

Sporentests als Bioindikatoren

sind in der DIN 58946-Teil 8 als Kriterium für die Überprüfung von Dampfsterilisationsprozessen festgelegt.

Zur Qualitätskontrolle der Sterilisation muss neben anderen Überwachungsmaßnahmen eine Überprüfung mit Bio-Indikatoren **mindestens halbjährlich** oder nach 400 Sterilisationsläufen erfolgen (siehe u.a. DIN 58946, DIN 58947 sowie Richtlinie Robert-Koch-Institut).

Dies gilt sowohl für Heißluft-Sterilisatoren als auch für Autoklaven.

Ein mögliches Produkt ist „Sterikon® plus Bioindikator“ der Fa. Merck:

http://www.merck-chemicals.com/germany/sterikon-plus-bioindikator/MDA_CHEM-110274/p_uuid?WT_oss=110274&WT_oss_r=1

hundert Stück davon kosten ca. 150,00 €, mögliche Bezugsquelle ist „VWR International“:

http://de.vwr.com/app/catalog/Catalog?parent_class_id=5&parent_class_cd=13338

Damit kostet ein Test unter 2 Euro und kann von jedem, der Zugang zu einem Brutschrank hat selbst durchgeführt werden.

Deutsche und englische Gebrauchsanweisung im Anhang.

Mikrobiologie

Sterikon® plus Bioindikator zur Autoklavierungskontrolle

Inhalt

Art. Nr. 1.10274.0001 Packung mit 15 Ampullen mit je 2 ml Sporensuspension

Verwendung

Mit Sterikon® plus Bioindikator MERCK können Autoklaven auf Funktionsfähigkeit (15 Minuten, 121 °C) geprüft werden.

Außerdem kann jegliche Art von Beschickungsgut von Autoklaven nach einer Autoklavierung auf Sterilisationserfolg kontrolliert werden. So zum Beispiel: Pharmazeutika, insbesondere Ampullenpräparate, eingedoste Lebensmittel etc.

In der USP und EP wird zur Autoklavierungskontrolle pharmazeutischer Produkte ein Bioindikator empfohlen.

Prinzip

Der Sterikon® plus Bioindikator MERCK besteht aus einer Ampulle, die Nährbouillon, Zucker, einen pH-Indikator sowie Sporen von *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953 (sporulationsoptimiert) als apathogenen Testorganismus enthält. Die Thermoresistenz ist so abgestimmt, daß die Sporen durch Erhitzen in gespanntem Dampf nach 15 Minuten bei nicht weniger als 121 ° ± 0,5 °C (245 kPa) eine vollständige Abtötung erfahren. Bei niedriger Temperatur oder kürzerer Einwirkzeit überleben die Sporen zumindest teilweise.

Die Ampullen werden dem Beschickungsgut beigegeben. Nach abgelaufener Autoklavierung wird der Sterilisationserfolg durch Bebrüten der Ampullen kontrolliert:

Kein Wachstum von *Geobacillus stearothermophilus* beweist ausreichende Sterilisation, während Wachstum ungenügende Sterilisation anzeigt.

Anwendung

Bei der Autoklavierung wird eine entsprechende Anzahl von Ampullen der Autoklavenladung beigelegt. Es empfiehlt sich, Autoklaven bis zu 250 Liter Rauminhalt mit mindestens 2 Ampullen, solche über 250 Liter mit mindestens 6 Ampullen zu beschicken.

Hinweis: Jede Ampulle vor dem Einsatz in den Autoklaven energisch schütteln um die Sporen fein in die Ampulle zu verteilen.

Zur Vermeidung von Kontamination bei zufälligem Bruch der Ampulle empfiehlt es sich, diese in ein Becherglas einzustellen.

Die Ampullen sind an denjenigen Stellen einzulegen, wo erfahrungsgemäß die ungünstigsten Sterilisationsbedingungen vorliegen, also im unteren und mittleren Raum des Autoklaven. Bei der Autoklavierung größerer Einzelvolumina (z. B. Kolben mit Flüssigkeit) ist eine Testung mit Hilfe des Bioindikators nur möglich, wenn man die Ampulle in der Mitte des jeweiligen Gefäßes plaziert (z. B. in einen Kolben einhängt oder in den Konserveninhalt einlegt). Eine weitere Anwendungsmöglichkeit des Sterikon® plus Bioindikators besteht in der Prüfung von Autoklaven auf volle Funktionsfähigkeit, d.h. zu prüfen, ob ein Autoklav die vorgeschriebene Temperatur von 121 ° ± 0,5 °C im gesamten Innenraum erreicht und über die vorgeschriebene Zeit von 15 Minuten beibehält.

