akribis
sinergizando conocimiento y tecnología

División Metrología akrimet



# WEBINARIO ESTERILIZACION: “Conceptos-Aplicaciones-Validación”

Buenos Aires 19 de Febrero de 2020

info@akrimet.com | www.akrimet.com

# ¿QUIENES SOMOS?

- Mi nombre es Sonia Rodríguez, soy Jefa de Calificación y Validaciones en AKRIMET y posee más de 15 años de experiencia en la industria farmacéutica. Hace algunos años encontré mi pasión en el área de validaciones aprendiendo mucho gracias a el ejercicio de diversos puestos (analista-supervisor-jefe). Me caracterizo por mantenerme en continuo aprendizaje y compartir el conocimiento adquirido.



- El sector de calificaciones y validaciones de dentro de AKRIBIS forma parte de la división metrológica AKRIMET, que incluye al laboratorio de calibraciones, aprobado como laboratorio N° 61 por INTI-SAC.

# INTRODUCCION

- La mayor parte de los microorganismos (bacterias, hongos, protozoarios, virus y priones) mueren a temperaturas superiores a 80° C, a causa de la desnaturalización de sus proteínas constitutivas. Este proceso de desnaturalización refiere al efecto de coagulación por acción del calor, que genera un cambio en la conformación tridimensional de las proteínas, con pérdida de actividad y viabilidad.

- En este sentido, la esterilización implica la total destrucción de los microorganismos presentes en la carga, por lo que no se habla de esterilización en términos parciales.

- Con foco en las bases científicas del Reporte Técnico N° 1 emitido por Parenteral Drug Administration (PDA) en el año 2007, en este seminario se explicará el concepto de esterilidad, el proceso de esterilización, sus aplicaciones y como validarlo.

# SEMINARIO: Parte I

1. **DEFINICIÓN DE ESTERILIZACIÓN**
   - 1.1. Definición de esterilidad según USP43-NF38 y PDA Technical Report N°1.
   - 1.2. Diferencia entre esterilizar y desinfectar
   - 1.3. Métodos de esterilización mayormente empleados

2. **CONCEPTOS FÍSICOS DE ESTERILIZACIÓN POR CALOR HÚMEDO**
   - 2.1. Autoclaves: principio de funcionamiento
   - 2.2. Diseño de ciclo: temperatura-presión-vacío
   - 2.3. Calidad de Vapor Utilizado
   - 2.4. Tiempo de equilibrio

3. **CONCEPTOS MICROBIOLÓGICOS DE ESTERILIZACIÓN POR CALOR HÚMEDO**
   - 3.1. Concepto de Letalidad
   - 3.2. Cálculo de F0
   - 3.3. Valor de D y Z: que representan y cómo se determinan
   - 3.4. Selección de un bioindicador
   - 3.5. Errores frecuentes

4. **NORMATIVAS DE REFERENCIA VIGENTES**

5. **ESPACIO PARA PREGUNTAS**

# 1.1-DEFINICION DE ESTERILIDAD

- USP43-NF38

En la definición más estricta de esterilidad, un espécimen se considera estéril solo cuando hay una ausencia total de microorganismos viables (bacterias, levaduras y mohos), pero la esterilidad no se puede demostrar con respecto a los artículos de la competencia y otros artículos debido a las limitaciones inherentes de la prueba actual

