

EL HORNO MICROONDAS EN LA ESTERILIZACIÓN DE MATERIAL DE FIBRA DE ALGODÓN

Guillermo Risco¹, Ysabel Koga^{1,2}, Daniel Fernández^{1,2}, Robert Tinoco², Arnaldo Alvarado² y Karín Villacorta²

¹Departamento de Microbiología, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria, Universidad Alas Peruanas, Lima 33, Perú

²Bioservice SRL, Lima 35, Perú

RESUMEN. Se realizó un estudio para evaluar la efectividad del horno microondas en la esterilización de material de fibra de algodón previamente inoculado con uno de los siguientes microorganismos: *Escherichia coli*, *Staphylococcus spp*, *Pseudomonas spp*, *Aspergillus flavus* o *Clostridium spp*.

Se emplearon paquetes de gasa estériles de 100 g cada uno, empaquetados en papel grado médico, inoculados individualmente y sometidos a tres tiempos de radiación no ionizante (ondas electromagnéticas de alta frecuencia): 30, 60 y 90 segundos, realizándose cinco repeticiones por cada tiempo y microorganismo empleado. Después de la exposición se procedió a la recuperación de los microorganismos mediante cultivos específicos para verificar la efectividad del procedimiento utilizándose la técnica de recuento de unidades formadoras de colonias (UFC). La concentración determinada para cada microorganismo en el inóculo inicial fue de $4-5 \times 10^5$ UFC / ml, (*E. coli*), de $3-5 \times 10^5$ UFC / ml (*Staphylococcus spp*), $3-6 \times 10^5$ UFC / ml, (*Pseudomonas spp*), $2-3 \times 10^4$ UFC / ml (*A. flavus*) y $3-4 \times 10^5$ UFC / ml (*Clostridium spp*) respectivamente.

Se obtuvo una efectividad del 100% en los tres tiempos de irradiación no ionizante para *E. coli*, *Staphylococcus spp*, *Pseudomonas spp*, y *A. flavus* mientras que para el caso de *Clostridium spp*, la efectividad del 100% se obtuvo a partir de los 60 segundos de exposición, determinándose que esta técnica es una forma rápida, simple, efectiva y de bajo costo para esterilizar material de fibra de algodón.

Palabras clave: Ondas de ultra alta frecuencia, esterilización, microorganismos patógenos, asepsia

INTRODUCCION

La ubicuidad de los microorganismos en el medio ambiente, la resistencia de algunos de estos a temperaturas elevadas y a sustancias antisépticas hacen necesaria la búsqueda de algún método de esterilización rápido y eficiente, el porcentaje de infecciones intra hospitalarias o nosocomiales, tanto en medicina humana como en medicina veterinaria es elevado causado por microorganismos como *Escherichia coli* (21%), *Staphylococcus* (11.5 %), *Streptococcus* (10.1%), *Pseudomonas aeruginosa* (8.8%), *Klebsiella* (8.5%), *Proteus* (8%) y otros (Harari, 1993), microorganismos que producen infecciones urinarias, infecciones en heridas, etc y que pueden sobrevivir durante largos periodos de tiempo en objetos inanimados si las condiciones son las adecuadas. Por este motivo la esterilidad y la asepsia son prácticas indispensables en todo proceso quirúrgico.

Al realizar un acto quirúrgico tenemos que tener en cuenta varios factores, entre ellos la asepsia y la esterilidad del medio ambiente y demás infraestructuras y materiales. Dentro de los materiales a emplear en la cirugía tenemos campos operatorios, guantes, algodón, gasas, instrumental de metal etc., que por estar en contacto directo con el campo operatorio, su esterilización es considerada un factor indispensable.

Para la eliminación y/o control de microorganismos contaminantes existen dos procedimientos generales de control: 1) la esterilización, método por el cual se logra la destrucción total de gérmenes en los objetos inanimados que se usan en las operaciones quirúrgicas, como son: ropa de campos, gorro, cubre boca, bata, guantes, instrumental, suturas y soluciones isotónicas o de otro tipo. La esterilización no admite grados, tiene que ser absoluta y se puede llevar a cabo mediante varias técnicas: a) por vapor (autoclave) con una presión de 18 a 20 libras y una temperatura de 121° C por 30 minutos. (Alexander, 1989), esterilizándose por este método materiales de fibra de algodón, vidrio, goma, acero quirúrgico, madera, teniendo cuidado con materiales de plásticos sensibles al calor (Álvarez y Mendoza, 1990); b) por calor seco (horno) usando 180° C por 30 minutos para la esterilización de pipetas y cristalería que se utiliza en laboratorios así como instrumental de cirugía; c) por ebullición de agua para esterilizar instrumentos, suturas resistentes al calor, no utilizándose para indumentaria de fibra de algodón y d) por sustancias químicas (formaldehído) para esterilizar objetos termosensibles (Alvarez y Mendoza, 1990) y 2) la desinfección, método por el cual se realiza un control de la carga bacteriana sobre una superficie, piel, muebles, pisos, paredes, techos, aparatos de manejo y locales para alojamiento de los pacientes.

