

1º Congresso Nacional em
ESTERILIZAÇÃO

SEC | inevitável mudança



Como utilizar os indicadores biológicos em esterilização

Mónica Almeida Miranda
21/10/2016



Tipos de esterilização

Agentes físicos

- *Calor húmido sob pressão*
- *Calor seco*
- *Filtração*
- *Radiações: ionizantes (γ , X) e não ionizantes (UV)*

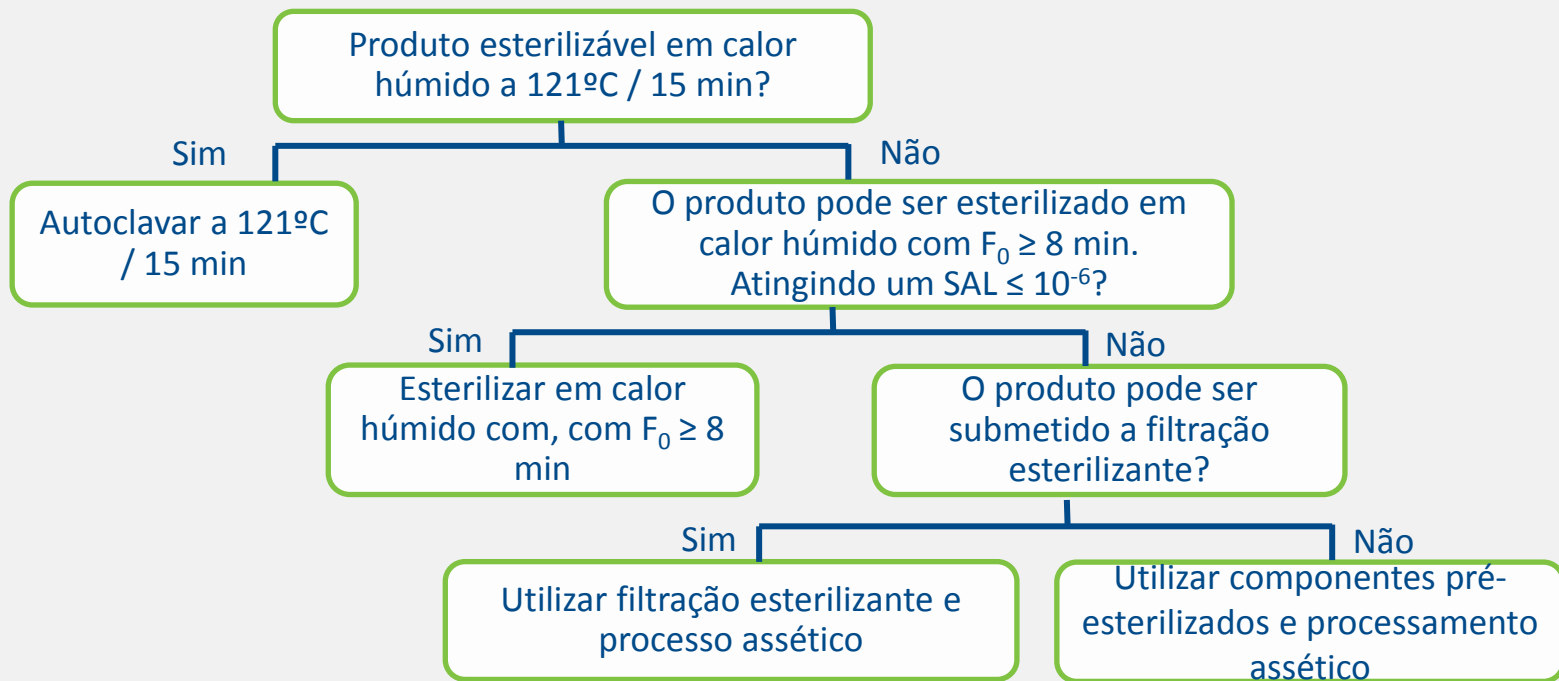
Agentes químicos

Fatores de decisão para escolha do processo de esterilização

- Concentração da população microbiana;
- Características dos microrganismos presentes;
- Temperatura;
- Duração de contacto com os microrganismos;
- Natureza do material a descontaminar.

