

# Indicadores Biológicos

---

**Mitos y realidad**

**Sandra Riveros C.**

# Objetivos

---

- Conocer la historia de los IB.
- Conocer que es el SAL, valor D.
- Importancia de los indicadores.
- Fabricación de los IB
- Fallas de los IB.

# Historia de los IB

---



1900

Botulismo

# Análisis de los tarros



# *Valor D*

---

- Desde 1906 a 1921 fue un período importante en la comprensión de la esterilización.
- Durante este período la industria conservera desarrolló un concepto fundamental en la esterilización: el *valor D*.

# Valor D



- Tiempo que demora en eliminar al 90% de los microorganismos.

121°C



134°C

# Validación

## Destrucción de bacterias

Minuto	Bacteria viva principio minuto	Bacteria destruida en un minuto	Bacteria viva final minuto	Logaritmo sobrevivientes
Primero	1,000,000	900,000	100,000	5 $[10^5]$
Segundo	100,000	90,000	10,000	4 $[10^4]$
Tercero	10,000	9,000	1,000	3 $[10^3]$
Cuarto	1,000	900	100	2 $[10^2]$
Quinto	100	90	10	1 $[10^1]$
Sexto	10	9	1	0 $[10^0]$
Séptimo	1	0.9	0.1	-1 $[10^{-1}]$
Octavo	0.1	0.09	0.01	-2 $[10^{-2}]$
Noveno	0.01	0.009	0.001	-3 $[10^{-3}]$
Décimo	0.001	0.0009	0.0001	-4 $[10^{-4}]$
Onceavo	0.0001	0.00009	0.00001	-5 $[10^{-5}]$
Doceavo	0.00001	0.000009	0.000001	-6 $[10^{-6}]$

Caso Teórico, basado en la hipótesis de cuando una suspensión de 1 millón de bacteria por milímetro es expuesta a la influencia de esterilización, 90% de organismos serán destruidos en cada minuto de exposición

## CERTIFICATE OF PERFORMANCE

*Geobacillus stearothermophilus* (*Bacillus stearothermophilus*) ATCC 7953

**LOT**

217107



2011-11

**Population:  $2.8 \times 10^6$  CFU/carrier**

(Population determination is performed after a preliminary heat treatment.)

### **Performance Data (BIER Vessel)**

Parameter <sup>†</sup>	Value
Test D-value (50° C)	1.06 seconds
Survival Time	5 seconds
Kill Time	60 seconds

**LOT**  2013-03DS

\*Population (mean/strip)=  $1.1 \times 10^6$  C.F.U.  
\*\*Test D-value (121°C): 1.9 min.  
\*\*Survival Time: 7.68 min.  
\*\*Kill Time: 19.08 min.  
\*\*Z-value: 10 °C.

34-8701-8499-0

\*Determined at time of manufacture. Population is reproducible only under the exact conditions under which it was determined.

\*\*Survival/kill is verified and D-value is determined in a resistometer with a gravity displacement cycle. D-values are determined by a fraction negative procedure after graded exposures to sterilization conditions. D-value is reproducible only under the exact conditions under which it was determined. Survival and Kill times tested according to ISO 11138 equations: Survival time (in minutes) = not less than  $(\log_{10} \text{ labeled population} - 2) \times \text{labeled D-value}$ ; Kill time (in minutes) = not more than  $(\log_{10} \text{ labeled population} + 4) \times \text{labeled D-value}$ .



Refer to package insert for complete instructions.

©3M 2008 All rights reserved.  
3M and Attest are trademarks of 3M  
34-8701-8462-8

