

# ESTERILIZACIÓN

■ Manolo Villoria, Ingeniero de Industria Farmacéutica, y Mercedes Palacios, Ingeniera Naval y Directora Zona Centro, ELUR

Cada día somos más conscientes de la necesidad de cuidar nuestro entorno y es por ello, que se hace necesario gestionar correctamente todos los residuos que generamos

## Sistemas de acondicionamiento de efluentes biológicos por calor

La normativa demanda que se recicle el papel, el plástico, el vidrio, las pilas... e independientemente de la actividad a desarrollar (industrial, bioseguridad, farmacéutica, hospitalaria, química, I+D...), las industrias generan a diario residuos líquidos que pueden ir contaminados con diferentes sustancias o microorganismos que son perjudiciales para el medio ambiente y no pueden, ni deben ser vertidos a la red de desagüe.

Las preguntas que se plantean son: ¿qué hacer con estos líquidos?, ¿cómo tratarlos?, ¿cómo manipularlos?, ¿dónde verterlos?

Una vez generado el residuo líquido se puede proceder según una de las siguientes alternativas:

- Contratar un servicio especializado, que recoja estos residuos y los trate, con un coste que dependerá de la contaminación y del volumen generado.
- Disponer de un sistema de tratamiento "in situ" que permita eliminar cualquier sustancia perjudicial e incluso adecuar su pH y verterlos a la red de desagüe.

Conocedores de la necesidad existente de disponer de un equipo que pueda tratar estos residuos líquidos de forma adecuada y segura, teniendo en cuenta la independencia que esta segunda opción genera, hemos diseñado y construido una instalación para el acondicionamiento de los efluentes líquidos en el mismo lugar de su generación, de forma que se minimicen tanto los costes de su tratamiento como los riesgos de su manipulación.

### La legislación

Los residuos biológicos pueden ser dañinos para las personas en grado muy diverso por lo que existe una estricta regulación que cubre las prácticas a seguir tanto en el

### ESTERILIZACIÓN ES EL PROCESO FÍSICO O QUÍMICO QUE DESTRUYE O ELIMINA ORGANISMOS VIVOS

diseño de las instalaciones, como en la autorización de su utilización. Esta regulación comienza con la clasificación de los riesgos biológicos y cubre las actividades de construcción y manejo de microorganismos vivos, cultivos celulares y moléculas de ADN recombinante, así como los organismos y virus que los contengan.

En los Estados Unidos los dos organismos que controlan las emisiones de los residuos biológicos son la EPA (Environmental Protection Agency) y la OSHA (Occupational Safety and Health Administration).

La validación de un sistema de descontaminación de residuos líquidos cae bajo la jurisdicción de la EPA siguiendo las directrices establecidas por los NIH (Nacional Institutes of Health), cuyas guías han determinado los requerimientos de manejo de los residuos biológicamente activos en las industrias biológica y farmacéutica.

En España, el RD 664/1997, de 12 de mayo, traspone las Directivas 90/679/CEE, de 26 de noviembre, 93/88/CEE, de 12 de octubre y 95/30/CE, de 30 de junio y determina la protección frente a los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos. En el Anexo V se realizan las siguientes indicaciones relativas a las medidas de contención según los niveles requeridos:

- Los efluentes de fregaderos y duchas deberán recogerse e inactivarse antes de su liberación. Este requerimiento es facultativo para el nivel de contención 3 y obligatorio en el 4.
- Tratamiento de los efluentes antes de su

vertido final: inactivación por medios de eficacia probada, para todos los niveles.

### La aplicación

Hay que hacer la salvedad de que debe extenderse el alcance de la recogida y tratamiento de los efluentes a todos aquellos lugares en los que existan líquidos potencialmente contaminados tales como los posibles drenajes de las cabinas de seguridad, los correspondientes a las bombas de anillo líquido de los autoclaves o de los condensadores de gases de los liofilizadores, etc.

También hay que valorar si se conecta al sistema de inactivación los efluentes que proceden directamente del proceso, por ejemplo, las aguas madres de las fermentaciones o las procedentes de los ciclos de limpieza "in situ".

Una vez que los efluentes han sido recogidos y almacenados el paso siguiente es la desactivación de su actividad biológica o dicho en otros términos su esterilización.