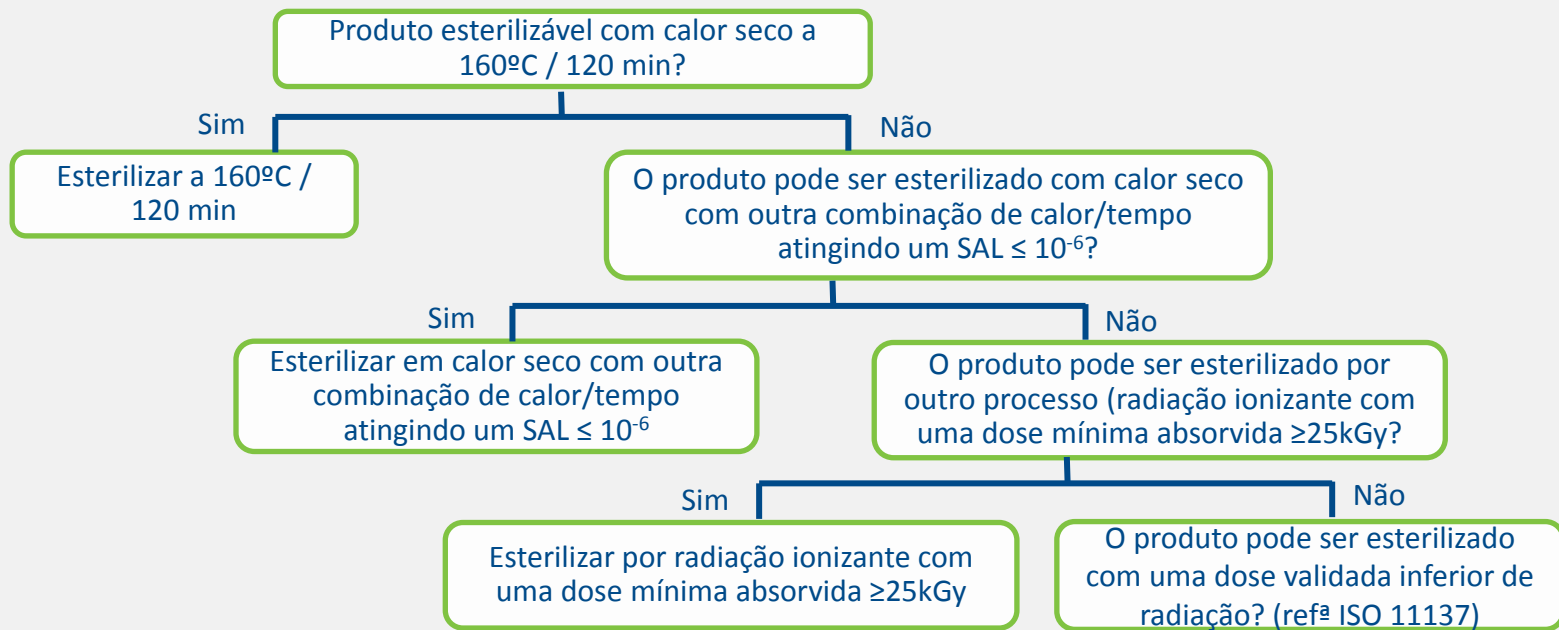
Fatores de decisão para escolha do processo de esterilização

Produtos líquidos (EMA – Medicamentos)



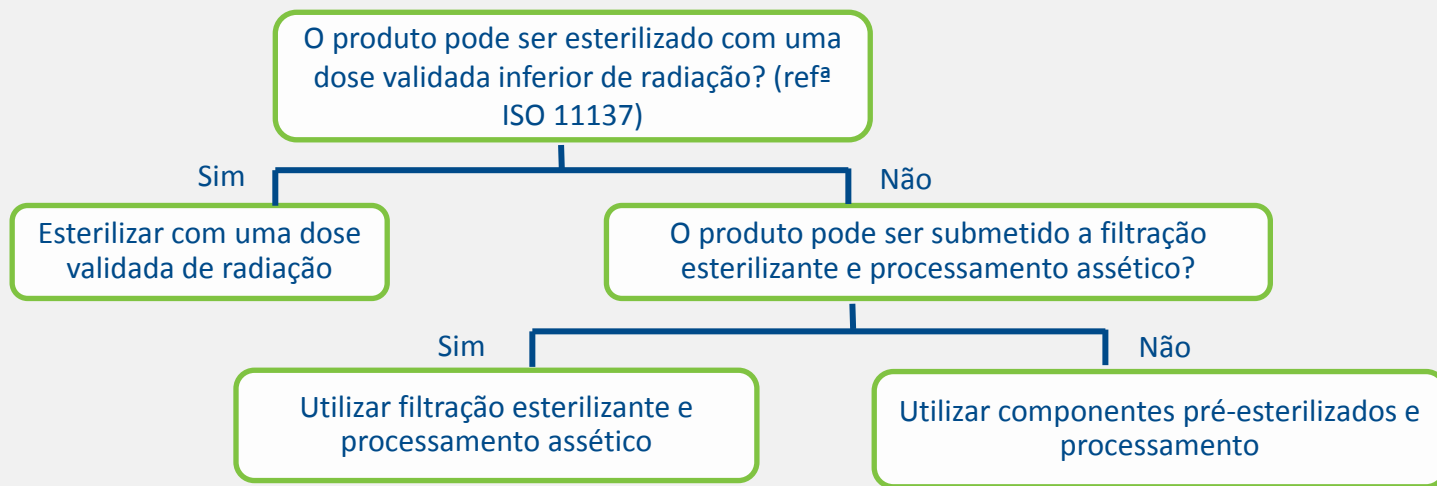
Fatores de decisão para escolha do processo de esterilização

