

Uso de indicadores biológicos para la calificación de esterilizadores

La calificación de un esterilizador es el procedimiento mediante el cual se recopila y documenta evidencia que confirme que un esterilizador, ya sea un autoclave, una cámara de óxido de etileno o un horno de calor seco, es capaz de llevar a cabo ciclos de esterilización de forma reproducible bajo condiciones definidas.

La calificación del esterilizador constituye una parte crítica del aseguramiento de la calidad en la industria farmacéutica, en el área de salud y en laboratorios, ya que garantiza que los procesos de esterilización sean eficaces y cumplan con los estándares regulatorios.

Pasos a seguir para la calificación de un esterilizador

Tras la instalación de un nuevo esterilizador, se recomienda efectuar un proceso de calificación que confirme la correcta configuración y seguridad operativa del equipo.

1. Calificación de la instalación (IQ, por sus siglas en inglés)

Esta etapa consiste en verificar la correcta instalación del esterilizador y de todos sus componentes. Los servicios críticos asociados, tales como electricidad, agua y suministro de aire, junto con los elementos de seguridad y demás componentes del sistema, deben cumplir con las especificaciones del fabricante y con los requisitos regulatorios aplicables.

Asimismo, se debe corroborar que el equipo esté acompañado con la documentación técnica correspondiente y que esté completa, precisa y correcta.

2. Calificación operacional (OQ, por sus siglas en inglés)

Esta etapa tiene como fin validar que el esterilizador funciona conforme a los parámetros especificados, evaluando temperatura, presión y tiempos de ciclo. También se verifica la exactitud de los sistemas de medición y de los diferentes puntos de control, así como la distribución uniforme de la temperatura dentro de la cámara. Se trata de una fase clave en la que se optimiza el proceso y se evalúa su robustez y confiabilidad bajo las condiciones más exigentes.

3. Calificación del desempeño (PQ, por sus siglas en inglés)

La finalidad de esta etapa es demostrar que el esterilizador, cuando se utiliza según lo previsto, es capaz de realizar ciclos de esterilización de forma consistente bajo las condiciones operativas de rutina.

Esta fase es fundamental para determinar si el proceso es reproducible de manera confiable y si

el personal operador está correctamente capacitado.

En esta etapa resulta fundamental realizar ensayos con distintas configuraciones de carga, momento en el cual cobran relevancia el monitoreo con indicadores biológicos e indicadores químicos.

Uso de indicadores biológicos en la calificación del desempeño (PQ)

Para evaluar la letalidad del proceso de esterilización y demostrar que logra eliminar de manera consistente microorganismos de alta resistencia bajo condiciones reales o simuladas, es esencial el uso de indicadores biológicos (IB).

Los IB son dispositivos de prueba estandarizados que contienen una población conocida de esporas bacterianas con alta resistencia (también conocida), generalmente *Geobacillus stearothermophilus* para procesos de vapor, o *Bacillus atrophaeus* para esterilización por calor seco y óxido de etileno (OE). Los IB deben colocarse en aquellas zonas de la cámara que representen el mayor desafío a la penetración del agente esterilizante, por ejemplo, zonas frías o con carga muy densa o compacta.

Una vez finalizado el ciclo de esterilización, los IB se deben incubar a tiempo y temperatura adecuados para verificar si se produce **crecimiento microbiano**. La ausencia de crecimiento confirma un proceso de esterilización exitoso, mientras que la presencia de crecimiento indica una falla del proceso.

No se observa crecimiento	=	Resultado negativo	=	Esterilización exitosa
Se observa crecimiento	=	Resultado positivo	=	Falla de esterilización

Razones para evitar la lectura por fluorescencia de los IB durante la PQ

Los IB autocontenidos (SCBI, por sus siglas en inglés) están diseñados para ofrecer tiempos de lectura más cortos que se anticipan al crecimiento bacteriano, por ejemplo, mediante métodos de detección por fluorescencia. La lectura por fluorescencia detecta actividad enzimática (p. ej., α -glucosidasa) o marcadores proteicos, lo que permite inferir **indirectamente** la viabilidad microbiana sin evidenciar el crecimiento real de esporas. Sin embargo, las lecturas rápidas por fluorescencia no se recomiendan para la PQ de esterilizadores, ya que no cumplen con los requisitos

regulatorios ni con el nivel de rigurosidad de validación esperado para estos fines.

1. Marco regulatorio

Las agencias regulatorias como la FDA y los organismos de estandarización (USP, AAMI) establecen que la PQ debe realizarse con métodos basados en la observación **directa** de crecimiento. Para estos métodos se utilizan IB convencionales o cualquier tipo de IB mientras se obtenga el resultado tras incubaciones tradicionales (7 días) mediante la observación de formaciones de colonias. Las entidades mencionadas consideran que los métodos de detección indirecta, como las lecturas tempranas basadas en fluorescencia, carecen de la robustez y la aceptación histórica que ofrecen los métodos de validación basados en crecimiento.

