

VALIDACIÓN DE PROCESOS DE ESTERILIZACIÓN DE INSUMOS EN UN BIOTERIO DE CRÍA DE ANIMALES LIBRES DE PATÓGENOS ESPECÍFICOS (SPF)

E. Cascardo, S. Fossa, G. Gamboa, A. Bottale, C. Céccoli, L. Riera

Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas "Dr. Julio I. Maiztegui" INEVH-ANLIS. ernesto.cascardo@gmail.com



INTRODUCCIÓN

En los ámbitos científicos, de control de calidad y de investigación pre clínica existe la necesidad de utilizar animales de laboratorio que cuenten con certificaciones de calidad. Así, los animales de calidad SPF (libres de patógenos específicos) deben criarse protegidos por barreras de contención cuya eficacia requiere la validación de procesos críticos que garanticen el sostenimiento de las mismas como así también el cumplimiento de un protocolo regular de controles de calidad. Por otra parte, la validación de procesos críticos es un requerimiento de las normas de buenas prácticas de fabricación. El presente trabajo tiene por objeto validar los ciclos de esterilización de los insumos que ingresan al Bioterio de Cría de ratones SPF y observar la respuesta del equipo con respecto a las diferentes características de la carga.

DESARROLLO: MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron los ciclos de esterilización de: cajas, viruta y mamaderas. Los ciclos fueron desarrollados en una autoclave de frontera marca Mazden. El mismo se encuentra instalado en el sector de lavadero, sirviendo de barrera para el ingreso de material limpio esterilizado. Para este trabajo se diseñaron los ciclos a validar con un requerimiento de reducción de entre 11 y 12 logaritmos de esporos de *G. stearothermophilus*.

A continuación, se presenta una tabla con los parámetros del proceso de esterilización para cada ciclo. Los parámetros del ciclo de cajas y viruta son iguales. Diferenciándose el de mamaderas debido a que la carga se encuentra en estado líquido por lo que se ven reducidos los niveles de vacío, la descarga no es tipo rápida y el secado sin vacío.

Tabla N°1. Parámetros de ciclos

PARÁMETROS	MATERIAL		
	CAJAS	VIRUTA	MAMADERAS
Temperatura de esterilización [°C]	122	122	122
Tiempo de esterilización [min.]	30	30	30
Tiempo de secado [min.]	25	25	45
Pulsos de vacío - vapor	3	3	5
Pulsos de secado	1	1	1
Nivel de vacío [mbar]	-600	-600	-150
Nivel de secado [mbar]	-300	-300	-10
Nivel de vapor [mbar]	300	300	200
Descarga rápida	Si	Si	No
Secado sin vacío	No	No	Si
Esterilización por Fo	No	No	No
Fo deseado	0	0	1
Sensor de referencia	Descarga	Descarga	Descarga

Para el ciclo de mamaderas se utilizaron indicadores con los siguientes parámetros: 1.0×10^6 UFC/CFU, Valor D: 2.2 min Tiempo de supervivencia: 8.6 min Tiempo de muerte: 21.6 min Valor Z: 18.7 °C.

Para los ciclos de cajas y viruta se utilizaron indicadores *G. stearothermophilus* con los siguientes parámetros: 1.3×10^6 UFC/CFU. Valor D: 1.9 min Tiempo de supervivencia: 7.6 min Tiempo de muerte: 18.8 min Valor Z: 13.2 °C e integradores.

Previo a la ejecución de los ciclos se realizaron certificaciones de instrumentos de medición: sondas de temperatura, manómetros y transmisor de presión.

Se diseñaron las distribuciones de carga de los insumos contemplando una suficiente circulación del vapor dentro de las mismas y se estudiaron los ciclos mediante la colocación de 14 termocuplas para medir la penetración del calor mediante un validador marca Kaye calibrado. A cada termocupla se les agrego un indicador biológico y los integradores para verificar la efectividad del proceso.

Figura N°1. Distribución de carga ciclo Viruta

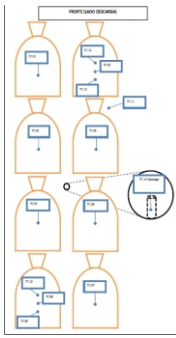


Figura N°2. Distribución de carga ciclo Cajas

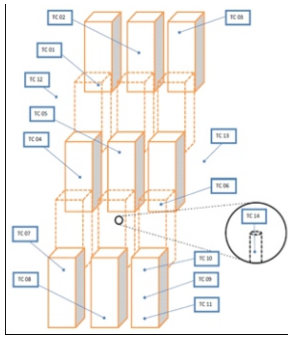
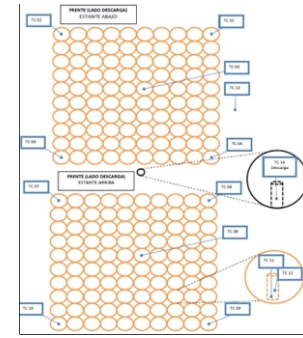