Una alternativa para la esterilización de materiales de fibra de algodón es la utilización de microondas. Microondas es un término descriptivo que se utiliza para identificar ondas electromagnéticas en el espectro de frecuencias comprendido entre 1GHz y 30GHz, que corresponden a las longitudes de ondas de 1 a 30 cm. Las microondas son ondas parecidas a la radio y televisión, situadas entre la radiofrecuencia y la luz infrarroja, compartiendo las propiedades de ambas radiaciones. Dentro del espectro electromagnético, las microondas son ondas cortas de una longitud comprendida

entre unos pocos milímetros y varios centímetros, lo cual equivale a decir que su frecuencia de oscilación esta comprendida entre unos cuantos cientos de megaciclos y unos miles de megaciclos (García, 1983).

Al igual que los rayos infrarrojos, las microondas comparten la propiedad de hacer vibrar ciertas moléculas de los cuerpos que atraviesan, calentándolos, dichas moléculas actúan como barras magnéticas tratando de orientarse o polarizarse ellas mismas bajo la acción del campo. Debido a que el campo cambia de sentido con una frecuencia entre 10 y 6.000 MHz (millones de veces por segundo) la fricción interna entre las moléculas es lo que da lugar a su calentamiento (Astigarraga y Astigarraga, 1995).

Un átomo o molécula lleva electrones de carga negativa y protones de carga positiva. Situados entre dos placas o electrones sometidos a una tensión eléctrica serán atraídos por la placa o electrones de polaridad opuesta. Cuando la tensión eléctrica es alterna de una frecuencia determinada, dichas partículas serán atraídas sucesivamente por ambas placas, lo que dará lugar al calentamiento del material del cual forman parte; dicho calor se genera directamente dentro del material. Es posible, por tanto obtener una elevación de temperatura mas rápida que en calentamiento convencional.

El presente trabajo propone el uso de las ondas electromagnéticas de alta frecuencia (microondas) cuya propiedad es la de hacer vibrar moléculas bipolares haciendo que éstas se friccionen alcanzando temperaturas elevadas en un tiempo corto, alternativa a emplear en la esterilización de productos derivados de fibra de algodón, que están compuestos por el 0.9% de agua y un 0.05 % de grasa ya que las ondas electromagnéticas, aparte de tener un efecto hipertérmico, también presenta un efecto adverso en las funciones vitales de las bacterias.

MATERIALES Y METODOS

Cepas microbianas. Se utilizaron cepas de *Escherichia coli* ($4-5 \times 10^5$ UFC / ml), *Staphylococcus spp* ($3-5 \times 10^5$ UFC / ml), *Pseudomonas spp* ($3-6 \times 10^5$ UFC / ml), *Aspergillus flavus* ($2-3 \times 10^4$ UFC / ml) y *Clostridium spp* ($3-4 \times 10^5$ UFC / ml) tipificadas y proporcionadas por Laboratorios Bioservice SRL.

Las cepas anteriormente mencionadas fueron aplicadas por separado al material de fibra de algodón (gasa) usado en cirugía en paquetes de 100 gs y envuelto en papel grado médico mediante 2 ml de inóculo. Antes de la inoculación, el material fue esterilizado mediante calor húmedo (autoclave) a 121°C x 15 minutos a 15 libras de presión.

Esterilización con microondas. Los materiales inoculados con cada microorganismo fueron expuestos a las ondas electromagnéticas de alta frecuencia (horno microondas) a una alta densidad (irradiación continua) de 1000 watts de potencia durante 30 segundos, 60 segundos, 90 segundos respectivamente (Kohn's, 1998). Se realizaron 5 repeticiones por cada tiempo y por cada microorganismo evaluado.