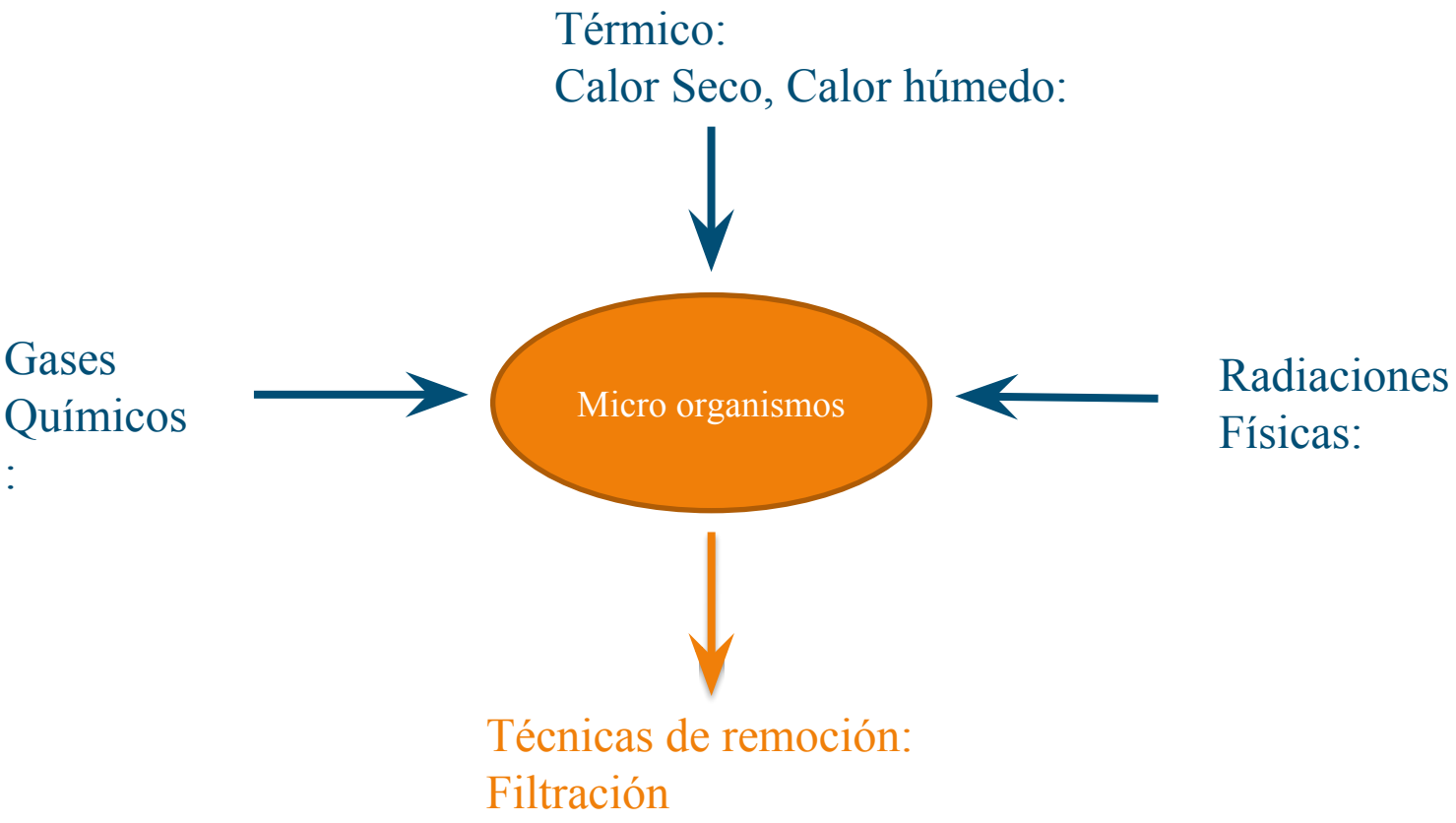
- En PDA T.R N°1

Se define esterilización como un proceso utilizado para hacer que un producto esté libre de organismos viables con probabilidad especificada.