Figura N°3. Distribución de carga ciclo Mamaderas



Ciclo	Aleth1	Aleth2	Aleth3	Aleth4	Aleth5	Aleth6	Aleth7	Aleth8	Aleth9	Aleth10	Aleth11	Aleth12	Aleth13	Aleth14
Cajas	50,4	24	37,1	26,4	29	27,1	42,7	24,4	37,8	32,9	36,2	43,4	60,5	35,2
	43,9	38,6	37,7	45,3	31,3	71,2	34,1	28,4	35,9	35,6	47,3	92,3	49,9	36,7
	33,5	35,7	30,5	32,7	36,1	45,7	35,5	28,7	35	33,3	30,9	36,9	36,9	36
Viruta	14,7	12,6	17	12,7	13,8	15,1	15,9	13,5	13,8	12,1	23,5	12,5	15	8,5
	18,3	17,8	20,2	19,6	15,3	19,6	18,2	17,7	17,7	18,4	10,1	17,3	19	9,9
	19,7	17,7	17	19	19,5	27,3	18	18,8	18,1	18,3	12,2	16,6	17,6	15,9
Mamaderas	29,1	28,4	23,6	28,2	28	30,7	30,2	25,5	31,7	31,4	23,3	24,8	87,4	44,1
	28,8	29	25,7	29	27,9	29,5	29,2	26,4	30	28,7	30,3	28,1	44,1	39,9
	25,3	24,7	19,1	25,5	25,1	26,4	26,1	20,4	31	28,9	22	23,3	43,9	43,9

La tabla n°2 muestra las letalidades calculadas en cada punto donde se ubicó una termocupla y se muestra la variabilidad para cada ciclo corrido.

Resaltados en fondo verde se muestran los valores mínimos para cada ciclo y con color azul se muestran los valores correspondientes a termocuplas ubicadas en la cámara o descarga, las cuales no son tenidas en cuenta para determinar la letalidad mínima.

Gráfico n°1. Registro temperatura en ciclo Viruta

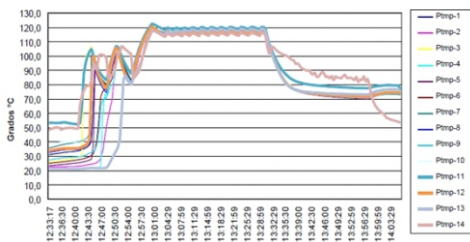


Gráfico n°2. Registro temperatura en ciclo Cajas

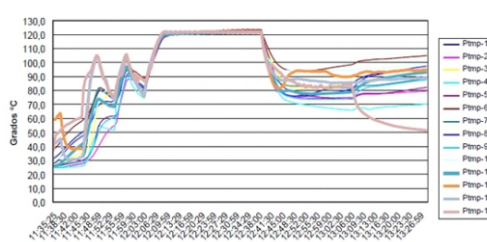
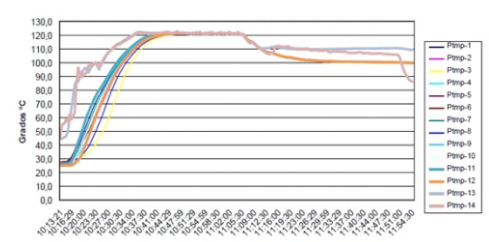


Gráfico n°3. Registro temperatura en ciclo Mamaderas



RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Los estudios de los parámetros físicos del autoclave demostraron, en todos los ciclos estudiados, la habilidad de operar de modo reproducible a través del tiempo. De los estudios realizados con indicadores biológicos se puede concluir que en las tres corridas del ciclo se obtuvieron letalidades superiores a 19,1 en el ciclo de esterilización de mamaderas, a 12,1 en el ciclo de esterilización de viruta y a 24 en el ciclo de esterilización de cajas. Es importante destacar que, si bien los parámetros de los ciclos de Cajas y Virutas son los mismos, las letalidades obtenidas con carga viruta se ven reducidas en un 45% aproximadamente debido a las características propias de la carga donde la madera tiene una mayor porosidad que dificulta la penetración del vapor. En esta validación se considera, como garantía del proceso, la aproximación por sobre muerte, aunque toda la carga se encuentra limpia y con casi nula carga biológica. De esta forma todos los ciclos de esterilización de insumos que ingresan al bioterio de cría de animales SPF resultaron validados superando los requerimientos establecidos en los objetivos del estudio.