

PLACAS DE PETRI

(ESTERILIZACION DE PLACAS DE PETRI PLASTICAS CON GAS FORMALDEHIDO)

Claudia Hidalgo Quesada M.Q.C.
María Eugenia Delgado Picado M.Q.C.**

Carmen Fernández Montoya M.Q.C.
Mercedes Alfaro Quesada M.Q.C.**

INTRODUCCION

El formaldehído ha sido usado como agente esterilizante desde principios de siglo y diferentes autores han demostrado su efectividad en la esterilización superficial de objetos termolábiles, (4, 6, 9). Posteriormente fue introducido un nuevo esterilizante gaseoso, el óxido de etileno, que sustituyó al gas formaldehído casi totalmente (5). Sin embargo el costo del óxido de etileno y el equipo necesario para su adecuada utilización son muy elevados. Con el formaldehído gaseoso se eliminan algunas de esas desventajas, ya que sólo se requiere una cámara donde entra el gas y un calentador para despolimerizar el p-formaldehído, compuesto sólido de donde se obtiene el gas. Como el formaldehído tiene bajo poder penetrante es necesario establecer además un sistema de vacío, y suministrar alta humedad relativa dentro de la cámara de esterilización (7). Una aplicación práctica de lo anterior es el uso del formaldehído gaseoso en la esterilización de placas de petri plásticas, que como no resisten el calor húmedo ni seco se acostumbra deshecharlas una vez que han sido utilizadas. Este proceso permite la reutilización de estas placas lo cual indudablemente representa un considerable ahorro para los laboratorios microbiológicos.

MATERIALES Y METODOS

Microorganismo de prueba: Se usaron controles biológicos de *Bacillus subtilis* variedad *globigii*

pues sus esporas son altamente resistentes a condiciones adversas del medio.

Generador de gas: El p-formaldehído se despolimerizó, calentando el polvo en una plantilla eléctrica que funciona termostáticamente a 232 °C (7).

Cantidad de p-formaldehído: Después de varias pruebas (Ver tabla de resultados) se escogió una cantidad de 2 gramos de polvo para un volumen de 1 pie cúbico de la cámara (2.700 m³).

Cámara: Se empleó un autoclave en desuso de 27.5 cms. de diámetro y 67 cms. de profundidad.

Humedad relativa: Se usó una solución saturada de sulfato de amonio, que en un sistema cerrado produce una humedad relativa de 80o/o, pues para que el sistema funcione la humedad relativa debe ser mayor del 60o/o (7). Además se introdujo vapor de agua.

Vacío: Se usó una bomba de vacío y se aplicaron de 35 a 50 cms. de mercurio (15 1 18 pulgadas de mercurio). En este experimento tuvimos que modificar ciertas variables con relación a los trabajos revisados para conseguir la esterilización de las placas. La razón de estas modificaciones las explicamos en las conclusiones.

1. La cantidad de p-formaldehído: Se probó con 1.3 g, 1 g, y 2 g por volumen de la cámara (g/pie³) y se escogió la última cantidad como óptima.

2. El tiempo de esterilización: Se ensayó períodos de 4, 6 y 24 horas de contacto del gas

formaldehído con las placas. Se escogió el contacto por 24 horas.

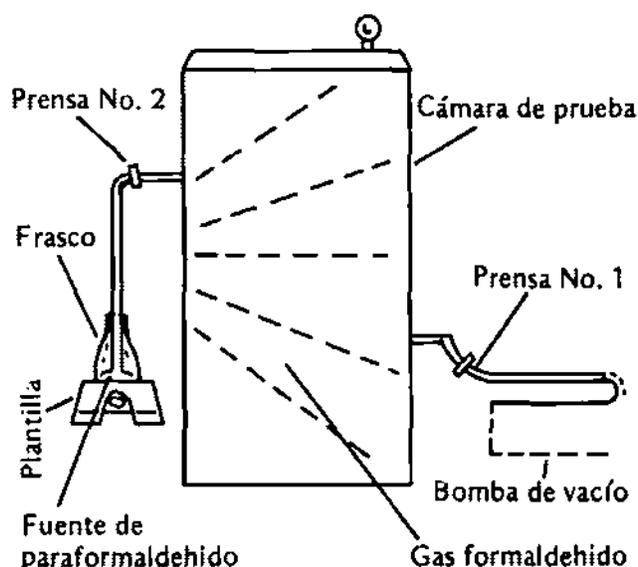
3. Vapor de agua: Se probó el sistema por duplicado dejando todas las condiciones constantes, en cuanto a tiempo de esterilización y cantidad de p-formaldehído, pero introduciendo en uno de los ensayos vapor de agua, a partir de agua en ebullición.