ATCC is a registered trademark of American Type Culture Collection

# Fabricación de los IB

---

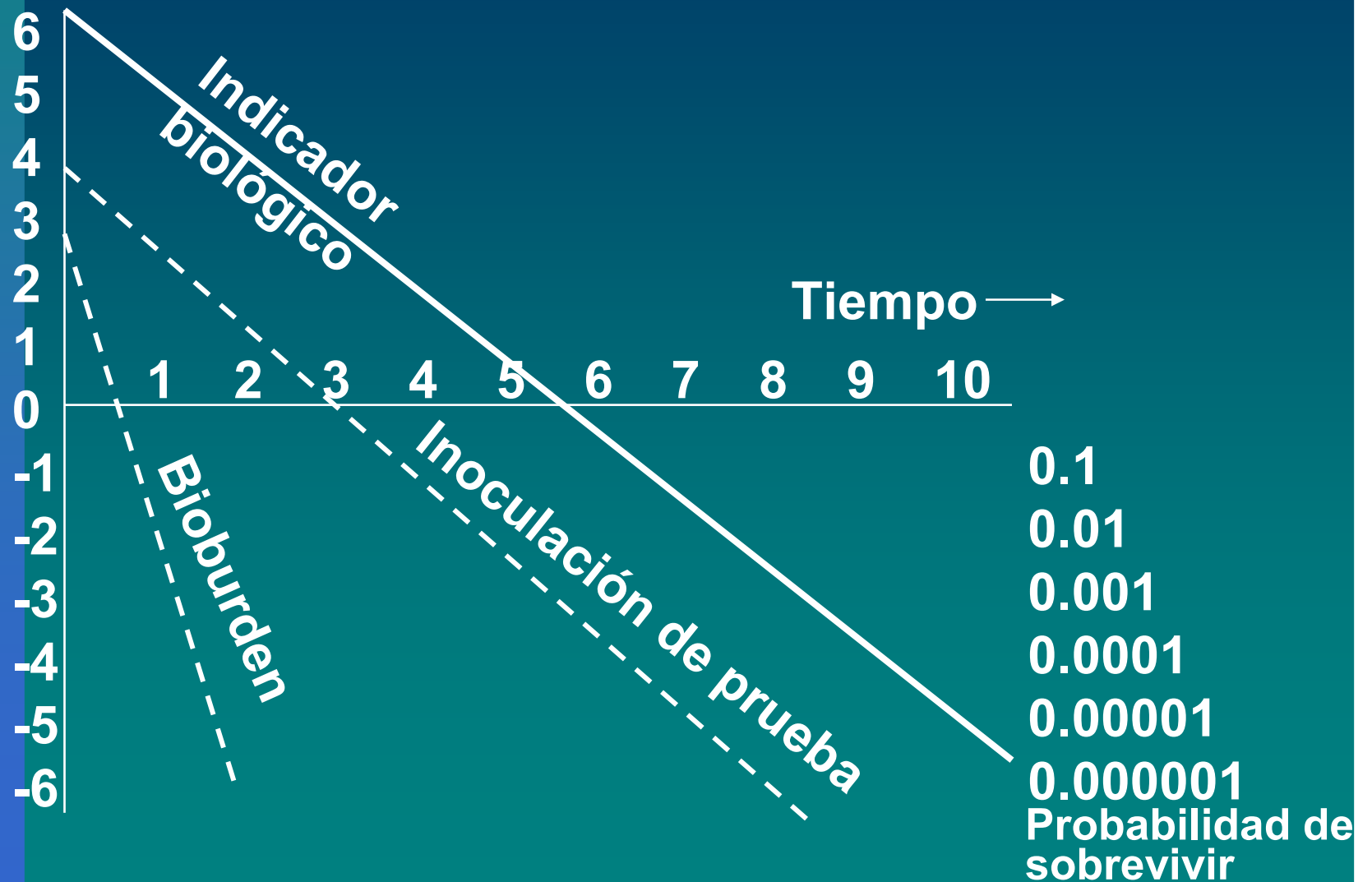
- Asumir que la carga microbiana es de  $10^6$  de la espora más resistente a morir con el sistema de esterilización.
- El test realizado en el sitio menos accesible.

# Diseño

---

- Documentación de eliminación de 6 log. en la mitad del ciclo.
- Documentación que un ciclo produce una probabilidad de supervivencia de 0.000001.

# Fracción que sobrevive



# Realidad

---

- La mayoría de los artículos médicos tienen una carga microbiana menor de  $10^3$ .
- Gastros copios sucio tiene una carga microbiana de  $10^8$  a  $10^9$ .
- La limpieza reduce la carga microbiana en 3 a 5 log.

- La carga microbiana está compuesta por bacterias vegetativas, virus, hongos, y una población de esporas menor a 0.1%, o ninguna.