### La esterilización

Un modelo generalmente aceptado de la cinética de la muerte de una población de microorganismos sometidos a una acción letal, es el que establece que su disminución en el tiempo es proporcional a su número:

$$-dN/dt = KN$$

donde

N es el número de microorganismos

t es el tiempo

k es la constante de proporcionalidad

o integrando entre:

$$L(N/N_0) = -kt$$

de donde

$$N = N_0 \cdot e^{-kt} = N_0 \cdot 10^{-kt}$$

donde  $N_0$

es el número inicial de microorganismos

$k=2,3$ . K

Esterilización por	Mecanismo	Variable crítica	Pros y contras
Calentamiento	Desnaturaliza irreversiblemente las moléculas de cualquiera de las enzimas esenciales para la germinación o el crecimiento o bien el gen de una enzima esencial.	Temperatura y tiempo	Tecnología bien conocida y fácil de validar
Radiación de luz	La luz de 250-280 nm daña el DNA de modo proporcional a la dosis. No tiene gran poder de penetración	Energía de radiación y tiempo	Uso solo para superficies
Radiación ionizante	Producen gran número de rupturas en la cadena del DNA. También se producen moléculas ionizadas que dan lugar a formas tóxicas	Energía de radiación y tiempo	Uso solo para superficies
Agentes químicos	Producen la muerte de los organismos viables por su capacidad de oxidar o alquilar. Suelen ser tóxicos o sensibilizantes.	Concentración y tiempo	Necesidad de etapa posterior de acondicionamiento químico

Tabla I

## ■ EXISTEN DIVERSOS MÉTODOS DE ESTERILIZACIÓN: POR CALENTAMIENTO, POR RADIACIÓN DE LUZ, POR RADIACIÓN IONIZANTE O POR AGENTES QUÍMICOS

Como puede observarse, el número de microorganismos en tiempos finitos no es nunca cero. Esto nos conduce a la definición de esterilización de ISO 11139: 2006 (1) como: "Esterilización es el proceso físico o químico que destruye o elimina organismos vivos."

Esta afirmación no puede ser considerada como un absoluto, dado que la acción de la esterilización debe expresarse en términos de probabilidad de supervivencia de una cantidad conocida de un microorganismo específico.

Existen diversos métodos de esterilización: por calentamiento, por radiación de luz, por radiación ionizante o por agentes químicos. Cada uno de ellos tiene unas ventajas e inconvenientes que les hacen más aptos para distintas aplicaciones. Por supuesto, cada uno de ellos, si bien consigue el mismo efecto deseado: la esterilización, utiliza un mecanismo y una variable crítica diferente.

En la Tabla I se describen los conceptos teóricos que determinan los sistemas de esterilización térmica y los puntos clave de su diseño.

### La instalación

El desarrollo de un proceso de esterilización térmica debe fundamentarse en una

serie de conceptos. Iniciamos nuestra exposición con la definición de los términos empleados:

**SAL (Sterility Assurance Level):** Es el valor de la probabilidad de que un microorganismo viable sobreviva en el medio después del proceso de esterilización.

**Valor D:** También llamado tiempo de reducción decimal, es el tiempo en el que a una temperatura dada se tarda en reducir la población inicial a un 10% del valor inicial.

**Valor Z:** Es el incremento de temperatura necesario para que el valor D cambie en un orden de magnitud.

**Valor F<sub>0</sub>:** Es el tiempo en minutos necesario para destruir un determinado número de microorganismos cuando el valor Z es de 10 °C (50° F) y la T<sup>a</sup> es de 121,1 °C (250° F).

Para continuar con el proceso debemos responder a una serie de cuestiones:

*¿Cómo es en términos cuantitativos y cualitativos, la contaminación del medio a esterilizar?*

La respuesta nos indicará el número previo de organismos existentes, los tipos de organismos, su capacidad de formar esporas y por lo tanto su resistencia al proceso.

*¿Qué efecto tiene el medio en la carga contaminante antes de la esterilización?*

No todos los medios afectan por igual a su contaminación, los hay que promueven el crecimiento mientras otros son alternati-

Tiempo de exposición a 121°C en minutos	Numero de microorganismos viables	SAL
0,0	1,E+10	No estéril
1,7	1,E+09	No estéril
3,4	1,E+08	No estéril
5,1	1,E+07	No estéril
6,8	1,E+06	No estéril
8,5	1,E+05	No estéril
10,2	1,E+04	No estéril
11,9	1,E+03	No estéril
13,6	1,E+02	No estéril
15,3	1,E+01	No estéril
17,0	1,E+00	No estéril
18,7	1,E-01	1 No estéril en 10
20,4	1,E-02	1 No estéril en 100
22,1	1,E-03	1 No estéril en 1000

