que se encuentran en bajas concentraciones en un gran volumen de líquido. El mecanismo de acción es bastante simple: detienen todas las partículas que posean un tamaño mayor que los poros. En realidad los "poros" quedan formados por los espacios que resultan de la superposición de las fibras de las distintas capas que forman la membrana. Así, algunas partículas de menor tamaño son retenidas por otros mecanismos como las fuerzas de Van der Waals o por suma de partículas retenidas previamente, etc. por lo cual "el tamaño del poro" es un valor virtual definido por el tamaño de la partícula retenida, más que por un diámetro real y medible.

ALGUNAS RECOMENDACIONES AL FINAL DEL CAPITULO

- I. El mecanismo de esterilización más efectivo es el AUTOCLAVADO, siempre que sea posible, este debe ser el procedimiento a elegir.
- II. La etapa de purgado debe hacerse a temperaturas moderadas, ya que a altas temperaturas el vapor comienza a salir sin arrastrar al aire, lo que nos lleva a cerrar la llave de escape antes de tiempo.
- III. Los materiales que vienen esterilizados de origen y que son de un único uso **NUNCA DEBERAN SER REESTERILIZADOS NI REUSADOS.**
- IV. En caso de tener que manejar material contaminado como ser instrumental y ropa luego de un acto quirúrgico, este debe ser manejado con guantes y pasado por un proceso de autoclavado previo a la limpieza de restos orgánicos (con el fin de eliminar todos los microorganismos, salvo los que puedan estar protegidos por elementos como sangre, secreciones, restos necróticos, etc.), luego sí, esterilizarlos definitivamente.

Ciclo Decontaminación-Limpieza-Esterilización

- V. Cuando se use un antiséptico deberán tenerse algunas precauciones:
 - # lavar la región previamente para eliminar restos orgánicos;
 - # retirar con abundante agua cualquier residuo de jabón;
 - # secar la superficie, ya que se pueden provocar diluciones excesivas del producto (fundamentalmente en el caso de los iodóforos y alcoholes) disminuyendo su actividad;
 - # dejarlo actuar un tiempo apropiado, se recomiendan 2' antes de realizar cualquier procedimiento.
- VI. Con respecto al uso de jabones: estos deberán quedar en lugares secos ya que de estar sumergidos en agua, pueden transformarse en un reservorio de gérmenes (sobre todo Gram (-)). Las jaboneras deberán lavarse con frecuencia y los recipientes para jabón líquido deberán removerse aproximadamente cada 15 días, tirando el contenido que les quede, limpiándolos y agregándoles soluciones nuevas.
- VII. Por último pero no menos importante, la salud de los pacientes y del personal en cualquier servicio médico dependerá en gran parte de la medida en que todos los integrantes del grupo de salud, incluyendo los estudiantes, trabajen siempre medularmente con el criterio de asepsia.

Actividades Prácticas:

PRACTICO N°1

El estudiante realizará en el autoclave la esterilización del material suministrado. Para esto contará con un equipo que esquemáticamente es así:

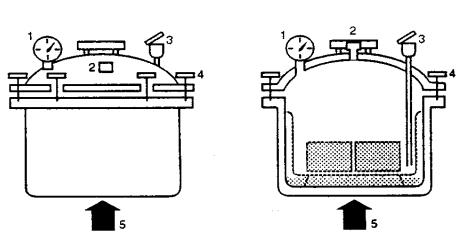


Fig. 1 - Autoclave.
1. Manómetro
2. Válvula de seguridad
3. Válvula principal
4. Sujetadores de tapa
5. Fuente de calor

Fig. 6: Autoclave

Procedimiento:

1. Poner 2.5 lts. de agua destilada en el autoclave.
2. Disponer el material a esterilizar sobre una plataforma evitando amontonamiento. Los frascos deben estar con la tapa floja y las cajas metálicas con la tapa entreabierta.
3. Cerrar y atornillar la tapa del autoclave.
4. Verificar que la llave de salida se encuentre abierta.
5. Encender la fuente térmica para hervir el agua dentro del autoclave.
6. Purgar hasta 5' después que se vea salir por la llave de escape solo vapor.
7. Cerrar la llave.
8. Controlar el aparato de registro que puede ser un manómetro calibrado en grs./cm² o lbs/sq.in (libras por pulgada cuadrada), o un termómetro en °C o F. Cuando el aparato registre 1.054 grs./cm², 15 lbs/sq.in, 121°C o 249.8F, se empezará a contar el tiempo.
9. Mantener el registro constante durante 15-20 minutos.
10. Apagar la fuente térmica y dejar enfriar sin abrir.
11. Cuando la temperatura o presión haya descendido, abrir la llave de escape de vapor.
12. Abrir el autoclave.

Los materiales salen húmedos por el contacto con el vapor. Aquellos que estén envueltos en papel deberán secarse en la estufa, ya que el papel mojado es muy fácil de romper y el material se contaminaría nuevamente.

PRACTICO No 2:
Desinfección por Hipoclorito de Sodio

Se estudiará el efecto del Hipoclorito de Sodio para la desinfección del agua.

Se parte de 10 ml de agua contaminada con una concentración conocida e importante de **E.coli** (10 UFC/ml).

Se aplica hipoclorito de sodio según las recomendaciones (2 PPM), a partir de una solución madre de 50 PPM.

Luego se realizan cultivos del agua con asa calibrada de 0.05 ml en agar sangre a los 0.5 y 15 minutos de agregado el desinfectante. Se incuban las placas a 37°C durante 24 hs. y se leen los resultados.

PRACTICO No 3:
Lavado y antisepsia de manos

Se realizarán impresiones de los dedos contaminados en placas de agar sangre. A continuación se procederá a lavar las manos con jabón y a secarlas con aire caliente o toallas de papel. Se efectuarán nuevas impresiones luego del lavado. Por último se aplicará un antiséptico: alcohol 70 dejándolo actuar por 1' y luego secado; se realizan nuevas impresiones en una tercera placa y se incuban las tres, discutiéndose luego de 24 hs. los resultados.

CUESTIGRAMA DESINFECTADO

HORIZONTALES:

1. ¿Utilizaría peróxido de hidrógeno al 3% para provocar una buena descontaminación de una herida?
3. Sustancia que inactiva diversos antisépticos como los compuestos iodados.
5. Unidad de medida de la cantidad de cloro activo en el hipoclorito de sodio.
7. Preparación química de la clorohexidina que la vuelve soluble en agua.
9. Ud. tiene que desinfectar un catéter y tiene distintos tipos de desinfectantes, independientemente del agente que se trate: ¿a que nivel debe pertenecer el mismo?
11. Nombre de desinfectante que pertenece al grupo de los compuestos de amonio cuaternario y que ya prácticamente está en desuso.
12. Luego de haber aumentado la temperatura, ¿a cuantos °C debe descender por lo menos la misma para realizar el proceso de pasteurización?
13. ¿Como debe estar el horno Pasteur para poder recargarlo?
15. Abreviatura de elemento que debe esterilizarse por filtración, ya que mediante calor puede perder actividad.
18. Radiaciones utilizadas para esterilizar ambientes y superficies.
19. Una de las unidades en que se mide la presión atmosférica (abreviatura).
21. Grupo funcional sobre el que actúan por Ej. los agentes oxidantes (fórmula).
23. Líquido orgánico que debe eliminarse antes de aplicar un antiséptico.
25. Abreviatura de Oxido de etileno.
26. ¿El Glutaraldehido posee acción esporicida?
27. Símbolo de elemento halógeno utilizado como desinfectante de mediano nivel.
28. Símbolo de 47 horizontal.
30. Sulfhidrido oxidado (fórmula).
31. Acción que no debe hacerse ni de más ni de menos con los iodóforos.
33. Prefijo que se utiliza para diferenciar uno de los cresoles.
34. Dado que los agentes alquilantes son esporicidas ¿son estos los antisépticos ideales?
35. Forma que tiene la trayectoria de un fotón, cuya longitud es inversamente proporcional a la energía que posee un cuanto.
36. Organos que fácilmente se irritan cuando se exponen por Ej. al Oxido de etileno.
37. Nivel de desinfección del mercuriocromo.
39. ¿La concentración de los desinfectantes, modifica la cinética de destrucción de las poblaciones bacterianas?
42. Solvente universal, lo que va en el fondo del autoclave, eso que unido al 38 vertical se utiliza para disminuir las infecciones cruzadas, ¿que mas querés que te diga?
45. Prefijo utilizado para denominar la mezcla de las tres variedades de cresoles.
47. Material con el que están constituidas por lo