4. Período de aireamiento: En nuestro experimento, 24 horas de aislamiento fueron suficientes para eliminar los residuos de gas.

PROCEDIMIENTO PARA ESTERILIZACION DE PLACAS PLASTICAS

1. Descontaminar las placas usadas introduciéndola en una solución al 10o/o de formalina en agua por 24 horas, quitarles el agar y lavarlas cuidadosamente con agua y jabón. 2. Dejar que escurran para posteriormente envolverlas y acomodarlas dentro de la cámara. 3. Montar el esquema de la figura número 1, introduciendo una solución saturada de sulfato de amonio (53.1) y cerrar herméticamente. 4. Conectar lá cámara a la bomba de vacío y aplicar vacío hasta 18 pulgadas de mercurio. 5. Calentar los dos g de p-formaldehído según el esquema y dejar que el polvo se volatilice por completo. En este punto puede introducirse vapor de agua como fuente de humedad. 6. Cerrar el sistema y desconectar la bomba de vacío. 7. Dejar las placas en contacto con el gas por 24 horas, luego sacar la carga y airearlas por 24 horas. 8. Montar un control de esterilidad.

ESQUEMA No. 1



RESULTADOS

TABLA No. 1

INHIBICION DEL CRECIMIENTO DE B SUBTILIS

Período de Contacto	Gramos de paraformaldehído/pla ³					
	0.3 g		1.0 g		2.0 g	
	S.V.	C.V.	S.V.	C.V.	S.V.	C.V.
4 horas	+	+	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
6 horas	+	+	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
24 horas	+	+	+	+	-	-

SIMBOLOGIA:

(+): Crecimiento en caldo tripticase - soya

(-): No se observó crecimiento

S.V.: Ensayo sin usar vapor de agua

C.V.: Ensayo introduciendo vapor de agua

N.R.: No se realizó el ensayo bajo esas condiciones, sino que se aumentó el período de contacto.

DISCUSION

Los resultados presentados muestran que las placas de plástico pueden esterilizarse con gas formaldehído obtenido a partir del compuesto sólido p-formaldehído. Se observa como el éxito de la esterilización depende de la cantidad de p-formaldehído, de la humedad relativa, del vacío y tiempo de exposición. Esos factores deben considerarse muy bien cuando se establece el protocolo para la descontaminación para sí asegurar la efectividad del procedimiento. El factor más crítico es la introducción de vacío en el sistema, debido al escaso poder de penetración del gas formaldehído. En cuanto a la cantidad de p-formaldehído usada, es importante resaltar que los cálculos no coincidieron con los de otros autores (7), pues mientras ellos lograron buenos resultados con 0.3 g por pie cúbico de capacidad, en nuestro caso fue necesario aumentar la cantidad hasta 2.0 gramos suponemos que esto se debió a deficiencias en el sistema de cierre hermético o a la forma de introducir el formaldehído sin una condición especial. Como se aprecia en la tabla de resultados, con 2.0 g por pie, se logró esterilizar bajo dos condiciones: con vapor de agua y sin éste, lo que pudo haberse a que la solución de sulfato de amonio que se introdujo en todos los ensayos, dio en ambas condiciones la humedad necesaria (60o/o) o más). Por lo tanto