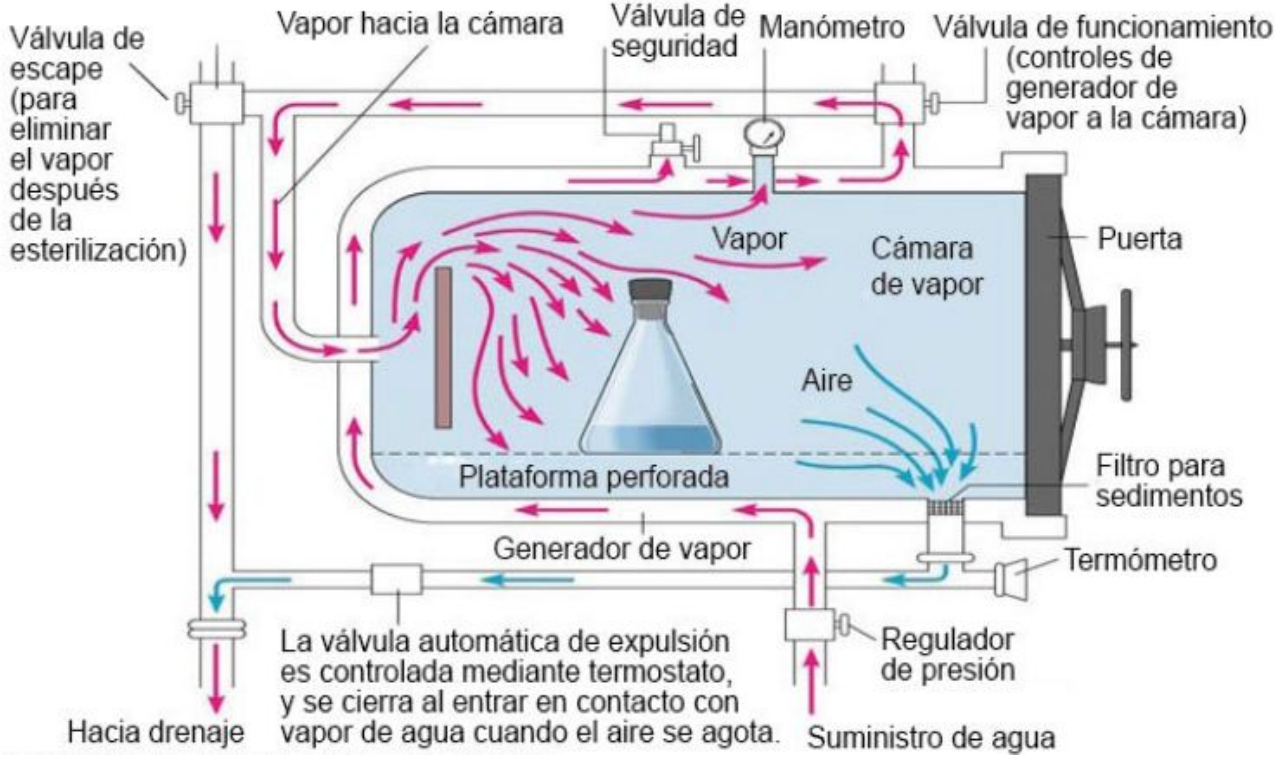
# 1.2-ESTERILIZAS VS. DESINFECTAR

- Esterilización: destruir todas las formas de microorganismos, incluidas las esporas bacterianas
- Desinfección: procedimiento destinado a reducir los microorganismos en la medida de lo posible (pero no las esporas bacterianas); p.ej. 70% de alcohol

# 1.3-METODOS EMPLEADOS:



# 2.1-¿COMO FUNCIONA UN AUTOCLAVE?




Componentes de un autoclave:

- ✔ Cámara interna con divisiones
- ✔ Manometro
- ✔ Sensor PT-100
- ✔ Válvula de seguridad
- ✔ Válvula de accionamiento
- ✔ Calderin o conexión a servicio de vapor

# 2.2-DISEÑO DE CICLO

Fases de esterilización:

Fase 1: Pre-acondicionamiento (eliminación de aire) / Gravedad Forzada (vacío)/Pulso (inyección de vacío / vapor)

Fase 2: Rampa de Calentamiento (o Come-Up)

Fase 3: Exposición (Meseta térmica)

Fase 4: Post-acondicionamiento (Secado/rampa de enfriamient0)

# 2.2-DISEÑO DE CICLO

Un ciclo estándar posee de base una temperatura de 121°C y una meseta térmica no menor a 15 minutos. Para el uso de otros parámetros de seteo se recomienda consultar la tabla 2 que se muestra a continuación:

| Parámetro | Criterio de aceptación | | |
|---|---|---|---|
| Temperatura de esterilización | 121°C | 126°C | 134°C |
| Temperatura Máxima | 124°C | 129°C | 137°C |
| Banda de temperatura para esterilización | 121-124°C | 126-129°C | 134-137°C |
| Tiempo mínimo de exposición | 15 minutos | 10 minutos | 3 minutos |

Para poder asegurar un valor de temperatura de 121°C homogéneo en el interior de la cámara, el parámetro de temperatura de esterilización seteado en el equipo puede ser superior al valor antes mencionado. El comportamiento del equipo debe mantenerse dentro de la banda de temperatura adecuada (121°C - 124°C).

