

Febbraio 2018

NUMERO 6

SURVIVAL TIME, KILL TIME, VALORE Z ED F₀. Fattori rilevanti per la valutazione degli indicatori biologici.

Survival Time e Kill Time.

Il **Survival Time** (ST) rappresenta il tempo di esposizione alla sterilizzazione, in minuti, prima del quale tutti gli indicatori risultano ancora positivi, mentre il **Kill Time** (KT) è il tempo dopo il quale tutti gli indicatori diventano negativi, cioè inattivati.

L'intervallo di tempo compreso tra questi due valori è definito Survival/Kill Window.

Per calcolare Survival Time e Kill Time si possono usare le seguenti formule:

$$ST \geq D - \text{value} \cdot (\log N - 2)$$

$$KT \leq D - \text{value} \cdot (\log N + 4)$$

Entrambi i fattori dipendono dalla resistenza termica e dalla popolazione iniziale di spore.

Survival Time e Kill Time consentono di valutare la correttezza della scelta dell'indicatore biologico per il proprio ciclo di sterilizzazione. Per avere la certezza che tutti gli indicatori vengano inattivati sarebbe opportuno scegliere un indicatore con Kill Time inferiore alla durata del proprio ciclo di sterilizzazione.

In Tabella 3 sono stati riassunti, per i diversi tipi di sterilizzazione, alcuni tipici valori di Survival Time e Kill Time, calcolati considerando una popolazione di 10^6 ed i D-value raccomandati da USP. I dati sono tratti dalla USP.

Tabella 3

Condizioni di sterilizzazione	D-value raccomandato da USP	Survival Time	Kill Time
Calore Secco 160°C	1-3 min.	4-12 min.	10-30 min.
Calore Secco 121°C	2-15 min.	8-60 min.	20-150 min.
Ossido di Etilene 600 mg/L 54°C 60 RH%	2,6-5,8 min.	10,4-23,2 min.	26-58 min.
Vapore 121°C	1,5-3 min.	6-12 min.	15-30 min.

Survival Time e Kill Time dovrebbero essere confermati dall'utilizzatore seguendo una procedura standard. Essa consiste nell'esporre alla sterilizzazione due gruppi di indicatori, ciascuno costituito da 25 unità per esposizione. Si esegue un totale di quattro esposizioni, due per il Survival Time e due per il Kill Time.

Dopo il trattamento gli indicatori vengono incubati alle condizioni consigliate. Se tutte le unità sottoposte alla sterilizzazione per il Survival Time indicano crescita e nessuna di quelle testate per il Kill Time la mostra allora le richieste sono raggiunte ed il lotto viene accettato.

Se il test fallisce per non più di una unità per gruppo, bisogna ripeterlo con ulteriori quattro gruppi, ognuno di 25 unità. Soltanto se tutti gli indicatori danno l'esito atteso il lotto viene accettato. Il test, infine, comprende l'esposizione di un certo numero di controlli positivi.

Il Valore Z

Il valore Z è definito come l'incremento di temperatura (espresso in gradi) necessario per ridurre il D-value, o resistenza termica, di un fattore 10, per esempio da 2 a 0,2 minuti.

Il D-value di un microrganismo, infatti, cambia a seconda della temperatura a cui viene determinato ed il valore Z indica quanto le spore sono sensibili ai cambi di temperatura.

Lo Z dipende sia dalla natura dei microrganismi che dal mezzo in cui sono contenuti ma è considerato costante per differenze di temperatura attorno ai 20-25 gradi. Esso è quindi costante per i processi di sterilizzazione, con calore, eseguiti entro piccoli intervalli di temperatura.

Ad esempio, nei cicli a vapore condotti tra 110 e 130°C lo Z generalmente oscilla tra 6 e 13°C, con un valore rappresentativo di 10°C. Il minimo prescritto è comunque 6°C (EN866-3 e ISO 11138-3).

Il valore Z pari a 10°C può essere interpretato come un aumento di temperatura di 10°C che causa una variazione di un fattore 10 del D-value. Al contrario, è erroneo pensare che il D-value possa variare di un fattore 1 per un incremento di temperatura di 1°C.

Il valore Z può essere calcolato riportando in un grafico almeno due D-value determinati a temperature diverse.