Tabla II

Temperatura	Fo min.	Equivalencia a 121,1°C (250°F)
115°C	0,25	1 minuto a 115°C ↔ 0,25 min. a 121,1 °C
118°C	0,49	1 minuto a 118°C ↔ 0,49 min. a 121,1°C
120°C	0,78	1 minuto a 120 °C ↔ 0,78min. a 121,1°C
121°C	1,00	1 minuto a 121 °C ↔ 1 min. a 121,1 °C
122°C	1,23	1 minuto a 122 °C ↔ 1,23 min. a 121,1 °C
123°C	1,55	1 minuto a 123 °C ↔ 1,55 min. a 121,1 °C
124°C	1,95	1 minuto a 124 °C ↔ 1,95 min. a 121,1 °C
125°C	2,45	1 minuto a 125 °C ↔ 2,45 min. a 121,1 °C
127°C	3,89	1 minuto a 127 °C ↔ 3,89 min. a 121,1 °C
130°C	7,76	1 minuto a 130 °C ↔ 7,76 min. a 121,1 °C

Tabla III

vamente bacteriostáticos o bactericidas.

*¿Qué resistencia tiene la contaminación frente al proceso de esterilización?*

En otras palabras, se trata de conocer los valores N0 y D de cada tipo de microorganismo.

No siempre las respuestas a lo anterior son fácilmente deducibles, por lo que un camino alternativo es enfocarlo desde un punto de vista conservador y asumir "el peor caso" dando por hecho que la contaminación existente fuera del organismo más resistente a la esterilización térmica.

El *Bacillus stearothermophilus* es un formador de esporas bien conocido para la validación de procesos de esterilización y se acepta que es el más resistente de los existentes.

En este momento, ya estamos en condiciones de determinar los parámetros críticos del proceso, es decir la temperatura y el tiempo.

La temperatura será la utilizada en la definición del valor D del organismo en cuestión y que puede encontrarse en la bibliografía o en los certificados de análisis de los indicadores biológicos comerciales.

# ESTERILIZACIÓN

## LA ESTERILIZACIÓN EN CONTINUO PRESENTA VARIAS VENTAJAS FRENTE A LA INSTALACIÓN DE ESTERILIZACIÓN EN BATCH DE IGUAL CAPACIDAD

El tiempo del ciclo estará determinado por el número inicial de microorganismos y por el SAL, nivel de aseguramiento de la esterilidad deseado.

Planteemos un ejemplo práctico, por ejemplo si:

- el valor D a 121 °C del bacillus stearothermophilus es de 1,7 minutos
- partimos de un bioburden de 1010
- queremos un SAL de 10-3

Para esterilizar el medio se debe someter a una temperatura de 121°C durante un tiempo de:

$$t = D \cdot \log(\text{carga/SAL}) = 1,7 \cdot (10+3) = 22,1 \text{ minutos}$$

Esto se ilustra en la Tabla II

A partir de la tercera definición, podemos establecer la fórmula:

$$F = t \times 10^{(T-121)/z}$$

que nos permite calcular el tiempo necesario para conseguir el SAL deseado a otras temperaturas distintas de los famosos 121,1 °C.

La variación del tiempo de esterilización con la temperatura se ilustra en la Tabla III

Si se elige trabajar a 125°C el tiempo necesario para reducir una contaminación de 1010 microorganismos a 10-3 el tiempo inicial de 22,1 minutos queda reducido a 9 minutos.

Existen un par de consideraciones de tipo práctico que es conveniente no olvidar:

- La primera es la importancia de la correcta calibración de la instrumentación de medida y control de la temperatura. En efecto, un error absoluto de 1°C en la medida (un error relativo cercano al 1%) tiene como consecuencia una variación de la letabilidad próxima al 25%.
- La segunda es la variación de la presión de vapor del agua con la temperatura.

Las figuras IV y V indican los dos modos de esterilización térmica más empleados: la esterilización por lote (batch) y la esterilización en continuo.

En la primera de ellas, **esterilización en batch**, una vez que se alcanza el volumen de efluentes deseado, se trasvasa su contenido al tanque de procesamiento, donde se lleva a cabo el calentamiento del líquido por medio del paso de vapor por la camisa

del tanque o fluyendo a través de él, por medio de ambos procedimientos. También es posible la utilización de un calentador eléctrico.