# 2.3-CALIDAD DE VAPOR UTILIZADO

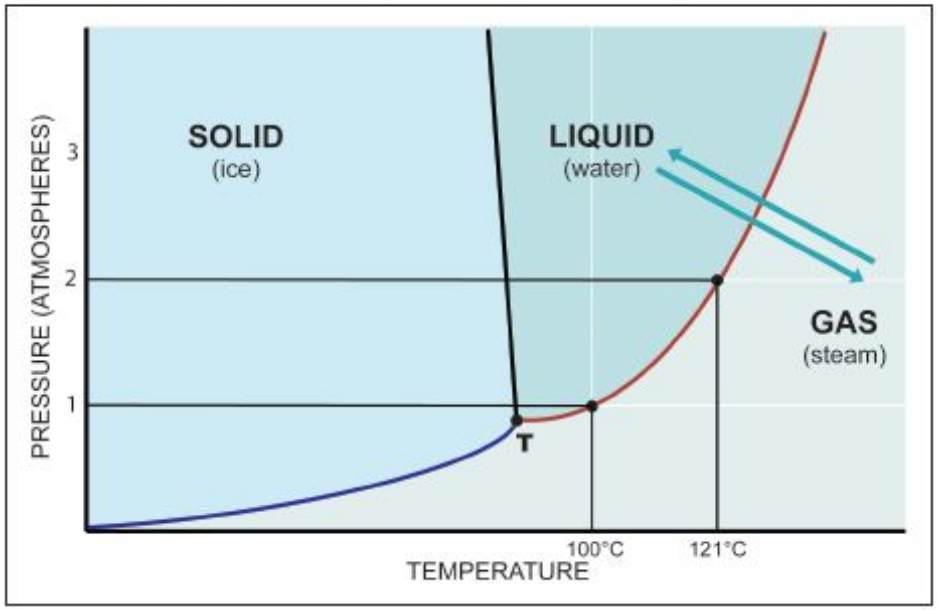
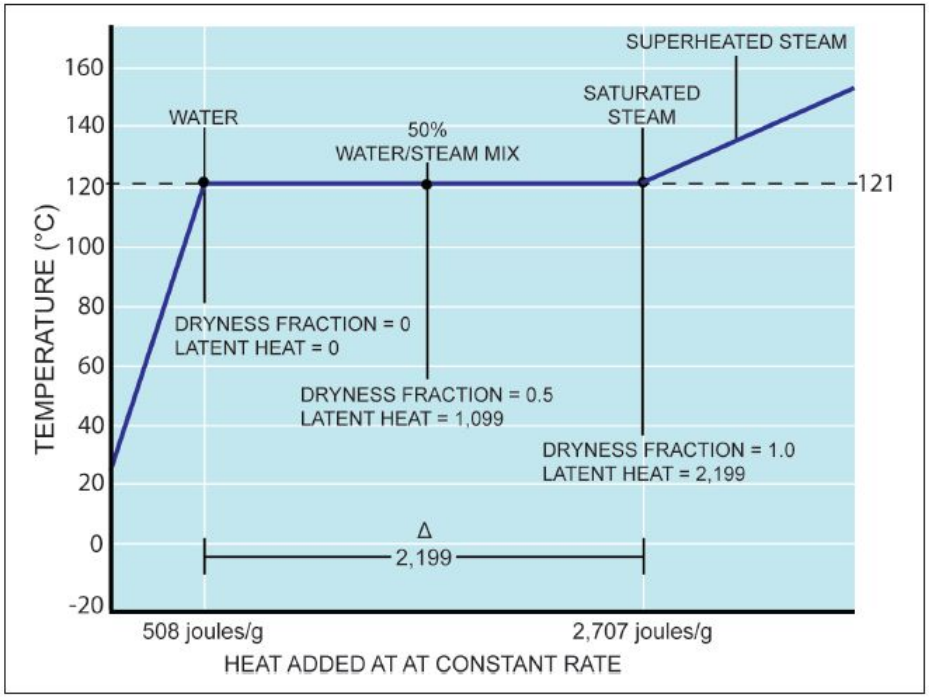