Produtos não líquidos (EMA – Medicamentos)



Fatores de decisão para escolha do processo de esterilização

Produtos não líquidos (EMA – Medicamentos) (Continuação)



Escolha do Ciclo de esterilização

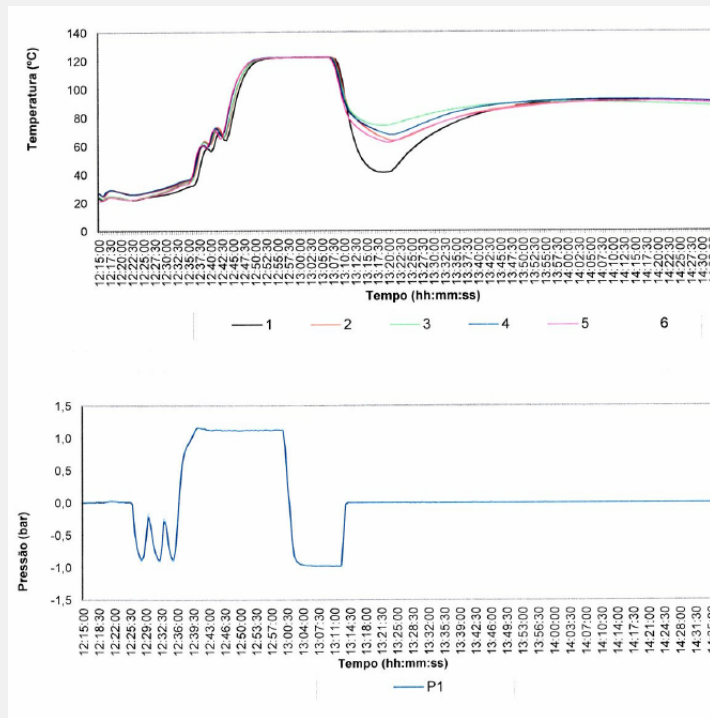
Esterilização a vapor em autoclave

Definir:

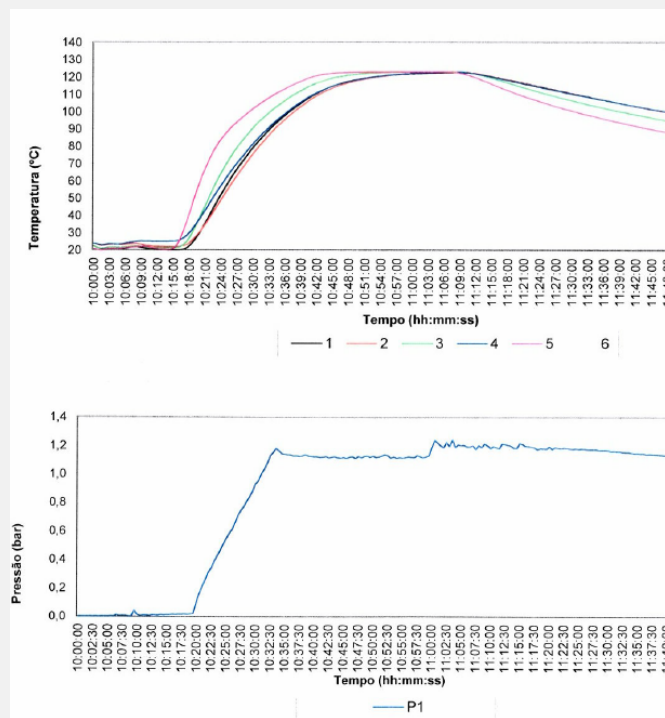
- O tempo de esterilização;
- A temperatura de esterilização;
- Materiais porosos devem ser esterilizados em ciclos com alternância de vácuo e pressão
- Materiais não porosos, devem permitir a passagem do vapor de água

