

- Introducción
- Objetivo
- Fundamento
- Procedimiento
- Resultados
- Conclusiones
- Bibliografía

Trabajo Práctico Nº 8

ESTERILIZACIÓN POR CALOR HÚMEDO



INTRODUCCIÓN

El calor húmedo destruye los microorganismos por coagulación de sus proteínas celulares.

El principal método de esterilización que emplea calor húmedo es la **esterilización por vapor a presión**. Existen otros métodos de descontaminación que emplean este tipo de calor los cuales, aunque no permiten la destrucción total de los microorganismos, disminuyen la carga microbiana que posee un material. Entre estos métodos podemos citar:

- Tindalización (esterilización fraccionada)
- Agua hirviendo
- Pasteurización
- Olla de presión

Esterilización por vapor a presión

La esterilización por vapor a presión se lleva a cabo en un **autoclave**. Estos equipos emplean vapor de agua saturado, a una presión de 15 libras lo que permite que la cámara alcance una temperatura de 121°C. El tiempo de esterilización usualmente es de 15 minutos, sin embargo, en algunas oportunidades, dadas las características del material, es necesario variar el tiempo de esterilización.

Cuando se utiliza este método es importante controlar en el autoclave la relación entre la temperatura, la presión y el tiempo de exposición, ya que éstos son factores críticos en el proceso. Sólo cuando el vapor se coloca bajo presión, es cuando su temperatura aumenta por encima de los 100°C y esto permite alcanzar las temperaturas de esterilización (121°C).

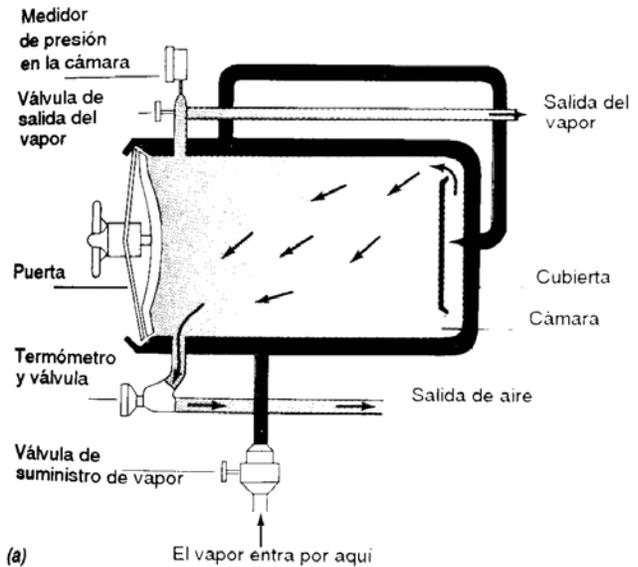
Entre las ventajas de este método de esterilización tenemos que no deja residuos, los autoclaves modernos son sencillos de manejar y es un método rápido de esterilización. Éste es el método de elección para esterilizar materiales termoestables y no sensibles a la humedad como medios de cultivo, cultivos de microorganismos para descartar, lencería, uniformes, instrumentos quirúrgicos, etc.

Entre sus desventajas están que no permite la esterilización de materiales sensibles al calor y materiales no miscibles con el agua como es el caso de polvos, aceites y grasas.

Precauciones

- Antes de comenzar el proceso de esterilización es necesario remover todo el aire de la cámara del autoclave, porque de lo contrario no se podrán alcanzar las condiciones de esterilización requeridas debido a que la cámara interna del equipo no podrá ser saturada por el vapor de agua.
- El tiempo de esterilización se debe comenzar a contar una vez que se han alcanzado los 121°C en la cámara interna del autoclave.
- Si se van a esterilizar materiales tales como instrumentos quirúrgicos, equipos, etc. no se deben cubrir con materiales impermeables al agua como por ejemplo el papel de aluminio, porque éste no permite que el vapor tenga acceso al material y por lo tanto no se logrará la esterilización.
- Cuando se coloca el material a esterilizar en el interior del equipo se debe garantizar la libre circulación del vapor de agua alrededor de todo el material.