Grafico 2: Curva de calentamiento del agua. A una presión de 2 bares, aumenta la temperatura de ebullición del agua, con lo cual se logra obtener vapor saturado a temperatura de 121° C

Grafico 1: Diagrama de fases del agua. A 121°C se alcanza el equilibrio termodinámico obteniendo vapor saturado




Fuente: PDA Technical Report No. 1 Revised 2007

# 2.4-TIEMPO DE EQUILIBRIO

Se denomina así al período de tiempo comprendido entre la obtención de la temperatura mínima de esterilización en el sensor que controla el equipo, hasta la obtención de la temperatura mínima de esterilización en el sensor de validación más lento en calentarse.

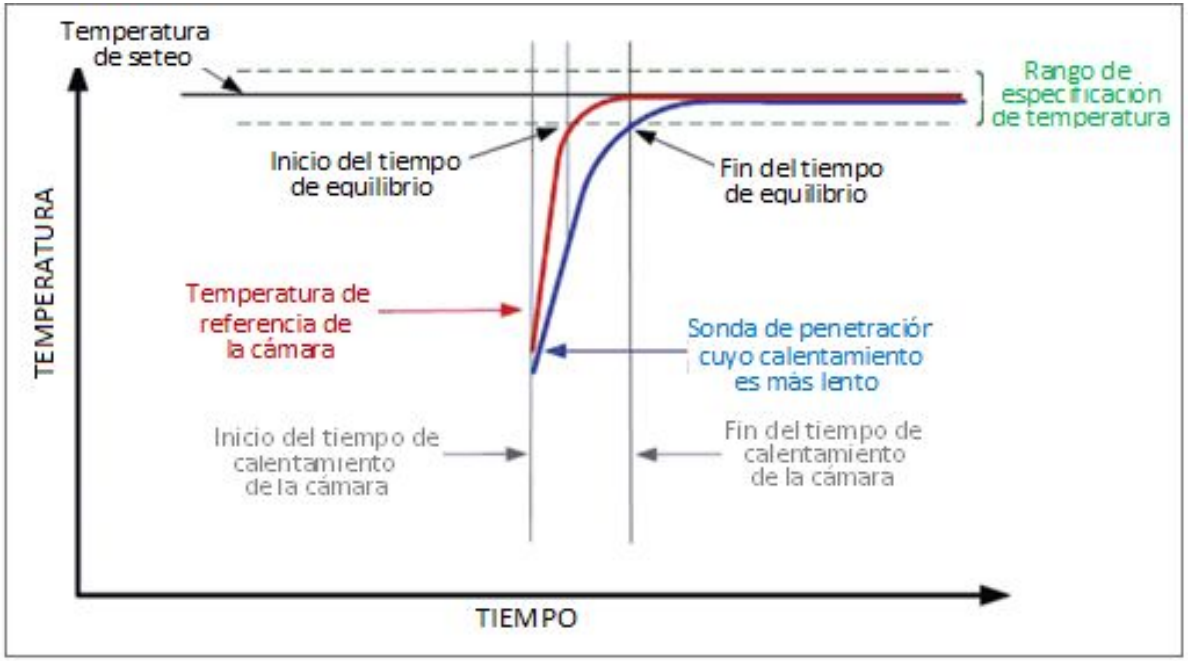



Grafico: Tiempo de equilibrio.