Examen microbiológico. Antes de la exposición al microondas se infectaron dos paquetes (por cada microorganismo) conteniendo material de fibra de algodón (gasa) con 2 ml de inóculo. Se procedió a retirar la gasa de uno de los paquetes con ayuda de una pinza estéril introduciéndola en un frasco estéril conteniendo 800 ml de suero fisiológico, se agitó el frasco por un periodo de 3 minutos, luego se retiraron 100 ul que fueron sembrados en el agar correspondiente al microorganismo infectante e incubado de acuerdo al requerimiento del germen contaminante para posteriormente confirmar su concentración expresada en UFC/ml. A esta muestra se le llamó control. El segundo paquete fue sometido a las ondas electromagnéticas de alta frecuencia (microondas) y luego se siguió el procedimiento anteriormente señalado para verificar el crecimiento o no de las colonias microbianas. Luego de cada exposición se realizó una siembra de cada repetición de cada microorganismo inoculado.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los cuadros 1 al 5 nos muestran los resultados obtenidos con el uso de las ondas electromagnéticas individualmente empleadas sobre los materiales de fibra de algodón infectados con cada uno de los diversos microorganismos.

Como se puede observar, a una potencia de 1000 watts de irradiación continua, dichas ondas mostraron una efectividad del 100% en periodo de 30, 60 y 90 segundos en cuatro de los microorganismos probados: *Escherichia coli*, *Staphylococcus spp*, *Pseudomonas spp* y *Aspergillus flavus*.

Tabla 1
Evaluación de efectividad de las ondas electromagnéticas microondas
irradiadas a material de fibra de algodón contaminado con
E. Coli

M.O. M.O.	M.O. (u.f.c./ml)		Efectividad	M.O. (u.f.c./ml)		Efectividad	M.O. (u.f.c./ml)		Efectividad	
	Gas Control	Gas Irradiado (90 mg.)		Gas Control	Gas Irradiado (90 mg.)		Gas Control	Gas Irradiado (90 mg.)		
R E P E T I C I O N E S	<i>E. coli</i> 1	$5,3 \times 10^7$	0	100%	$5,3 \times 10^7$	0	100%	$4,5 \times 10^7$	0	100%
	<i>E. coli</i> 2	$4,5 \times 10^7$	0	100%	$4,5 \times 10^7$	0	100%	$5,3 \times 10^7$	0	100%
	<i>E. coli</i> 3	$5,6 \times 10^7$	0	100%	$5,6 \times 10^7$	0	100%	$5,3 \times 10^7$	0	100%
	<i>E. coli</i> 4	$4,3 \times 10^7$	0	100%	$4,4 \times 10^7$	0	100%	$5,3 \times 10^7$	0	100%
	<i>E. coli</i> 5	$4,5 \times 10^7$	0	100%	$5,5 \times 10^7$	0	100%	$5,5 \times 10^7$	0	100%

M.O. : Microorganismos
Uf: unidades formadoras de colonias

Tabla 2
Evaluación de efectividad de las ondas electromagnéticas microondas
irradiadas a material de fibra de algodón contaminado con
Staphylococcus spp

M.O. M.O.	M.O. (u.f.c./ml)		Efectividad	M.O. (u.f.c./ml)		Efectividad	M.O. (u.f.c./ml)		Efectividad	
	Gas Control	Gas Irradiado (90 mg.)		Gas Control	Gas Irradiado (90 mg.)		Gas Control	Gas Irradiado (90 mg.)		
R E P E T I C I O N E S	<i>Staphylococcus spp</i> 1	$3,3 \times 10^5$	0	100%	$4,3 \times 10^5$	0	100%	$4,2 \times 10^5$	0	100%
	<i>Staphylococcus spp</i> 2	$5,2 \times 10^5$	0	100%	$6,5 \times 10^5$	0	100%	$4,3 \times 10^5$	0	100%
	<i>Staphylococcus spp</i> 3	$3,1 \times 10^5$	0	100%	$4,1 \times 10^5$	0	100%	$5,5 \times 10^5$	0	100%
	<i>Staphylococcus spp</i> 4	$4,5 \times 10^5$	0	100%	$4,1 \times 10^5$	0	100%	$4,2 \times 10^5$	0	100%
	<i>Staphylococcus spp</i> 5	$4,4 \times 10^5$	0	100%	$4,1 \times 10^5$	0	100%	$4,2 \times 10^5$	0	100%

M.O. : Microorganismos
Uf: unidades formadoras de colonias

Tabla 3
Evaluación de efectividad de las ondas electromagnéticas microondas
irradiadas a material de fibra de algodón contaminado con
Pseudomonas spp