Para controlar la esterilización por vapor a presión se emplean indicadores físicos tales como medidores de presión, termómetros, o termógrafos. Aunque estos controles son ampliamente utilizados, actualmente se consideran métodos secunda-



rios para el control del proceso y son los indicadores biológicos los que permiten determinar si realmente se llevó a cabo en forma efectiva la esterilización.

Entre los indicadores biológicos más utilizados para controlar el proceso de esterilización por vapor a presión, se encuentran las esporas de *Bacillus stearothermophilus* que son altamente resistentes a este proceso.

Se recomienda el uso de controles biológicos por lo menos una vez a la semana para verificar el buen funcionamiento del autoclave. En caso de que se sospeche de alguna falla se debe colocar un indicador biológico en cada carga de esterilización.

OBJETIVO

Al finalizar el trabajo práctico el estudiante estará en capacidad de:

Esterilizar por vapor a presión los medios de cultivo preparados en el trabajo práctico N° 6.

FUNDAMENTO

Al aplicar a un determinado material vapor de agua a una presión de 15 lb (121°C) por un tiempo determinado, se produce la destrucción total de los microorganismos viables presentes en el mismo.

PROCEDIMIENTO

1. Trasladar los medios de cultivo preparados en el trabajo práctico N° 6 a la Sección de Medios de Cultivo.
2. Colocar los medios de cultivo dentro del autoclave.

El material debe colocarse correctamente dentro del equipo para que permita la correcta distribución del vapor de agua. Para ello se deben tomar las siguientes precauciones:

- Distribuir el material en forma ordenada en toda la superficie interna disponible.
- Evitar amontonar el material en un área específica. No colocar el material uno sobre otro.
- Evitar que el material toque las paredes del autoclave.

- No preparar cestas con tubos donde éstos se encuentren demasiado apretados.
3. Colocar la ampolla del indicador biológico en el lugar que se considere más difícil que llegue el vapor.
 4. Esperar que se alcancen los 121°C y comenzar a contar el tiempo de esterilización.
 5. Cuando termine el tiempo de esterilización, apagar el autoclave.
 6. Esperar que bajen la presión y la temperatura del equipo para abrirlo y retirar los medios de cultivo.

Si alguno de los medios se requiere en forma biselada (inclinado), en este momento se colocan sobre una superficie que permita obtener el grado de inclinación deseado.

7. Retirar el indicador biológico e incubarlo bajo las condiciones que señale el fabricante.
8. Esperar que el material alcance la temperatura ambiente antes de almacenarlo.
9. Después del periodo de incubación observar las características del indicador biológico.

RESULTADOS

Temperatura alcanzada en el proceso: _____

Tiempo de duración del proceso (desde que se alcanzó la temperatura requerida hasta apagar el autoclave): _____

Indicador biológico utilizado: _____

Características del indicador biológico antes del proceso de esterilización.

Características del indicador biológico después del proceso de esterilización y el periodo de incubación.

CONCLUSIONES

El proceso de esterilización fue: SATISFACTORIO NO SATISFACTORIO

porque_____

BIBLIOGRAFÍA

Autoclaving, Alternate Methods of Sterilization and Heat Labile Compounds. Mayo 2001. URL: <http://www.geocities.com/CapeCanaveral/Lab/9965/autoclave.html>

Black, J. 1999. Microbiology Principles and Exploration. Fourth edition. John Wiley & Son, Inc.

Clavell, L.; Pedrique de Aulacio, M. 1992. Microbiología. Manual de Métodos Generales (segunda edición). Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela.

Madigan M.T, Martingo J. M. y Jack Parker. 2004. Décima Edición. Brock Biología de los Microorganismos Prentice Hall

The Pharmacopeia of the United States of America. Sterilization and Sterility Assurance of Compendial Articles. Cap 1211. 32 Edition. Rockville: USP; 2008.

Tortora G. J., B. R. Funke and Ch. L. Case 2007. Introducción a la Microbiología 9^{na} Edición. Editorial Médica Panamericana.

Prof. Sofía Gutiérrez de Gamboa
Octubre 2001
Revisión 2008