

## Historia de los Indicadores Biológicos

E.U. Sandra Riveros C.

El uso de un producto estéril, y el proceso que produce este producto estéril, es crítico para el programa del control de infecciones. Un producto estéril es aquel que está libre de microorganismos viables. A pesar que la esterilidad es una condición absoluta, ejemplo: un artículo está estéril o no, el proceso de producción de artículos estériles se expresa en una probabilidad.

Los indicadores biológicos se usan para comprobar la eficiencia de un proceso de esterilización. Están diseñados para confirmar la presencia o ausencia de microorganismos viables después del proceso de esterilización. Existen diferentes indicadores biológicos según el sistema de esterilización. El indicador biológico contiene esporas que son las más resistentes al método de esterilización empleado.

Es importante destacar que aún cuando se demuestre la muerte de las esporas, esto no necesariamente significará esterilidad de los artículos en esa carga debido a otras variables del proceso que deben cumplirse espacialmente en presencia de materia orgánica y sales.

### Tipos de Indicadores biológicos:

- Tiras con esporas
  - Indicadores biológicos autocontenidos
  - Indicadores biológicos de lectura rápida
  - Indicador enzimático
- 
- Tiras con esporas: es una tira con esporas que viene dentro de un sobre. Esta tira con esporas debe ser colocado dentro de un paquete de prueba. Generalmente requiere un tiempo de incubación de 7 días.
  - Indicadores biológicos autocontenidos: son los usados con mayor frecuencia y su ventaja está en que pueden ser incubados dentro de la misma Central de Esterilización. Su lectura es en 24 a 48 horas.
  - Indicadores biológicos de lectura rápida: es un indicador autocontenido y está basado en la detección de enzimas asociada a la spora del microorganismo. Este método permite su lectura de una a tres horas dependiendo del ciclo de esterilización.
- 
- Indicador enzimático es un nuevo producto que consiste en una tableta con enzimas biológicas dentro de un tubo de vidrio con una tapa de esponja. Una vez terminado el ciclo de esterilización, se le agrega un reactivo y el resultado se lee a los 20 a 30 segundos.

## **Historia de los Indicadores biológicos:**

La comida en tarros era autoclavada para ser esterilizada. Hace varios años se encontró que el calor fue insuficiente y la comida en lata fue causante del botulismo. Entre los años 1906 a 1921 fue un período importante para los avances en la comprensión de la esterilización. Durante este período la industria conservera desarrolló un concepto fundamental de la esterilización como es el **valor D**.

## **Muerte de los microorganismos:**

En un principio la industria conservera sólo aseguraba que sus latas estaban seguras para el consumo tomando muestras microbiológicas de ellas (figura 1). Esto no solo destruía un porcentaje de las latas sino que la probabilidad de encontrar alguna contaminada era muy baja, a no ser que un gran número de ellas fueran examinadas. Por ejemplo, si existiera una lata que no estuviera estéril en un grupo de 100 y fuera elegido un número de 20 tarros para ser examinados, el destruir el 20 % de los tarros, sólo nos daría el 20 % de probabilidad de encontrar el tarro no estéril. De esta forma el 80% de las veces, se podría pensar que los restantes tarros están estériles y se enviaría al mercado con el tarro contaminado. Claramente, la única forma de saber si todos los tarros están estériles, es examinando el 100% de la producción y de esta forma destruyendo todos los tarros. El punto es que solo examinando no es una manera práctica para detectar pequeñas pero peligrosos niveles de contaminación microbiológica.

La industria conservera encontró una manera de resolver este problema usando organismos que simularan la muerte de los microorganismos dentro de las latas. Usando un organismo conocido que sea tan resistente como los microorganismos dentro de las latas, se puede colocar el microorganismo en condiciones que simulen el tarro con alimentos y el modelo de lo que ocurre dentro del tarro. Este "indicador biológico" se colocaría dentro del autoclave junto con el resto de los tarros durante el proceso de esterilización y después de terminado el ciclo de esterilización, este indicador sería controlado para ver si existía crecimiento. Separando el organismo de los tarros, los industriales pudieron "valorar la esterilidad" evitando botar los tarros y los alimentos analizados.

## Probabilidad en el examen

Tarros no estériles	5	1	1
Tarros estériles	95	99	99
Total del grupo	100	100	100
Total muestra	20	20	100
Probabilidad de encontrar			
Uno no estéril	65%	20%	100%

Figura 1

Para usar este sistema, debieron seleccionar el organismo más resistente (ejemplo uno mas resistente que los que se encontraban dentro de las latas) esto requirió de la medición de la resistencia de los diferentes organismos a las condiciones de esterilización. De esta forma empezaron a estudiar la velocidad de la muerte de los microorganismos. (ejemplo, ellos compararon resistencia relativa o velocidad de muerte de un organismo).

Se dieron cuenta que los microorganismos que se exponían al vapor no siempre morían. En efecto, sólo parte de los microorganismos morían en un determinado tiempo. Sin embargo también notaron que siempre moría una fracción determinada en un mismo período. Por ejemplo, al cabo de un minuto moría el 90% de la población de microorganismos. Al finalizar el segundo minuto moría el 90% de la población restante. Al finalizar el tercer minuto muere el 90% de la población de microorganismos sobrevivientes del segundo minuto. La unidad de tiempo es arbitraria pero durante el mismo tiempo muere la misma fracción de microorganismos.