Sistema de esterilización en batch. Figura IV

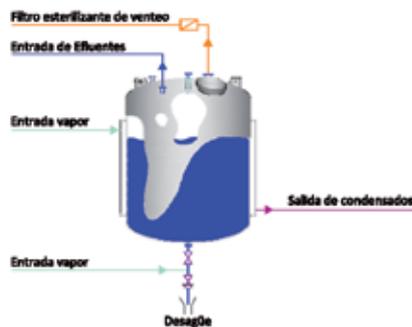


Figura IV

La curva de subida de la temperatura será de:

- tipo exponencial en el caso de vapor por camisa  $T = T_0 (1 + b \cdot e^{at})$
- tipo lineal en el caso de calentador eléctrico  $T = T_0 (1 + at)$
- tipo hiperbólico en el caso de vapor fluyente  $T = T_0 (1 + at / (1 + ct))$

Después se mantendrá la temperatura constante durante un tiempo determinado procediéndose a continuación a su enfriamiento antes de su vertido a la red pública.

La curva de enfriamiento será de tipo exponencial

$$T = T_0 (1 + b \cdot e^{-at})$$

Sistema de esterilización en continuo. Figura V

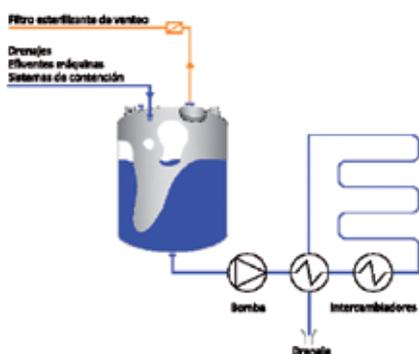


Figura V

En la **esterilización continua** que hemos diseñado, la curva de subida de la temperatura tiene un primer escalón de tipo expo-

nencial debido al primero de los intercambiadores y un segundo tramo cuyo perfil depende del tipo de calentador utilizado (lineal si es una resistencia eléctrica o hiperbólico si se inyecta directamente vapor). El tiempo de permanencia a la temperatura deseada se consigue haciendo fluir el caudal del efluente por un serpentín del volumen dado y donde el tiempo de permanencia vendrá determinado por el cociente entre el volumen del serpentín y el caudal que circule por él.

Comparando ambos sistemas se puede demostrar fácilmente que el de **esterilización en continuo**, frente a una instalación de **esterilización en batch** de igual capacidad presenta las siguientes ventajas:

- ocupa una superficie de planta menor.
- tiene una menor potencia instalada en kw por kg de líquido procesado.
- tiene un menor consumo de energía en kwh por kg de líquido procesado
- la superficie radiante es menor, por lo que el coste de calorifugado también se reduce y existen menores pérdidas térmicas.
- menor tamaño/peso de acero inoxidable.

ELUR ha desarrollado una instalación de acondicionamiento de efluentes líquidos que cumple los requerimientos de vertido a la red pública de pH, temperatura y ausencia de contaminación biológica. Se han considerado, además, los criterios necesarios para poder documentar con trazabilidad el tratamiento del residuo y se facilitan las labores de control y mantenimiento con programas para la limpieza de la instalación, siendo posible la visualización del proceso de forma continua mediante la implementación en el sistema SCADA de la planta.



Figura VI

En la Figura VI se muestra una fotografía de un equipo capaz de procesar 150 l/h de modo completamente automático y con los sistemas de control más avanzados que garantizan su correcto funcionamiento y capacidad de demostrar la calidad de los vertidos.

Tratamiento por rayos gamma Co-60

# Dedicados al servicio de la irradiación

**Método efectivo**  
**Fácil de monitorizar**  
**No precisa cuarentena**  
**Rápido y fiable**  
**Esterilización final**  
**Ausencia de residuos**

**La primera empresa española en tratamiento por rayos gamma.**

**Desde 1970.**

Autorizaciones:  
4824PS  
NCF: 4156-E  
RSIPAC B-001/05

Certificación:  
ISO 13485:2003

Productos sanitarios

Productos farmacéuticos

Productos cosméticos

Productos alimentarios

Investigación (polen, electrónica,...)

La única planta industrial de tratamiento por rayos gamma de Co-60 en España



**Aragogamma, S.A.**

Crta. de Granollers-Cardedeu, Km. 3,5  
08520 Les Franqueses del Vallés  
Barcelona  
+34 93 849 66 39

Oficinas: Salvador Mundi, 11  
08017 Barcelona  
+34 93 204 97 03  
[www.aragogamma.com](http://www.aragogamma.com)  
[info@aragogamma.com](mailto:info@aragogamma.com)