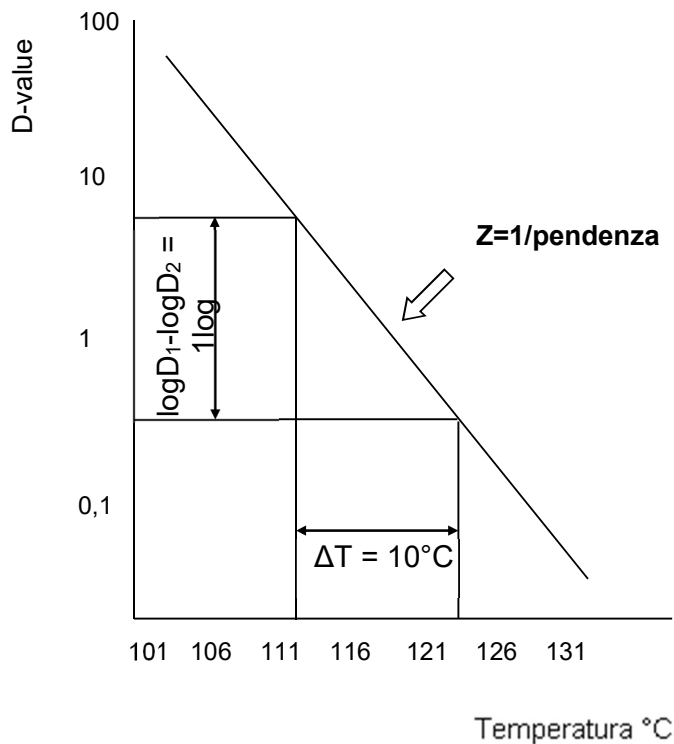
Per la sterilizzazione con vapore i D-value devono essere riferiti al range di temperatura 110-130°C, ma il D-value a 121°C può essere preso in considerazione per il calcolo solo se si hanno già altri due D-value.

Per la sterilizzazione con calore secco l'intervallo di temperatura è 150-200°C e, se si impiegano più di due D-value, si può usare anche quello determinato a 160°C.

Dopo aver riportato sul grafico i vari punti D-value/temperatura si può procedere a determinare la migliore retta di regressione. Il valore Z è uguale al reciproco della pendenza di questa retta.

Nel caso seguente i due punti considerati sono:

D-value	10 min. (D ₁)	1 min. (D ₂)
Temp.	111°C (T ₁)	121°C (T ₂)



La pendenza della retta risulta essere uguale a: $\frac{\log D_1 - \log D_2}{T_2 - T_1} = \frac{\log D_1 - \log D_2}{\Delta T} = m$

Secondo la definizione di Z, il D-value subisce la riduzione di 1 logaritmo, quindi si può scrivere che:

$$m = \frac{\log D_1 - \log D_2}{\Delta T} = \frac{1}{\Delta T}$$

Poiché la differenza di temperatura che ha causato la riduzione di 1 logaritmo del D-value è uguale

a Z, risulta che: $m = \frac{1}{\Delta T} = \frac{1}{Z}$ perciò $Z = \frac{1}{m}$

Infine, dal momento che la pendenza (m) può solo essere negativa, Z è uguale al valore assoluto del

reciproco della pendenza della retta: $Z = \left| \frac{1}{m} \right|$

Il Valore F₀

F₀ rappresenta il tempo di sterilizzazione con **vapore** a 121°C equivalente al tempo di sterilizzazione ad un'altra temperatura, calcolato per un microrganismo con Z=10°C. La temperatura di riferimento per F₀ è 121°C, perciò 1 minuto di sterilizzazione a 121°C corrisponde a F₀=1 minuto. La formula che consente di calcolare F₀ è la seguente:

$$F_0 = F_T \cdot 10^{\frac{-(121-T)}{Z}} \quad \text{dove: } F_T = \text{tempo alla temperatura } T$$

T = temperatura di confronto

Il fattore $10^{\frac{-(121-T)}{Z}}$ è chiamato Tasso di Letalità e può essere facilmente ricavato dalle tabelle dei tassi di letalità, riferite a diversi valori di Z.

Nell'esempio seguente sono stati confrontati i tempi di sterilizzazione a diverse temperature:

1) se la sterilizzazione dura 15 minuti a 121°C, F₀ è uguale a 15 minuti:

$$F_0 = 15 \cdot 10^{\frac{-(121-121)}{10}} = 15 \cdot 10^0 = 15 \text{ minuti}$$

2) se la sterilizzazione dura 15 minuti a 111°C, F₀ è uguale a 1,5 minuti:

$$F_0 = 15 \cdot 10^{\frac{-(121-111)}{10}} = 15 \cdot 10^{-1} = 1,5 \text{ minuti}$$

15 minuti di sterilizzazione a 111°C equivalgono a 1,5 minuti di sterilizzazione a 121°C.

3) se la sterilizzazione dura 15 minuti a 124°C, F_0 è uguale a 29 minuti:

$$F_0 = 15 \cdot 10^{\frac{-(121-124)}{10}} = 15 \cdot 10^{\frac{3}{10}} = 29 \text{ minuti}$$

15 minuti di sterilizzazione a 124°C equivalgono a 29 minuti di sterilizzazione a 121°C.

Dall'esempio citato si deduce che, se F_0 è 15, il ciclo di sterilizzazione deve durare più di 15 minuti se la temperatura è inferiore a 121°C, oppure meno di 15 minuti se la temperatura è superiore a 121°C.

Analogamente, per il **calore secco**, esiste una formula per calcolare il valore F_H , che è simile al valore F_0 usato per il vapore. Generalmente, F_H ha come riferimento la temperatura di 160°C, perciò 1 minuto a 160°C corrisponde a $F_H=1$ minuto.

La formula, analoga a quella vista in precedenza, è: $F_H = F_T \cdot 10^{\frac{-(160-T)}{Z}}$