Empezando con un millón de microorganismos idénticos (figura 2) y sometiéndolos a un proceso de esterilización, vemos que se muere el 90% o 900.000 microorganismos. Exponiendo las 100.000 que quedaron vivas a un segundo minuto, será eliminado otro 90% ó 90.000 microorganismos. Exponiendo los 10.000 restantes del segundo minuto a otro minuto de esterilización, muere el 90% ó 9.000 microorganismos. Los industriales conserveros encontraron que no importaba con cuantos microorganismos partieran, para una determinada condición de esterilización, cada período de tiempo eliminaría el 90% ( si se empezaba con un millón o sólo 100).

## Ritmo de la muerte de microorganismos

### Tiempo de exposición

<b>Microbial Death Rate</b>		
<b><u>Exposure Period</u></b>		
0	1,000,000	Living Organisms = $10^6$ (0 Killed)
1	-900,000 100,000	Killed Survivors = $10^5$
2	-90,000 10,000	Killed Survivors = $10^4$
3	-9,000 1,000	Killed Survivors = $10^3$
4	-900 100	Killed Survivors = $10^2$
5	-90 10	Killed Survivors = $10^1$
6	-9 1	Killed Survivors = $10^0$
7	-0.9 0.1	Killed Survivors = $10^{-1}$
8	-0.09 0.01	Killed Survivors = $10^{-2}$
9	-0.009 0.001	Killed Survivors = $10^{-3}$
10	-0.0009 0.0001	Killed Survivors = $10^{-4}$
11	-0.00009 0.00001	Killed Survivors = $10^{-5}$
12	-0.000009	Killed

Expresar la población como elevado a diez, cada vez la población disminuye en un 90%, de tal forma que cada vez la población disminuye en uno elevado a diez o "un logaritmo". Este tiempo incrementado seis veces (seis minutos) reduce la población en seis logaritmos. Esto se llama una reducción de seis logaritmos.

Después de seis minutos de exposición tenemos sólo un microorganismo sobreviviente, solo esperamos con un poco mas de exposición llegar a cero. Si recordamos que la definición de esterilidad es de cero organismos sobrevivientes, uno debe esperar que los seis minutos adicionales de exposición son innecesarios para

alcanzar la esterilización. Extender el tiempo de esterilización en otros seis minutos, asumiendo que morirá el 90% en cada minuto, el número de sobrevivientes es cada vez menor, pero nunca llegará a cero, no importando el tiempo de exposición. Siempre existe la probabilidad que una fracción de sobrevivientes exista.

Nunca se puede asegurar la esterilidad en un 100% . La forma correcta de expresarse es decir que a un nivel de sobrevivencia de 0.000001 hay una probabilidad que un artículo no esté estéril de uno en un millón. Este ejemplo corresponde a una reducción logarítmica de 12 si empezamos con una población conocida de un millón de microorganismos. La esterilización que usamos hoy día, usa el método de sobreexposición.

La FDA exige que los artículos médicos sean esterilizados a tal punto, que den un nivel tal de seguridad, que la probabilidad que no esté estéril no sea mayor que un artículo por cada millón de artículos esterilizados. Esto es referido como "nivel de seguridad de la esterilización" SAL de  $10^{-6}$  (**S**terility **A**ssurance **L**evel).

Para la certificación del proceso de esterilización, la FDA requiere que la muerte de los microorganismos de  $10^6$  se produzca en la mitad del tiempo recomendado para la esterilización.

El tiempo necesario para eliminar el 90% de los microorganismos, o la reducción de un logaritmo en la población bacteriana se llama **valor D**. El valor D es expresado generalmente en minutos y representa la rapidez con que un microorganismo muere en determinadas condiciones de esterilización. El valor D es una medida cuantitativa de la resistencia de un microorganismo a determinadas condiciones de esterilización. Más importante para nosotros es que el valor D es también una medida cuantitativa del poder del esterilizante. Para un determinado organismo un esterilizante débil tendrá un valor D en comparación con un esterilizante potente que tendrá un valor D menor para el mismo microorganismo. De esta forma tenemos una medida cuantitativa para la resistencia de un microorganismo como también la eficiencia relativa del proceso de esterilización.

Para resumir este concepto, consideremos la situación en la cual tenemos dos poblaciones iguales de un organismo idéntico. Si colocamos los dos en esterilizadores separados por el mismo período de tiempo pero un esterilizador tiene condiciones de esterilización más enérgicas (como por ejemplo una temperatura mayor o una concentración mayor del agente esterilizante) lo que observaremos será que en el esterilizador con condiciones más enérgicas los microorganismos morirán en forma más rápida y de esta forma el valor D será menor.

## Bibliografía:

- 1- ANSI/AAMI ST37-1996, Flash Sterilization ; 7.6
- 2- Disinfection Sterilization and Antisepsis in Health Care, William Rutala, Proceedings of the international Symposium on Disinfection, Sterilization and Antisepsis in Health Care.
- 3- Indicadores biológicos, Attest 3M
- 4- Principles and Methods of Sterilization in Health Sciences by John J. Perkins, second edition; pp 56- 90.

- 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 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.