# Resistencia de la población de las esporas bacterianas:

---

- Composición del medio de cultivo usado para el crecimiento y esporulación.
- La especie de la bacteria.
- Purificación de la cepa bacteriana.
- Estado de la spora (hidratada o seca)
- El empaque de las esporas.
- Estabilidad a través del tiempo.

- El indicador biológico representa un desafío microbiológico al proceso de esterilización para verificar la letalidad y para validar que el proceso tiene la habilidad de eliminar microorganismos con una resistencia conocida al método de esterilización.



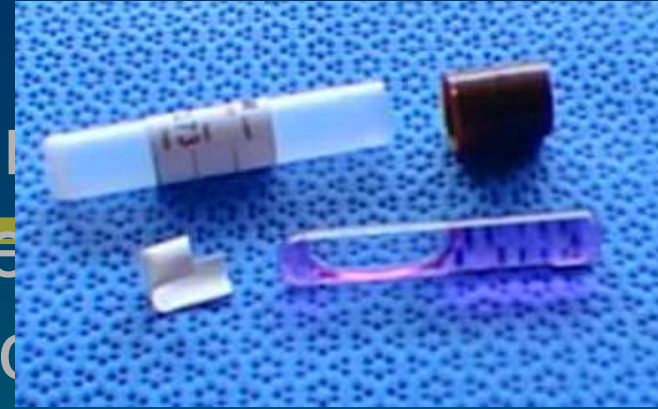
- Las esporas en sí no son el indicador biológico, la resistencia está dada por la suma de todos los componentes.

- Las esporas pueden estar en cualquier género, vidrio, metal, etc.

- Pueden tener forma de pastillas, cilindros

- pueden estar envueltas en glassine, sobres, viales de vidrio o ampollas.





- Las esporas pueden estar sobre papel, género, vidrio, metal, etc.
- Pueden tener forma de tiras, discos, pastillas, cilindros
- pueden estar envueltas en papel de glassine, sobres, viales de vidrio o ampollas.

# Control de rutina

---

- Indicadores químicos o biológicos son una indicación que un proceso de esterilización está bajo control.
  - Útil para validar o re-validar un proceso junto a un proceso total de validación.
  - Útiles como controles de rutina junto a sensores de parámetros u otros indicadores.
- Ningún indicador dice que la carga está estéril o que no está estéril.

# Mitos

---

- Existen esporas calibradas que sirven para definir procesos de esterilización.
- Existen procesos de esterilización definidos que sirven a calibrar esporas
- Un indicador biológico indica que la carga está estéril
- Un indicador biológico indica que se haya alcanzado un SAL de  $10^{-6}$

# La realidad

---

- Hay gran variabilidad en la sensibilidad de las esporas. Almacenamiento, los medios de cultivo, y otros influyen en el valor-D.
- Con gran esfuerzo se pueden cosechar cepas que responden de manera predecible bajo condiciones limitadas.
- La preparación de un indicador biológico es muy específico para un sistema o tipo de esterilización.

# La realidad

---

- Un indicador biológico indica solamente que las condiciones de esterilización se alcanzaron en el punto del indicador .
  - No puede evaluar el lavado de la carga, la preparación, o la penetración del esterilizante.

# La realidad

---

- Un indicador biológico negativo indica que un proceso eliminó una población de organismos mayor y más resistentes que las existentes en el instrumental correctamente preparado para esterilización.
  - Extrapolación a un SAL de  $10^{-6}$  requiere procesos de validación específicos.

# Información del fabricante

---

- Indicadores responden en una manera “predecible bajos condiciones limitadas”
  - Tipo de organismo y tipo de esterilización, población, resistencia, y método para determinar la resistencia - Fecha de vencimiento.
  - - Condiciones de almacenamiento, condiciones de uso y eliminación.
  - Nombre del fabricante (marca, FDA, CE)

## CERTIFICATE OF PERFORMANCE

*Geobacillus stearothermophilus* (*Bacillus stearothermophilus*) ATCC 7953

**LOT**

217107



2011-11

**Population:  $2.8 \times 10^6$  CFU/carrier**

(Population determination is performed after a preliminary heat treatment.)