2. Actividad enzimática residual y su papel en las señales de fluorescencia

Los SCBI con lectura por fluorescencia están diseñados con los que se conoce como margen de seguridad, el cual está basado en la detección de actividad enzimática residual que pueda persistir aún tras la pérdida de viabilidad de las esporas. Esto mejora la sensibilidad del sistema y disminuye el riesgo de resultados falsos negativos en lecturas rápidas. Sin embargo, esta misma sensibilidad podría llevar a obtener resultados falsos positivos, los cuales son contraproducentes en procedimientos tales como la PQ de un esterilizador. Dado que la PQ tiene como objetivo confirmar la inactivación completa de una población microbiana de 10⁶ UFC, una señal de fluorescencia positiva, aunque no represente una falla en el proceso de esterilización, puede introducir incertidumbre en la interpretación de los resultados. Además, a diferencia de las lecturas por fluorescencia, la incubación convencional permite detectar esporas de crecimiento lento o

viabilidad marginal provenientes de casos límite o ciclos marginales, lo cual es un factor crítico para garantizar una PQ precisa.

Entender la naturaleza y la correcta interpretación de los resultados por fluorescencia es indispensable para lograr una correcta PQ.

3. Datos cuantitativos limitados

La PQ suele requerir datos cuantitativos, tales como valor D, reducciones logarítmicas en distintos puntos de la carga y el impacto de dispositivos de desafío del proceso (PCD, por sus siglas en inglés) sobre la inactivación microbiana. Las lecturas por fluorescencia infieren la viabilidad microbiana de manera indirecta y temprana pero no brindan evidencia directa del crecimiento real de esporas. Por el contrario, las lecturas convencionales permiten la observación directa de la germinación y el crecimiento de esporas, lo que posibilita la obtención de datos cuantitativos.

4. La lectura por fluorescencia está diseñada para la rapidez, no para la profundidad

La lectura por fluorescencia fue desarrollada para acelerar la obtención de resultados y facilitar una toma de decisiones más rápida, optimizando así el proceso de monitoreo de esterilización. Los tiempos de respuesta se han reducido significativamente a 4 horas, 1 hora, 20 minutos e incluso tan solo 5 minutos o 7 segundos. Por esta razón, las lecturas por fluorescencia son adecuadas para el monitoreo rutinario de cargas y la evaluación de la compatibilidad del ciclo con los materiales de la carga. Sin embargo, aunque la lectura por fluorescencia representa un avance importante en el monitoreo de la esterilización, la PQ es un proceso formal y documentado que exige más que un resultado rápido: requiere datos robustos y verificables que demuestren la eficacia del proceso.

Comparación entre los métodos de lectura convencionales y las lecturas por fluorescencia para PQ

Aspecto	Resultado convencional	Resultado por fluorescencia
Método de detección	Directo: basado en crecimiento	Indirecto: actividad enzimática, composición proteica
Aceptación regulatoria	Aceptado para PQ (USP, ISO, FDA)	No aceptado para PQ, a menos que esté validado frente a un IB convencional bajo las mismas condiciones de carga
Tiempo de obtención del resultado	24 horas - 7 días	7 segundos - 4 horas
Uso ideal	PQ, validación, cumplimiento regulatorio	Monitoreo rutinario, verificación rápida de ciclos

Referencias

- Association for the Advancement of Medical Instrumentation. (2017). *Guía integral para la esterilización por vapor y la garantía de esterilidad en instalaciones de atención de la salud* (ANSI/AAMI ST79:2017 y A1-A4). AAMI. (Reconocimiento FDA: 14-562)
- Association for the Advancement of Medical Instrumentation. (2020). *Diseño, prueba y etiquetado de dispositivos médicos reutilizables para su reprocesamiento en instalaciones de atención de la salud: Guía para fabricantes de dispositivos* (AAMI TIR12:2020). AAMI. (Reconocimiento FDA: 14-602)
- International Organization for Standardization. (2019). *Indicadores biológicos — Parte 7: Guía para la selección, uso e interpretación de resultados* (ISO 11138-7:2019). ISO. (Número de reconocimiento FDA: 14-610)
- U.S. Food and Drug Administration. (2008). *Guía para la industria: Presentación y revisión de la información de esterilidad en las notificaciones previas a la comercialización (510(k)) para dispositivos etiquetados como estériles*. <https://www.fda.gov/media/70865/download>
- U.S. Pharmacopeial Convention. (2024). <1229.5> Indicadores biológicos para esterilización. En *Farmacopea de los Estados Unidos y Formulario Nacional* (USP 47-NF 42). <https://www.uspnf.com>
- Organización Mundial de la Salud & Organización Panamericana de la Salud. (2016). *Descontaminación y reprocesamiento de dispositivos médicos para establecimientos de salud*. Organización Mundial de la Salud.

Terraene