- Gral. las paredes de la poupinell.
48. Dispositivo (en singular) que se esteriliza con glutaraldehído o peróxido de hidrógeno, ya que es termosensible.
 49. Art. que puede venir contaminado de un quirófano y que debe ser esterilizado por autoclave antes de volverlo a utilizar.

VERTICALES:

1. Símbolo del elemento que se utiliza con el hipoclorito en solución acuosa.
2. Uno de los aspectos desagradables que tienen las tinturas de yodo.
3. Elemento que por su tamaño impide el pasaje de las bacterias a través de un filtro.
4. Tipo de calor que necesita actuar durante 2hs a 160°C.
6. Condición ambiental que modifica la acción de los desinfectantes y antisépticos.
7. Tiempo mínimo en horas que debe estar expuesto un objeto al Glutaraldehído para que tenga efecto esporicida.
8. Fenómeno cuya presencia desestabiliza las soluciones de los compuestos clorados.
10. Elemento que permite el escape de vapor y aire del autoclave.
13. Uno de los tres tipos de controles de los procesos de esterilización.
14. Partícula cargada en la que puede transformarse un elemento luego de su exposición a determinado tipo de radiaciones.
16. Género bacteriano utilizado para controlar los procesos de esterilización.
17. ¿Cuántas atmósferas se pueden alcanzar con un equipo de esterilización rápido?

20. En los controles biológicos, el que aporta los nutrientes y tiene el marcador de pH.
22. Tipo de carbón de donde se obtienen los cresoles.
24. Grupo de enfermedades a las que pertenecen la hepatitis B y el SIDA. (Abreviatura)
26. El peróxido de hidrógeno al 10%, el hipoclorito de sodio y los iodóforos ¿pertenecen por alguna clasificación a un mismo grupo?
29. Medio líquido que debe ser esterilizado mediante filtro.
31. Número de atmósferas absolutas equivalentes a 15 lbs.
32. Uno de los sitios de acción del óxido de etileno (en inglés).
34. ¿Es el yodo disponible el que tiene acción bactericida en los iodóforos?
37. Recipiente con un desinfectante (generalmente hipoclorito de sodio) que se utiliza para descartar material contaminado.
38. Pareja insustituible de 42 horizontal para el lavado de manos.
40. Punto, cosa, elemento por Ej.: crítico, semi crítico, etc.
41. Nombre de la población bacteriana que se intenta reducir mediante el lavado de manos.
43. Objeto que puede esterilizarse en autoclave pero no en horno Pasteur.
44. Mezcla de gases que se utiliza para limpiar los restos tóxicos que quedan sobre los objetos esterilizados con óxido de etileno.
46. Elemento halógeno que se utiliza en diversas preparaciones como desinfectante de mediano nivel.

1	2	3	4	5	6	7	8
	9			10			
		11				12	
13		14		15	16		
			17	18		19	20
21			22				
23			24				
		25		26			27
28	29		30		31		32
33				34		35	
			36				
37		38			39	40	41
			42	43	44	45	46
47							
48						49	