### **Performance Data (BIER Vessel)**

Parameter <sup>†</sup>	Value
Test D-value (50° C)	1.06 seconds
Survival Time	5 seconds
Kill Time	60 seconds

# Acción y advertencias

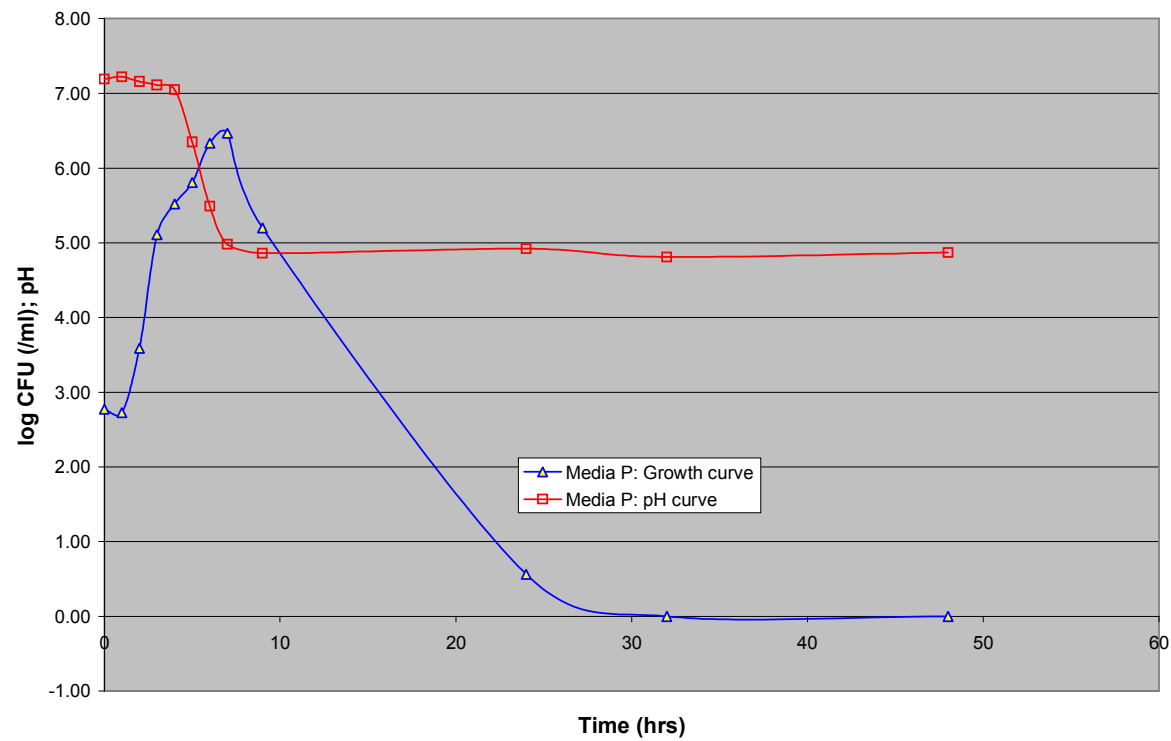
---

- Al aplastar la ampolla de medio de cultivo y poner el indicador a incubar a la temperatura correcta:
  - El metabolismo de organismos supervivientes produce desechos ácidos
  - Los ácidos indican cambio de color del medio de cultivo después de un periodo de incubación.



# Crecimiento

Growth/pH curve of Bst in Media A and P (Run 2- 48 hrs)



# Acción y advertencias

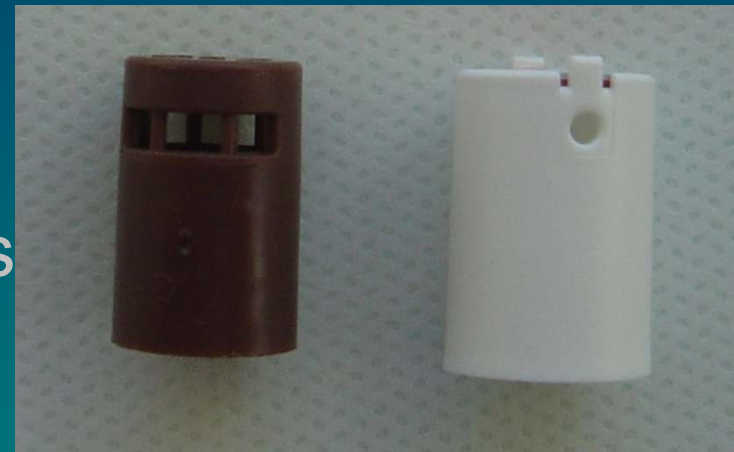
---

- Tiempo de incubación :
  - Mínimo: tiempo en que el 97.5-98% de positivos indican cambio de color en el medio de cultivo.
  - Máximo: tiempo en que el metabolismo puede revertir en alcalino y negar cambios de colores