M.O. M.O.	M.O. (u.f.c./ml)		Efectividad	M.O. (u.f.c./ml)		Efectividad	M.O. (u.f.c./ml)		Efectividad	
	Gas Control	Gas Irradiado (90 mg.)		Gas Control	Gas Irradiado (90 mg.)		Gas Control	Gas Irradiado (90 mg.)		
R E P E T I C I O N E S	<i>Pseudomonas spp</i> 1	$4,5 \times 10^7$	0	100%	$4,7 \times 10^7$	0	100%	$4,7 \times 10^7$	0	100%
	<i>Pseudomonas spp</i> 2	$3,9 \times 10^7$	0	100%	$3,8 \times 10^7$	0	100%	$5,4 \times 10^7$	0	100%
	<i>Pseudomonas spp</i> 3	$6,1 \times 10^7$	0	100%	$5,1 \times 10^7$	0	100%	$6,2 \times 10^7$	0	100%
	<i>Pseudomonas spp</i> 4	$4,6 \times 10^7$	0	100%	$4,7 \times 10^7$	0	100%	$5,2 \times 10^7$	0	100%
	<i>Pseudomonas spp</i> 5	$6,1 \times 10^7$	0	100%	$5,1 \times 10^7$	0	100%	$5,2 \times 10^7$	0	100%

M.O. : Microorganismos
Uf: unidades formadoras de colonias

Tabla 4
Evaluación de efectividad de las ondas electromagnéticas microondas
irradiadas a material de fibras de algodón contaminado con
Aspergillus flavus

M.O. M.O.	M.O. M.O.	30 seg.			60 seg.			90 seg.		
		Con Control	Gas Infectado (UFC)	Efectividad	Con Control	Gas Infectado (UFC)	Efectividad	Con Control	Gas Infectado (UFC)	Efectividad
R E P E T I C I O N E S	<i>Aspergillus flavus</i> 1	2,1x10 ⁷	0	100%	2,1x10 ⁷	0	100%	2,9x10 ⁷	0	100%
	<i>Aspergillus flavus</i> 2	2,9x10 ⁷	0	100%	2,5x10 ⁷	0	100%	2,0x10 ⁷	0	100%
	<i>Aspergillus flavus</i> 3	2,2x10 ⁷	0	100%	2,8x10 ⁷	0	100%	2,0x10 ⁷	0	100%
	<i>Aspergillus flavus</i> 4	2,2x10 ⁷	0	100%	2,1x10 ⁷	0	100%	2,9x10 ⁷	0	100%
	<i>Aspergillus flavus</i> 5	2,1x10 ⁷	0	100%	2,0x10 ⁷	0	100%	2,9x10 ⁷	0	100%

M.O.: Microorganismos
UFC: unidades Formadoras de colonias

Para el caso de *Clostridium spp.*, la efectividad a los 30 segundos fue en promedio del 60% mientras que la efectividad del 100% se obtuvo a partir de los 60 segundos de exposición (Tabla 5).

Tabla 5
Evaluación de efectividad de las ondas electromagnéticas microondas
irradiadas a material de fibras de algodón contaminado con
Clostridium spp.

M.O. M.O.	M.O. M.O.	30 seg.			60 seg.			90 seg.		
		Con Control	Gas Infectado (UFC)	Efectividad	Con Control	Gas Infectado (UFC)	Efectividad	Con Control	Gas Infectado (UFC)	Efectividad
R E P E T I C I O N E S	<i>Clostridium spp.1</i>	2,1x10 ⁷	1,2x10 ⁷	58,1%	2,2x10 ⁷	0	100%	3,0x10 ⁷	0	100%
	<i>Clostridium spp.2</i>	2,2x10 ⁷	1,2x10 ⁷	62,9%	2,1x10 ⁷	0	100%	2,0x10 ⁷	0	100%
	<i>Clostridium spp.3</i>	2,1x10 ⁷	1,2x10 ⁷	58,1%	2,1x10 ⁷	0	100%	2,2x10 ⁷	0	100%
	<i>Clostridium spp.4</i>	2,2x10 ⁷	1,2x10 ⁷	68,2%	2,2x10 ⁷	0	100%	2,1x10 ⁷	0	100%
	<i>Clostridium spp.5</i>	2,1x10 ⁷	1,2x10 ⁷	60%	2,2x10 ⁷	0	100%	2,2x10 ⁷	0	100%

M.O.: Microorganismos
UFC: unidades Formadoras de colonias

Se sabe que la radiación no ionizante de las microondas genera condiciones hipertérmicas que interrumpen los procesos vitales. Esta acción de calentamiento afecta a las moléculas bipolares como el agua e interfieren en las membranas celulares; la temperatura es más baja que la del vapor convencional (autoclave) y el ciclo es más rápido (Kohn's, 1998).

