

Utilizzo degli indicatori biologici in replica per valutare i cicli di biodecontaminazione negli isolatori

Se sei coinvolto nel mondo della sterilizzazione, hai sicuramente familiarità con “l'indicatore biologico positivo inatteso” e i problemi successivi che ne conseguono. Se il tuo coinvolgimento nella sterilizzazione è legato alla fase del perossido di idrogeno (VHP), allora questo può portare a notti insonni.

Negli altri processi di sterilizzazione, come il vapore saturo con una rimozione dell'aria pre-vuoto, hanno capacità penetrativa. Lo stesso non vale per i processi di gassatura a pressione ambientale.

A causa della limitata capacità di penetrazione del VHP, lo strato di spore sulla superficie del supporto è fondamentale. Ad esempio qualsiasi presenza detritica tra le spore o la sovrapposizione di esse può anche portare a spore che sopravvivono alle esposizioni di VHP laddove altrimenti ci si aspetta l'uccisione; un concetto denominato "rogue BIs" in varie pubblicazioni ^{1,2}

Come si procede allora se si presenta inaspettatamente un IB positivo durante gli studi di qualifica e/o riqualificazione del ciclo?

Una volta che l'IB è stato coltivato in brodo e si ottiene il risultato positivo per la crescita, è impossibile determinare se la crescita è dovuta a un difetto nella distribuzione delle spore in un determinato supporto o se è dovuto a qualche irregolarità nella letalità del ciclo.

Quando viene utilizzato un solo IB in ogni postazione, e ci si ritrova con un IB positivo, sorge spontanea la domanda "E adesso?" La risposta è spesso quella di eseguire costosi cicli di ripetizione. La Sezione 8.1 del rapporto tecnico PDA n. 51 suggerisce che può essere necessario rieseguire il ciclo con un lotto diverso di IB o rieseguire il ciclo con gli IB in duplicato o triplicato nella stessa posizione.

In questa newsletter si discuterà il concetto di utilizzo degli IB in triplicato, non come reazione per aver ottenuto un IB positivo nel ciclo VHP, ma come misura preventiva.

Nella pubblicazione precedentemente citata¹, James Drinkwater fa riferimento a un caso di studio e ha affermato che anche i supporti inoculati di altissima qualità possono avere un tasso di fallimento dell'ordine dello 0,3%. Quindi, se la Rogue BI è un elemento con cui dobbiamo imparare a vivere, perché non essere preparati all'inevitabile, anche se è una situazione indesiderabile?

La ragione per cui è preferibile utilizzare più IB in ogni posizione di test è perché abbiamo bisogno che ogni IB sia una replica statistica del suo vicino.

Capisco che ci possa essere dello scetticismo tra i lettori in quanto abbiamo un produttore di IB che approva una politica che sembra aumentare di tre volte il consumo di IB. Tuttavia, non è questo il caso.

Invece di monitorare 100 posizioni in tutto l'isolatore, il tecnico di validazione può identificare 30 o 40 posizioni più difficili da sterilizzare e utilizzare gli IB triplicati in ciascuna di queste posizioni più critiche, consumando così 90 o 120 IB per ciclo.

Con le repliche statistiche sul posto, ora abbiamo la possibilità di usare l'equazione di Halvorson-Ziegler (Halvorson H, Ziegler N. Journal of Bacteriology 1933; 25, 101-121) per calcolare il numero più probabile di organismi sopravvissuti (MPN) SE osserviamo un caso in cui uno (o due) dei tre replicati presentano crescita positiva .

Quando viene utilizzato un solo IB in ciascuna sede critica e un IB risulta positivo alla crescita, non c'è modo di calcolare se quel risultato è dovuto a una spora sopravvissuta o a centinaia di migliaia di spore sopravvissute.

L'equazione di Halvorson-Ziegler è:

$$MPN = \ln(n/r)$$

Dove :

MPN = Most Probable Number of surviving spores (numero più probabile di organismi sopravvissuti)

ln = Logaritmo naturale

n = numero di repliche di IB in ogni punto critico della postazione

r = numero di BI negativi alla crescita in ogni punto critico della postazione

Vediamo un esempio di come procederemo se in un ciclo a VHP abbiamo osservato un IB positivo e due negativi (cioè $n = 3$ e $r = 2$) in una particolare posizione in cui sono stati usati IB triplicati.

$$\text{MPN} = \ln(3/2) = 0,405$$

Ciò che questo numero MPN indica è che in media abbiamo 0,405 spore superstiti per IB.