podemos concluir que la influencia del vapor de agua en el proceso no es importante si se utilizan 2 gramos de p-formaldehído, y que por el contrario complica técnicamente el sistema. En ausencia de la solución saturada de sulfato de amonio, es recomendable el uso de vapor de agua. En cuanto al período de aireamiento se escogieron 24 horas por la comodidad de las jornadas de trabajo y por la seguridad de que en ese tiempo se eliminen los residuos del gas, lo cual se prueba montando controles de bacterias. Utilizamos tres controles: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, y *Pseudomonas* las cuales se sembraron por duplicado en platos de vidrio estériles y de plástico esterilizados por el método en estudio. Es necesario este período de aireamiento pues los residuos de gas son irritantes para las personas y pueden ejercer un efecto inhibitorio residual sobre el crecimiento de bacterias hasta por más de una semana dándole falsa impresión antes de ese plazo, que la esterilización tuvo éxito. El sistema tiene ventajas y desventajas, según las circunstancias en que se aplique; como ventajas está el bajo costo del esterilizante, el tratarse de un sistema fácil de montar, no necesita personal especializado y garantiza la reutilización a largo plazo de las placas de petri plásticas, que luego de 24 horas de aireamiento ya pueden reusarse. Consideramos desventajas: a. El uso indispensable de vacío, pues requiere un aparato relativamente costoso. b. El período prolongado de contacto con el gas formaldehído en comparación con el óxido de etileno. c. El olor irritante del gas formaldehído. El funcionamiento de este sistema de esterilización permitirá el ahorro en la compra de placas de petri plásticas, que por un largo tiempo se someterán a ciclos de uso, descontaminación y reutilización como sucede con las de vidrio. Como son lábiles al calor solo pueden esterilizarse con sustancias gaseosas y el formaldehído resultante de la despolimerización del p-formaldehído es mucho más barato que el otro esterilizante de elección para artículos de plástico, que es el gas óxido de etileno. Además el método puede llevarse a zonas alejadas del país, pues es fácil adoptar un recipiente hermético como cámara, ya sea un autoclave en desuso o un estufa que selle correctamente.

RESUMEN

Se describe un método para la esterilización gaseosa de placas de petri plásticas usando gas formaldehído obtenido a partir de p-formaldehído. Existe una serie de variables para el éxito del proceso como son la aplicación de vacío, el tiempo de exposición de las placas al gas, la humedad

relativa y la concentración del gas dentro de la cámara de esterilización. El procedimiento es sencillo y emplea un equipo mínimo, por lo que podría efectuarse en la mayoría de laboratorios bacteriológicos.

SUMMARY

We describe a method for the gaseous sterilization of plastic petri plates that uses formaldehyde gas that has been obtained from p-formaldehyde. There are a series of variables necessary for the success of this method such as the use of vacuum, exposure time of the to the gas, relative humidity and gas concentration within the sterilization chamber. The procedure is simple and has the advantage of using little equipment, therefore, it could be performed in most bacteriological laboratories.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Braswell, J.R., Spiner, D.R., Hoffman, R.K. Adsorption of formaldehyde by various surfaces during gaseous decontamination. *App. Micr.* 20 (5): 765 - 769, 1970.
- 2.- Lawrence, C.A., Block, S.S. *Desinfection, Sterilization, and Preservation Philadelphia Lea and Febiger, 1968. pp. 670 - 671.*
- 3.- Mc. Culloch, E. C. *Desinfection and Sterilization. Philadelphia, Lea and Febiger, 1945. pp. 327-325.*
- 4.- Philleps, C.R. Gasewus sterilization. In C.A. Lawrence, S.S. block (ed), *Desinfection, Sterilization, and Preservation. Philadelphia, Lea and Febiger, 1968. pp. 669 - 685.*
- 5.- Schley, D.G., Hoffman, R.K. Phillips, C.R. Simple improvised chambers for gas sterilization with ethylene oxide. *App. Micr.* 8:15 - 19, 1960.
- 6.- Sweet, H. C. Surface decontamination in an autoclave chamber with formaldehyde gas. *App. Micr.* 22 (2): 250 - 251, 1971.
- 7.- Taylor, L.A. Barbeito, M.S., Gremillion, G.G. Paraformaldehyde for surface sterilization and detoxification. *App. Micr.* 17: 614 - 618, 1969.
- 8.- The Merck Index. U.S.A. Merck CO. pp MISC 66 - 67, 1976.
- 9.- Walker, J.F. *Formaldehyde. New York, 1953. Reinhold Publishing Corp.*