Las microondas tienen la propiedad de hacer vibrar las moléculas de los cuerpos que atraviesan, calentándolos. Las moléculas actúan como barras magnéticas tratando de orientarse o polarizarse ellas mismas bajo la acción del campo electromagnético. El campo de radiación no ionizante cambia de sentido con una frecuencia de entre 10 y 60,000 Mhz (millones de veces por segundo) causando la fricción interna entre las moléculas lo cual da lugar al calentamiento (García, 1983), lo anterior explica el mecanismo de acción de la radiación ionizante sobre los microorganismos del presente estudio.

Si tenemos en cuenta los procedimientos de esterilización, el tiempo mínimo requerido de exposición usando vapor a presión o autoclave es de 15 minutos para eliminar a las bacterias (Kohn's, 1998) y hongos (Giral y Javierre, 1989), pero en el caso de las esporas del *Clostridium*, se requiere de un período de 20 minutos (Carter y Chengappa, 1990). En cuanto al calor seco, éste requiere al menos 45 minutos para actuar en forma efectiva. Otro aspecto a considerar al usar calor seco es el deterioro que presenta el material de gasa en su estructura. En el caso de la ebullición, su empleo no es práctico para esterilizar material de fibra de algodón por la elevada humedad que se requiere, afectando la utilidad y funcionalidad de la gasa y en cuanto al formaldehído, el tiempo recomendado de duración del proceso es de 36 horas a temperatura ambiente (OPS, 1983).

Según Kohn's (1998), el periodo de esterilización por microondas es solo de 30 segundos, lo cual es significativamente

menor comparado al tiempo usado en otros métodos. Al igual que lo observado en el presente trabajo, la eliminación de la mayoría de microorganismos en el material de gasa se logra a partir de los 30 segundos, excepto para *Clostridium spp*, el cual necesita un tiempo de 60 segundos.

El efecto de la exposición de las ondas electromagnéticas sobre los microorganismos no necesitó ser corroborado con ningún modelo estadístico puesto que los resultados fueron positivos y al no haber recuperación de microorganismos después de efectuada la prueba se dio una efectividad del 100%.

Otro de los beneficios del uso del horno microondas se refiere al bajo consumo de energía, el mismo que representa un 7.8% de ahorro de costo por tiempo de exposición en relación con el autoclave, que es el procedimiento de esterilización más usado.

Como no existen mayores trabajos sobre los usos de las ondas electromagnéticas, sería conveniente realizar estudios empleando paquetes que contengan mayor cantidad de gasa (200 y 300 gs), y campos quirúrgicos así como otro tipo de material de cirugía para determinar el uso de este método en el proceso de esterilización de diversos tipos de materiales de cirugía, aunque debido a la eficacia presentada en este trabajo, de las ondas electromagnéticas de alta frecuencia en la esterilización de material de gasa de 100 g y las ventajas que presenta sobre los métodos de esterilización en tiempo y costos tanto de equipos como de uso, consideramos su empleo como una alternativa para la eliminación de microorganismos que infectan dichos materiales y que constituyen un serio problema para la salud de los animales.

CONCLUSIONES

La exposición directa a ondas electromagnéticas de alta frecuencia (microondas) por 30 segundos a 1000 watts de potencia mostró una efectividad del 100% en la esterilización de material de fibra de algodón (gasa) previamente inoculados por separado con *E. coli*, *Staphylococcus spp*, *Pseudomonas spp* y *Aspergillus flavus* mientras que la efectividad del 100% contra *Clostridium spp*. se observó a partir de los 60 segundos.

El método de esterilización de gasa empleando el horno microondas es práctico, rápido y más económico que los métodos convencionales.

BIBLIOGRAFIA

Alexander, A.H. (1989). Técnica quirúrgica en animales y temas de terapéutica quirúrgica. México, Interamericana. pp. 77-81.

Alvarez, C.I, Mendoza, E.E (1990). Manual básico de bacteriología México, UNAM. pp.20-30.

Astigarraga U.J y Astigarraga. O.J. (1995). Hornos de alta frecuencia y microondas. Segunda Edición. España. pp.7-9.

Carter, G.R, Chengappa, M.M.(1990). Bacteriology and mycology veterinary. Second Edition. pp. 201-271.

García, T.G. (1983). Microondas. Primera Edición. México. pp. 13-18.

Giralt, P.J; Javierre, J.J. (1989). El problema de la Contaminación fungia en la industria de piensos. 2 Edición Editorial Lucta, España. pp.13-36.

Harari, J. (1993). Surgical complications and wound healing in the small animal practice. Washington, W.B. Saunders Company. pp. 279-286.

Kohn's, B.J (1998). Técnicas de quirófano. Octava edición. Madrid. pp. 207-224.

OPS (1983). Manual de técnicas básicas para un laboratorio de salud publica científica N° 439 Washington DC. pp. 33-38.