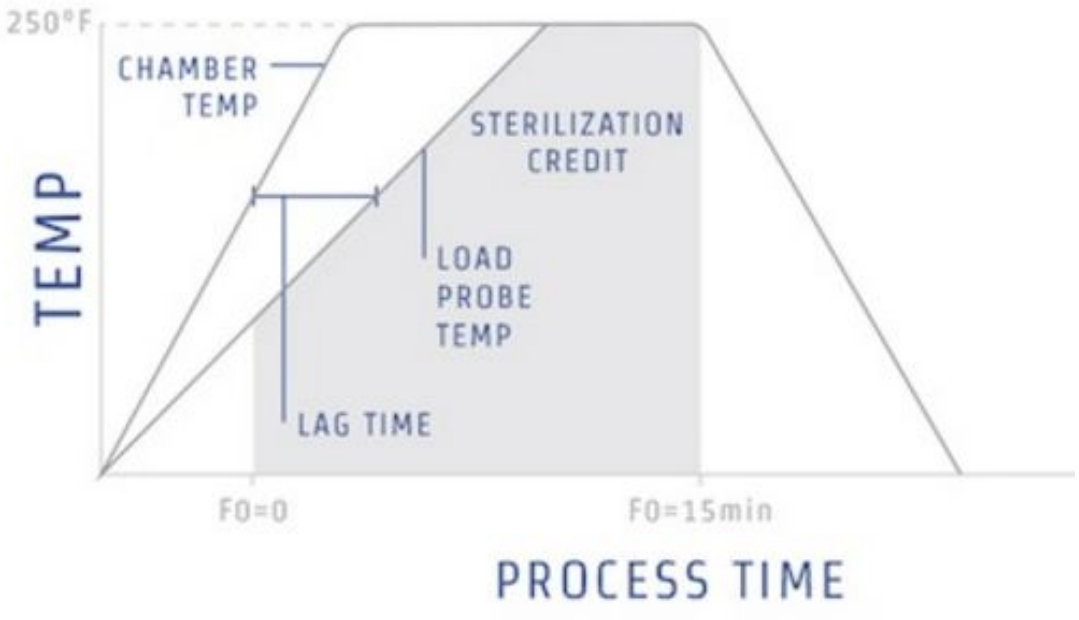
# 3.1-CONCEPTO DE LETALIDAD

Debido a su expresión exponencial, el cálculo de $F_0$ no es inmediato. Por lo tanto, se han desarrollado tablas que enumeran las llamadas tasas letales, es decir, los coeficientes de equivalencia que permiten comparar la exposición a la temperatura T (experimental) con la exposición durante 121°C a un mismo tiempo.

Dichas tablas, sirven como orientación al momento de diseñar un ciclo (ejemplo para determinar cual seria el tiempo mínimo necesario considerando que existen cargas con diversa termo-sensibilidad)

# 3.2-CALOR ACUMULADO:$F_0$

Se denomina $F_0$ al tiempo equivalente a una exposición 121.11° C, en un tiempo experimental determinado y a una temperatura variable, calculado para un microorganismo ideal con un coeficiente de destrucción (Z) igual a 10 ° C.




$$Fo = D121\ °C\ (Log\ N° - Log\ B)$$

Donde:

D121°C: tiempo de exposición a temperatura constante para inactivar el 90% de una población microbiana específica, considerando que el proceso se desarrolla a una temperatura constante de 121°C.

N: Número de células o microorganismo iniciales.

B: Número de células o microorganismos sobrevivientes después de un tratamiento, el mínimo esperado de 1x10-6 esporas viables/vial ya que es el valor que define el nivel de seguridad de esterilidad (por sus siglas en inglés, SAL).

# 3.3-COEFICIENTES: D Y Z

D-Value: Tiempo de disminución decimal

- El valor D es el tiempo, en minutos, requerido para reducir el 90% de la cantidad total de microorganismos en presentes en una unidad.

- El valor D varía según el tipo de microorganismo (y su "historia"), el medio en el que se sumerge y, la temperatura de esterilización.

- A una temperatura de 121 ° C en condiciones de calor húmedo, el valor D generalmente está entre 0,5 y 2 minutos: para los microorganismos comúnmente tratados, a menudo se supone, **como promedio, que D = 1 minuto.**

# 3.3-COEFICIENTES: D Y Z

- Esto significa que al final de cada minuto a 121 ° C en condiciones de calor húmedo, el número de microorganismos se reduce a una décima parte del número al comienzo de ese minuto.