Nach der Sterilisation werden die Ampullen entnommen und bei 60 ° ± 2 °C für 48 Stunden bebrütet. Als Kontrolle ist eine nicht sterilisierte Ampulle mit zu bebrüten. Eine Anwendung bei mehr als 125 °C Sterilisationstemperatur ist wegen möglicher Schädigung des Bioindikators nicht zu empfehlen.

Auswertung

Bei ausreichender Sterilisation sind die Sporen von *Geobacillus stearothermophilus* abgetötet. Die Farbe des Ampulleninhalts bleibt rot bis rot violett.

Bei ungenügender Sterilisation überleben die Sporen von *Geobacillus stearothermophilus*. Der Ampulleninhalt zeigt gewöhnlich schon innerhalb 24 Stunden Bebrütung einen Farbumschlag nach gelb bis gelb orange durch Säurebildung infolge Zuckervergärung sowie eine leichte Wachstumstrübung. Bei partieller Schädigung der Sporen kann sich die Reaktion verzögern.

Der Inhalt der Kontroll-Ampulle schlägt ebenfalls nach gelb-orange um und wird leicht trübe.

Haltbarkeit

Bei vorschrittmäßiger Lagerung im Kühlschrank (+2 ° bis +8 °C) mindestens haltbar bis zu dem auf der Packung aufgedruckten Verfalldatum.

Aufbewahrung

Die Lagerung der Ampullen sollte im Kühlschrank bei +2 ° bis +8 °C erfolgen. Aufbewahrung bei Zimmertemperatur (bis ca. 25 °C) ist für eine begrenzte Zeit von etwa 1–2 Wochen möglich. Aufbewahrung bei Temperaturen über +30 °C beeinträchtigt die Haltbarkeit.

Kennwerte

Die Kennwerte des Sterikon® plus Bioindikators sind:

n = 5 x 10⁵–1 x 10⁷ pro Einheit

D₁₂₁ = 1,5 ± 2,0 Minuten

Analog den Ausführungen der USP sind die Hitzeresistenz und Sporenzahl derart aufeinander abgestimmt, daß nach einer Sterilisationszeit von 6 Minuten und 121 ° ± 0,5 °C in allen Ampullen überlebende Sporen vorhanden sind, während nach einer Sterilisationszeit von 15 Minuten und 121 °C ± 0,5 °C alle Sporen abgetötet sind. Für die Zwischenperiode werden sowohl Ampullen mit lebenden Sporen als auch Ampullen mit toten Sporen gefunden.

Die Sporen befinden sich bereits in Nährlösung.

Literatur

I.D. Costin, J. Grigo: Bioindikatoren zur Autoklavierungskontrolle. Einige theoretische Aspekte u. praktische Erfahrungen bei der Entwicklung und Anwendung. – Zbl. Bakt. Hyg., I. Orig. A, **227**, 483–521 (1974).

H. Seyfarth: Vorschriften der USP XXIV für die Durchführung der Sterilitätsprüfung. – Pharm. Ind. **37/2**, 87–91 (1975).

J. Grigo, I.D. Costin: Vorschriften der USP XXIV für die Anwendung von Bioindikatoren zur Sterilitätskontrolle. – Pharm. Ind. **37/3**, 179–181 (1975).

N. Holstein: Untersuchungen zur Funktionsprüfung von Autoklaven mittels Bioindikatoren. – Zbl. Bakt. Hyg., I. Orig. **160**, 443–457 (1975).

United States Pharmacopoeia 23 (1995).

European Pharmacopoeia, 3rd edition 1992.



Sterikon® plus Bioindicator

For professional use only.

Principle

The Sterikon® plus Bioindicator consists of an ampoule that contains a nutrient broth, sugar, a pH indicator and spores of a non-pathogenic organism, *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953 (sporulation optimized). The thermal resistance is such that the spores are completely killed after 15 minutes, when heated in compressed steam at a temperature of 121 ± 0.5 °C (245 kPa). At lower temperatures or lower exposure times a small number of spores can survive and are capable of growing.

The ampoules are placed into the autoclave along with the batch to be autoclaved. After autoclaving, the success of the sterilization process is checked by incubation of the ampoules:

No growth of *Geobacillus stearothermophilus* indicates adequate sterilization, whereas growth shows inadequate sterilization.