Escolha do Ciclo de esterilização

Esterilização a vapor em autoclave

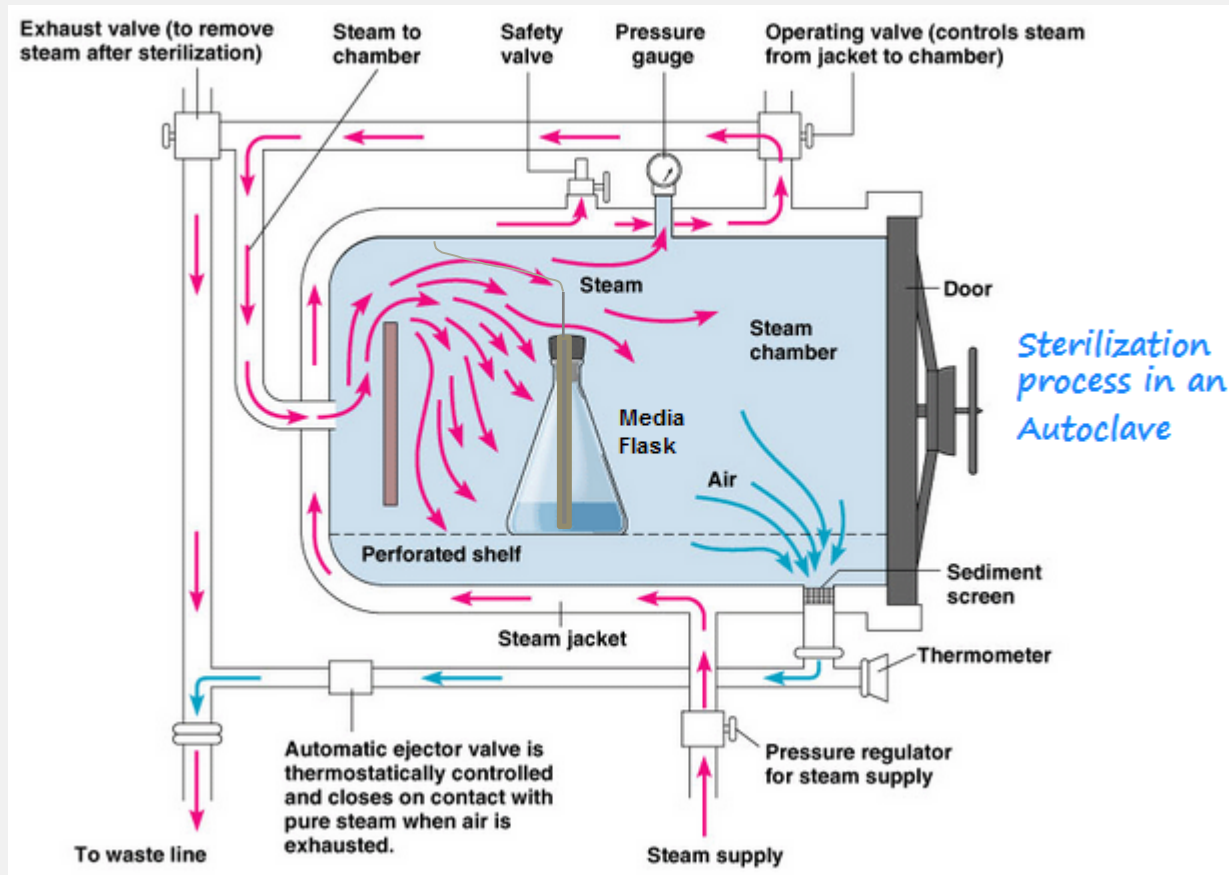


Esterilização de material 121°C / 15 min



Esterilização de líquidos 121°C / 15 min

Funcionamento de um autoclave



Organização da carga num autoclave

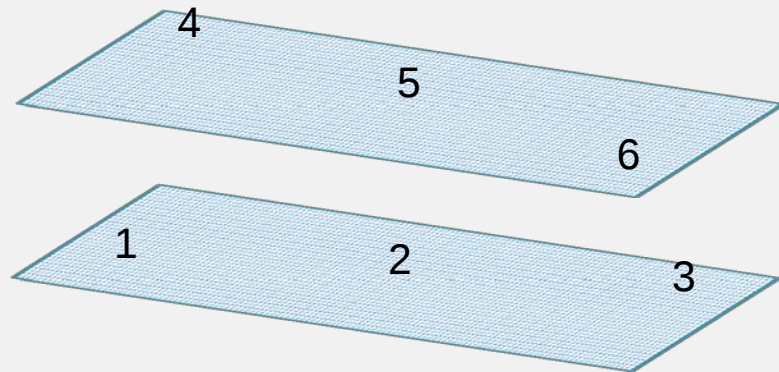
- Distribuir a carga de uma forma homogênea
- Não carregar demasiado o autoclave

Objetivo: que o vapor circule por toda a câmara de esterilização e consiga chegar a todos os produtos.

Qualificação do autoclave

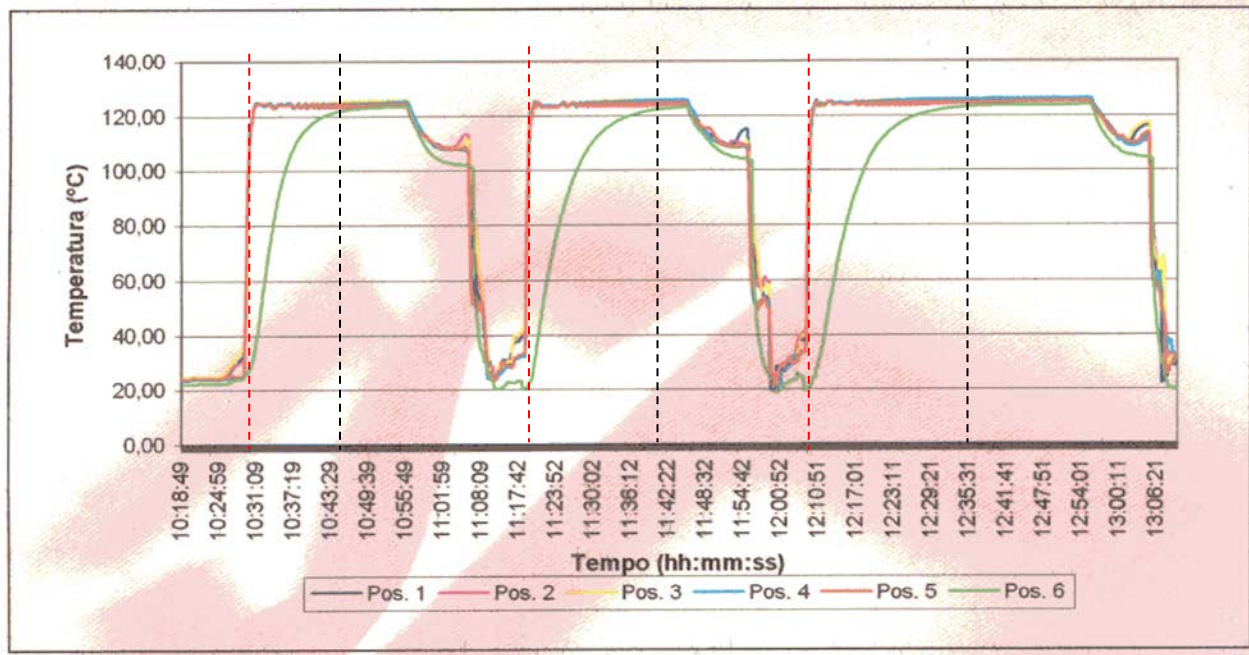
Mapeamento térmico:

- Sondas de temperatura nas posições mais frias ou com mais dificuldade de contacto com o agente esterilizante;
- Sondas de temperatura colocadas nas condições do produto;
- Colocar indicadores biológicos junto às sondas de temperatura.



Qualificação do autoclave

Tempo útil de Esterilização



Controlo do ciclo de esterilização

Registrar e arquivar:

- Descrição do tipo de produtos a esterilizar;
- Distribuição da carga no equipamento;
- Parâmetros físicos do ciclo: tempo e temperatura. Idealmente o Autoclave deve ter uma sonda que mede a temperatura no interior da câmara e que deve ser colocada de modo a mimetizar a temperatura do produto a esterilizar.