# Diseño de un indicador auto contenido

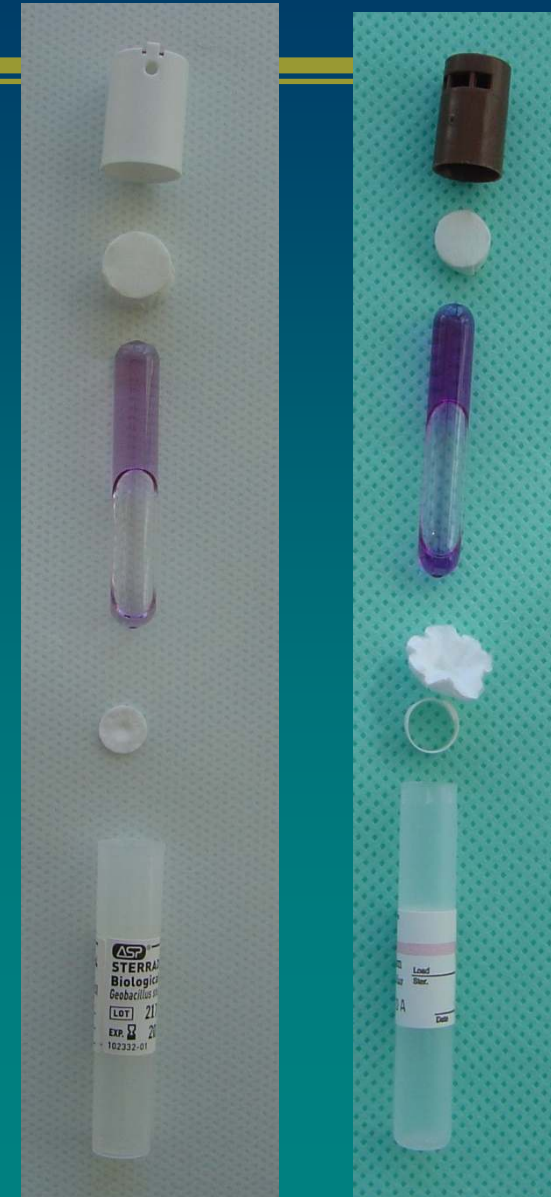
---

- Una tapa con resistencia al proceso específico
- Una barrera biológica.
- Una tira con organismos específicos.
- Un vial con medio de cultivo.
- Una tubo plástico externo.



# Diseño de un indicador auto contenido

- Una tapa con resistencia al proceso específico
- Una barrera biológica.
- Un vial con medio de cultivo.
- organismos específicos.
- Un tubo plástico externo.