- En la grafica se puede observar como se inicia con una carga de 1000 unidades de microorganismos viables, y con cada minuto de exposición (D=1), ese valor desciende de forma decimal (1000-100-10)



# 3.3-COEFICIENTES: D Y Z

- **Z**: diferencia de temperatura necesaria para modificar el valor D en un factor de 10.

| AVERAGE VALUE OF D AND z FOR SOME TYPICAL MICROORGANISMS | | |
|---|---|---|
| Microorganism | $D_{121}$ (minutes) | z (°C) |
| Clostridium botulinum | 0.2 | 10 |
| Geobacillus stearothermophilus | 2.0 | 6 |
| Bacillus subtilis | 0.5 | 10 |
| Bacillus megaterium | 0.04 | 7 |
| Clostridium sporogenes | 0.8 - 1.4 | 13 |
| Clostridium histolyticum | 0.01 | 10 |

Fuente: F0 a technical note, 1988, D.Pistolesi and V.Mascherpa

# 3.4-SELECCIÓN DE UN BI

**BI**: Indicadores biológicos, son preparaciones de un microorganismo específico que provee una resistencia definida y estable a un determinado proceso de esterilización.

BIOINDICADOR CARGA LIQUIDA



BIOINDICADOR CARGA POROSA

## Certificate of Analysis

1.10274.0002 Sterikon® plus Bioindicator for checks on autoclaving
Batch Z0453774

| | Spec. Values | | Batch Values | |
|---|---|---|---|---|
| Appearance | opalescent and reddish violet | | passes test | |
| Number of viable spores per ampule | $5.0 \cdot 10^6$ - $1.0 \cdot 10^7$ | | $1.9 \cdot 10^6$ | |
| Growth (35 °C) | no growth | | passes test | |
| Growth (60 °C) | growth | | passes test | |
| Performance test (6 min, 121 °C) | Survival time 6 min/121 °C | | passes test | |
| Performance test (15 min, 121 °C) | Kill time 15 min/121 °C | | passes test | |
| D value (121 °C) | 1.5 - 2.0 | min | 1.6 | min |
| Z value | 7.0 - 10.0 | °C | 9.1 | °C |
| Identity | Geobacillus stearo-thermophilus ATCC 7953 | | passes test | |

Tiempo de supervivencia

Tiempo de muerte

The determination of the D-value is based on the Stumbo-Murphy-Cochran method.

The identity control is carried out via MicroSeq-System.

Organism: Geobacillus stearothermophilus ATCC 7953 (sporulation optimized).
Ampoules: 2 ml.
Storage temperature: +2° to +8°C.

Date of release (DD.MM.YYYY) 08.11.2017
Expiry date (DD.MM.YYYY) 18.04.2019

Stefanie Fischer
Responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature.

# 3.5-ERRORES FRECUENTES

- Utilizar certificado de BI para calculo de $F_0$
- Emplear valores de constantes (D o Z) inadecuados
- Ensayar evaluación térmica y evaluación microbiológica en ciclos por separado
- Emplear tiras como BI

# NORMATIVAS DE REFERENCIA

- EU GMP Annex 1 Manufacturing of Sterile Medicinal Products
- USP 1229 Sterilization of Compendial articles
- USP 1229.1 Steam sterilization by direct contact
- USP 1229.2 Moist heat sterilization of aqueous liquids
- USP 1229.5 Biological Indicators for sterilization
- Ph. Eur. 5.1.1 Methods of preparation of sterile products
- Ph. Eur. 5.1.2 Biological Indicators and related microbiological preparations used in the manufacture of sterile products
- Ph. Eur. 5.1.5 Application of the $F_0$ concept to steam sterilization of aqueous products
- PDA Technical Report No. 1 Revised 2007: Validation of Moist Heat Sterilization Processes: Cycle Design, Development, Qualification and ongoing Control
- PDA Technical Report No.48 Moist Heat Sterilizer Systems: Design, Commissioning, Qualification and Maintenance
- ISO 17665 Sterilization of health care products —Moist heat, Part 1: Requirements for the development, validation and routine control of a sterilization process for medical devices
- ISO 17665 Sterilization of health care products —Moist heat, Part 2: Guidance on the application of ISO 17665 Part 1

# PREGUNTAS…






*Para más información técnica y cursos visite nuestra página web*

*www.akrimet.com*