Controlo do ciclo de esterilização

Muito importante...

**Colocar sempre
Indicadores Biológicos nas
Zonas mais Críticas!**

**A fita indicadora não é suficiente e
não substitui os indicadores
biológicos**



Porquê a utilização de um Indicador Biológico?

A resposta biológica ao processo de esterilização depende

- Humidade relativa da carga;
- Superfície do produto a esterilizar;
- Composição do produto;
- Limpeza do produto: **a presença de carga orgânica altera a eficácia da esterilização!**

O que é um indicador biológico?

Preparação padronizada de microrganismos viáveis (geralmente esporos) usada para avaliar o procedimento de esterilização

Definição Farmacopeia Europeia 8.0, capítulo 5.1.2

Sistema que contém microrganismos viáveis, com uma determinada resistência a um determinado processo de esterilização

Definição ISO 11138-1:2006

O que é um indicador biológico?

- Consiste numa população de esporos bacterianos depositados num suporte inerte;
- Está protegido de modo a evitar deterioração ou contaminação;
- Permite a penetração do agente esterilizante e o contacto deste com os microrganismos do indicador

Requisitos para um IB

- A estirpe indicadora não deve ser patogénica;
- A estirpe indicadora deve cultivar-se facilmente.
- A estirpe indicadora deve manter-se estável durante a validade do Indicador Biológico;
- Resistência adequada da estirpe indicadora ao método de esterilização, deve ter uma resistência superior à do possível contaminante do produto a esterilizar;

Exemplos de estirpes para IB processos de esterilização

Segundo a Farmacopeia Europeia, para a esterilização por vapor húmido:

- *Geobacillus stearothermophilus* (ex: ATCC7953)
- $> 5 \times 10^5$ esporos viáveis por indicador
- $D_{121^{\circ}\text{C}} \geq 1,5 \text{ min}$

Alguns conceitos

Valor – D

(redução decimal)

Tempo necessário, a uma dada temperatura, para se obter uma redução de 90% na população microbiana.

Depende intrinsecamente das condições de esterilização.

Exemplos de estirpes para IB processos de esterilização

Segundo a Farmacopeia Europeia, para a esterilização por vapor húmido:

- *Geobacillus stearothermophilus* (ex: ATCC7953)
- $> 5 \times 10^5$ esporos viáveis por indicador
- $D_{121^{\circ}\text{C}} \geq 1,5 \text{ min}$

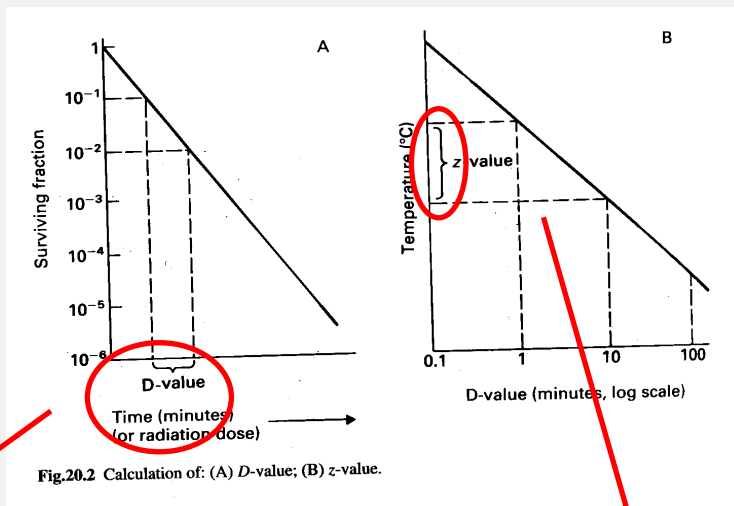
Valor – Z (*inativação térmica*)

É uma medida da alteração do valor D quando as condições de esterilização mudam

Define-se como a alteração na temperatura de exposição que corresponde a uma diminuição de 10x do valor - D.

$$Z = \frac{T_2 - T_1}{\log D_1 - \log D_2}$$

Valor - *D* vs. Valor - *Z*



Valor-*D* ou de *Redução decimal*:
tempo para reduzir o nº de
Microrganismos até 10% do valor
inicial

(característico de cada microrganismo)

Valor-*Z* ou de *Inativação Térmica*:
valor de temperatura para modificar o valor
D de um fator de 10