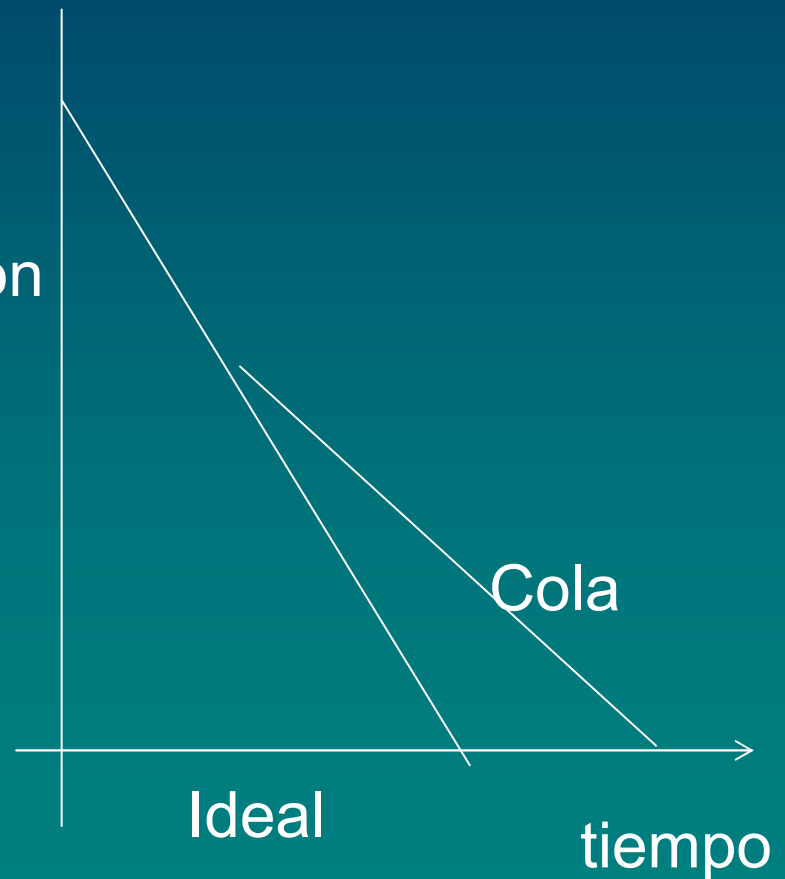
# Indicadores enzimáticos

---

- Una enzima encontrada en la espora se ata a un sustrato fluorescente.
  - alpha-D-glucosidase (3M)
- Destrucción del enzima (s) emula la muerte de la espora.
  - lectura rápida.

# Fallas

- Uso de medio de cultivo vencidos o incorrectos.
  - Pueden cambiar el valor D.
  - Pueden revitalizar una porción de la población de esporas
- Efectos
  - Falsos positivos o falsos negativos.
  - Colas de alta resistencia



# Otras fallas

---

- Incubación a la temperatura incorrecta.
- Uso de un indicador resistente dentro de otro empaque de desafío.
  - usar empaque de desafío del fabricante dentro de un empaque de desafío del hospital
- Contaminación:
  - Del indicador
  - Del medio de cultivo
- Almacenamiento incorrecto cerca de esterilizantes.

# Interpretación

- Usar controles antes de interpretar
- Control positivo:
  - Uno por prueba o uno por lote
  - Confirma viabilidad de esporas
  - Confirma incubación correcta
  - Confirma activación correcta
- Control negativo:
  - Incubación del medio de cultivo sin activar
  - Confirma la ausencia de contaminación del medio de cultivo



# IB positivo

---



- Confirme la preparación y activación del IB.
- Confirme los IQ y parámetros del ciclo.
- Tiempo y temperatura de incubación.
- Seguir las políticas de la institución.

# IB negativo

---



- Confirme la preparación y activación del IB.
- Confirme los IQ y parámetros del ciclo.
- Tiempo y temperatura de incubación.
- Seguir las políticas de la institución.

# Liberación paramétrica

---

- Sensores independientes a los sistemas de registro del esterilizador que monitorean etapas críticas del proceso.
- Permite liberar la carga sin el uso de IB.
- Requieren de validaciones de los ciclos.

- 
- El propósito de la esterilización es producir artículos estériles no un indicador biológico estéril.

# Conclusiones:

---

- El estado actual del conocimiento indica que el IB y los IQ por si solos, no aseguran que nuestra carga está estéril.
- Para que una carga sea considerada estéril, requiere de resultados combinados del control de la calidad de producción junto con los indicadores físicos, químicos y biológicos.

# Referencias

---

- Martin S. Favero, Developing indicators for monitoring sterilization.
- Francis Boero, presentación sobre IB.
- 3M Attest 1292E Rapid Readout Biological Indicator.
- Agarwood Chen Xiang, Bacillus Stearothermophilus strain having a high protoplast forming ratio.
- Guidance for industry and FDA staff ; biological indicator (BI) premarket notification [510(k)] submission.
- S. Riveros, historia de los IB.



**THE  
END**

# Oxido de etileno

---



**Dentro de paquetes de prueba ( 2 jeringas, tubo látex, 1278)**



# Proceso de Esterilización