Due dei tre IB erano negativi per la crescita e quindi sappiamo che c'erano zero spore sopravvissute su ciascuna di questi due IB.

Ora che abbiamo calcolato il valore MPN, il passo successivo è utilizzare questo numero per calcolare la riduzione del log delle spore (SLR) associata a questa osservazione di due IB negativi e un IB positivo.

Per questo abbiamo la seguente equazione:

$$\text{SLR} = \text{Log}_{10} \text{No} - \text{Log}_{10} \text{MPN}$$

dove:

SLR = riduzione logaritmica delle spore

No = La popolazione di spore iniziali presenti nell'IB non esposto

Se abbiamo un certificato di Analisi in cui la popolazione dichiarata è 1.6×10^6 , l'SLR calcolato sarà:

$$\text{SLR} = \text{Log}_{10} 1.6 \times 10^6 - \text{Log}_{10} 0.405$$

$$\text{SLR} = 6.204 - (-0.393)$$

$$\text{SLR} = 6.597$$

Pertanto, si può vedere che, nonostante gli IB positivi per la crescita nella sede degli IB triplicati, si può ancora documentare che è stata ottenuta una riduzione di 6 log in quella particolare posizione.

Si noti che questo calcolo è SOLO possibile quando si utilizzano IB in replica.

Se si dovessero distribuire 100 IB in 100 posizioni critiche dell'isolatore, non sarebbe appropriato eseguire il calcolo MPN e l'SLR poiché questi 100 singoli IB non sono il replicato di altri.

La domanda successiva che si potrebbe essere tentati di chiedere è: Un IB positivo alla crescita è dovuto a un'imperfezione nella distribuzione delle spore nel supporto o a detriti tra le spore ... o è dovuta a una leggera alterazione nella letalità del ciclo in quella particolare posizione dell'isolatore?

Senza voler sembrare irriverente, suggerisco che la risposta a questa particolare domanda è: ha importanza?

Dopotutto, abbiamo osservazioni negative sulla crescita in quel luogo e l'analisi matematica dimostra che è stata raggiunta una SLR di 6.

Certo è che se si dovessero presentare tutte e tre le repliche di IB positivi alla crescita, o se si dovessero osservare durante i cicli di routine più IB positivi in più sedi e per molti giorni, allora dobbiamo considerare che esiste una vera carenza nel processo di sterilizzazione che richiede attenzione.

Al contrario, se si utilizza l'approccio degli IB in triplicato e si vedono regolarmente IB positivi in tutte le posizioni di test e appare un risultato inatteso, l'analisi sopra riportata dovrebbe consentire il passaggio del ciclo, indipendentemente dalla vera causa della crescita.

Adottare l'approccio degli IB in triplicato come standard, quotidianamente è in qualche modo analoga a quella di un'assicurazione auto. Nessuno ha mai intenzione di essere coinvolto in un incidente automobilistico, né sviluppare processi in cui ci aspettiamo di osservare regolarmente risultati positivi alla crescita.

L'uso triplicato di IB ogni giorno (al contrario di solo in reazione/indagine) è la preparazione all'inevitabile. Se viene visualizzata un IB positivo alla crescita, siamo già preparati con l'analisi statistica per valutare la situazione e non sarà necessario ripetere test o fare revisioni per affrontare questo indicatore biologico, inaspettato, potenzialmente “rouge”, positivo alla crescita.

Benjamin Franklin ha coniato la frase "un grammo di prevenzione vale un chilo di cura". In questo scenario, l'uso quotidiano di IB in triplicato nel ciclo a VHP è "un grammo di prevenzione".

¹*Drinkwater J, Chewins J, Steele G. Biological indicators don't lie, but in sporicidal gassing disinfection cycles do they sometimes confuse the truth? European Journal of Parenteral & Pharmaceutical Sciences 2009; 14(1): 5-11.*

²*Templeton P, Hillebrand J. Case Study: Isolator Sanitisation Cycle Development, Validation and Revalidation.*

³*Technical Report No. 51 Biological Indicators for Gas and Vapor-Phase Decontamination Processes: Specification, Manufacture, Control and Use, Parenteral Drug Association: Bethesda, MD, 2010.*