(característico de cada microrganismo)

Valor - *D* vs. Valor - *Z*

Para um IB:

- $D_{121^{\circ}\text{C}} = 1,9 \text{ min}$
- $Z = 8,2^{\circ}\text{C}$

Se T passar a $112,8^{\circ}\text{C}$ ($\downarrow 8,2^{\circ}\text{C}$) :

D será 10x superior, $D_{112,8^{\circ}\text{C}} = 19,0 \text{ min}$

Se T passar a $129,2^{\circ}\text{C}$ ($\uparrow 8,2^{\circ}\text{C}$) :

D será 10x inferior, $D_{129,2^{\circ}\text{C}} = 0,19 \text{ min}$

Caracterização de um IB

Os IB devem ter descritos:

- Microrganismo género e espécie;
- Número de lote;
- Concentração do microrganismo;
- Valor – D ;
- Valor – Z ;
- Método de esterilização a que se aplica;
- Condições de recuperação;
- Condições de armazenamento e validade.



Seleção de IB



A seleção do IB a usar depende:

- Processo de Esterilização (agente esterilizante e condições do processo – tempo, temperatura...);
- Produto a esterilizar;
- Suporte do IB: plástico, papel, metal, etc.;
- Avaliação da resistência do IB ao agente esterilizante: estudo da concentração do agente e do tempo de exposição ao agente esterilizante;
- Escolha do meio de cultura e condições de incubação do IB : TSB, 55 - 60°C/7d

Exemplos de estirpes para IB processos de esterilização

Geobacillus stearothermophilus (ex: ATCC 7953):

- Esterilização por vapor húmido/ autoclave (ISO 11138-3:2006);
- Formaldeído e vapor húmido a baixas concentrações (ISO 11138-5:2006).

Bacillus pumilus (ex: ATCC 27142):

- Esterilização por radiação ionizante (Farmacopeia Europeia);

Exemplos de estirpes para IB processos de esterilização

Bacillus atrophaeus (ex: ATCC 9372):

- Esterilização por calor seco (ISO 11138-4:2006);
- Esterilização por óxido de etileno (ISO 11138-2:2006)

Bacillus subtilis ATCC 35021:

- Esterilização por vapor húmido/ autoclave a temperaturas inferiores a 121°C para líquidos sensíveis ao aquecimento (ISO 11138-3:2006).

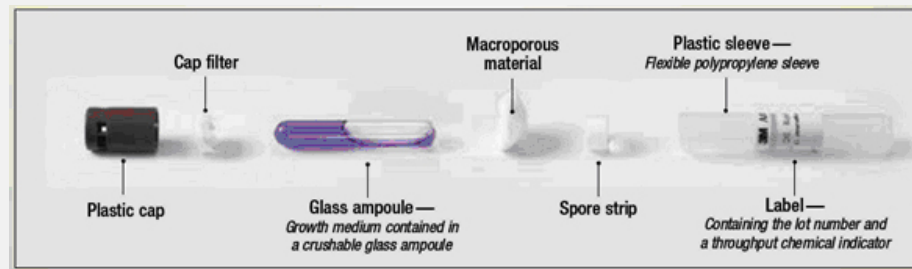
Exemplos de Indicadores Biológicos

Esporos de
microrganismos adsorvidos
num suporte de papel



Ampolas que contêm
esporos de microrganismos
em suspensão num meio
de cultura

Esporos de microrganismos
adsorvidos num suporte de papel
e que têm uma ampola selada
com meio de cultura



Exemplos de Indicadores Biológicos

**Para testar tubagens com diâmetro pequeno:
Existem IB que se podem colocar no centro das
tubagens que se pretendem esterilizar.**



Exemplos de Indicadores Biológicos



Woven Cotton Threads
Length: 19 mm; Diameter: 1.5 mm

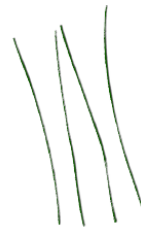
Para se introduzir dentro de seringas
e verificar se o interior da seringa foi
esterilizado



Discos metálicos
resistentes a ciclos de
temperaturas extremas
ou com agentes
químicos agressivos



Discos de papel, muito
finos, que podem ser
usados, por exemplo
na esterilização de
lentes de contacto



Polyester Sutures
Length: 5 cm; Diameter: 0.15 mm

Flexíveis e muito finas, o que
permite introduzir em produtos
com diâmetros muito pequenos



Papel com dimensões
muito reduzidas

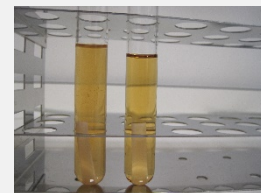
Avaliação do resultado do IB



Incubação
e leitura
do
resultado

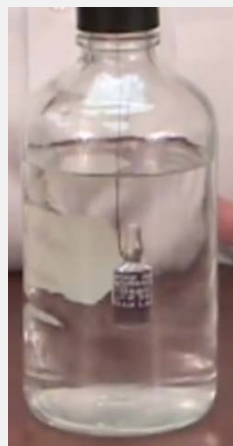


Incubação e
leitura do
resultado



Em condições de **asepsia**
retirar o filtro e colocar em
meio líquido adequado

Avaliação do resultado do IB



Esterilização



Incubação
e leitura
do
resultado



Resultado do indicador
esterilizado



Resultado do indicador não
esterilizado - Controlo



Esterilização



Contacto entre o meio
de cultura e o IB



Incubação e leitura do
resultado

Avaliação do resultado do IB



Esterilização

Incubação
e leitura
do
resultado



Resultado do indicador
esterilizado



Resultado do indicador não
esterilizado - Controlo



Esterilização



Contacto entre o meio
de cultura e o IB



Incubação e leitura do
resultado

Indicadores Biológicos

Process Challenge Device (PCD)

Item concebido com uma determinada resistência ao processo de esterilização e usado para avaliar o desempenho do processo

- IB embalados individualmente facilmente colocados na carga;
- Fáceis de remover, diminuindo a exposição do técnico ao agente esterilizante;
- Mimetizam o produto a esterilizar.

Questões?

monica.miranda@infarmed.pt

Obrigada!

Tempo de sobrevivência Tempo de morte

Tempo de sobrevivência (t_s):

Tempo necessário para a recuperação de aproximadamente 100 esporos viáveis por unidade de IB após esterilização:

$$t_s = (\log_{10} \text{população} - 2) \times \text{valor} - D$$

Tempo de morte (t_m):

Tempo necessário para a recuperação de aproximadamente 0,0001 esporos viáveis por unidade de IB após esterilização

$$t_m = (\log_{10} \text{população} + 4) \times \text{valor} - D$$

Tempo de sobrevivência Tempo de morte

Para o exemplo:

- $D_{121^{\circ}\text{C}} = 1,9 \text{ min}$
- $Z = 8,2^{\circ}\text{C}$
- Concentração esporos = $2,0 \times 10^6$

Tempo de sobrevivência:

$$t_s = (\log_{10} 2,0 \times 10^6 - 2) \times 1,9 = 8,17 \text{ min}$$

Tempo de morte :

$$t_m = (\log_{10} 2,0 \times 10^6 + 4) \times 1,9 = 19,57 \text{ min}$$

F_{bio}

F_{bio} corresponde ao tempo necessário no processo de esterilização para se obter apenas 1 esporo viável após esterilização

$$F_{bio} = (\log_{10} \text{população} - 0) \times \text{valor} - D$$

Para o exemplo anterior,

$$F_{bio} = (\log_{10} 2 \times 10^6) \times 1,9 = 11,97 \text{ min}$$

F_{bio}

F_{bio} é uma medida de resistência do indicador biológico

Pode ser usado para comparar IB diferentes:
 $\uparrow F_{bio} \rightarrow \uparrow$ resistência do IB

Valor F_0

“The F_0 value of a saturated steam sterilization process is the lethality expressed in terms of the equivalente time in minutes at a temperature of 121°C delivered by the process to the product in its final container with reference to micro-organisms possessing a theoretical Z-value of 10”

Definição Farmacopeia Europeia 8.0, capítulo 5.1.5

$$F_0 = F_{121^{\circ}\text{C}}^{10^{\circ}\text{C}} = D_{121^{\circ}\text{C}} \log N_0 - \log N$$

F_0 = tempo em minutos correspondente à redução de uma população inicial de esporos;

D_{121} = valor - D do microrganismo à temperatura 121°C;

N_0 = número inicial de microrganismos viáveis

N = número de microrganismos viáveis após esterilização

$$F_0 = \Delta t \cdot \sum 10^{(T-121)/Z}$$



Tem em conta todas as fases do ciclo, aquecimento ou arrefecimento.