Application

Using the Merck Sterikon® plus Bioindicator System it is possible to check the efficiency of autoclaving cycle for 15 minutes at 121 °C.

Furthermore it is possible to control the sterilization success of any kind of autoclave-loading after autoclaving.

For example:

pharmaceuticals, especially drugs in ampoule form, canned food, culture media, etc.

In the USP and EP the use of a bioindicator for the autoclavation control of pharmaceutical products is recommended.

Procedure

An appropriate number of ampoules are included in the batch to be autoclaved. Autoclaves with a capacity of up to 250 litres should be checked with at least 2 ampoules, whilst those with a capacity of more than 250 litres should have at least 6 ampoules. In order to avoid contamination by accidental breakage, it is advisable to place the ampoules in a glass beaker.

The ampoules are placed in the autoclave at sites where the most unfavourable conditions for sterilization are thought to exist, i.e. at the bottom and in the middle of the autoclave. If a single large volume of material is to be autoclaved (e.g. flasks containing a liquid), a test using the bioindicator is possible only when the ampoule is placed in the centre of the vessel in question (e.g. suspended in a flask or immersed in the contents of a tin of food). The Sterikon® plus Bioindicator can also be used to check the functional efficiency, i.e. to test whether the prescribed temperature of 121 °C is reached within the entire autoclave and whether the temperature remains constant over the whole of the prescribed period of 15 minutes.

After sterilization, the ampoules are removed and incubated 48 hours at 60 ± 2 °C. A non-sterilized ampoule should also be incubated to serve as a control. Use of the ampoules at temperatures exceeding 125 °C sterilization temperature should be avoided to prevent the possibility of damaging the bioindicator.

Evaluation

If sterilization is adequate, the *Geobacillus stearothermophilus* spores are killed off. The contents of the ampoule remains a clear red-violet colour.

If sterilization is inadequate, some spores of *Geobacillus stearothermophilus* survive. The contents of the ampoules then usually turn yellow-orange within 24 hours due to the formation of acid as a result of sugar fermentation and also become turbid due to microbial growth. In cases in which the spores are partially damaged, the reaction may be delayed.

The contents of the control ampoule also turn yellow-orange and become slightly turbid.

Storage

When Stored At The Prescribed Temperature (2 To 8 °c) In The Refrigerator, The Bioindicator Is Stable At Least Up To The Expiry Date Printed On The Pack.

The Ampoules Should Be Stored In The Refrigerator At 2 To 8 °c. Storage At Room Temperature (Up To Approx. 25 °c) Is Possible For A Limited Period Of About 1-2 Weeks. Storage At Temperatures Exceeding 30 C Effects The Product Stability.

Specifications

The specifications of Sterikon® plus Bioindicator are as follows:

| | |
|------------------------|---|
| n | = 5×10^5 - 1×10^7 spores per unit |
| D₁₂₁ | = 1.5 to 2.0 minutes |

Acc. to the USP the heat-resistance and the number of spores are optimized, when after a sterilization time of 6 minutes at 121 ± 0.5 °C all ampoules contain living spores, whereas after 15 minutes autovlaving at 121 ± 0.5 °C all spores are dead. For the period in between there will be come ampoules which contain living spores and some ampoules where all spores are dead.

The spores are already in a nutrient broth.

Literature

I.D. costin, J. Grigo: Bioindikatoren zur Autoklavierungskontrolle. Einige theoretische Aspekte u. praktische erfahrungen bei der Entwicklung und Anwendung. - Zbl. Bakt. hyg., I. Orig. A. **227**, 483-521 (1974).

H. Seyfarth: Vorschriften der USP XXIV für die Durchführung der Sterilitätsprüfung. - Pharm. Ind. **37/2**, 87-91 (1975).

J. Grigo, I.D. Costin: Vorschriften der USP XXIV für die Anwendung von Bioindikatoren zur Sterilitätskontrolle. - Pharm. Ind. **37/3**, 179-181 (1975).

N. Holstein: Untersuchungen zur Funktionsprüfung von Autoklaven mittels Bioindikatoren. - Zbl. Bakt. Hyg., I. Orig. **160**, 443-457 (1975).

United States Pharmacopoeia 23 (1995).

European Pharmacopoeia, 3rd edition 1992.

Ordering Information

| Product | Ordering No. | Pack size |
|-----------------------------|---------------|--|
| Sterikon® plus Bioindicator | 1.10274 .0001 | Pack containing 15 ampoules, each with 2 ml of spore suspension |
| Sterikon® plus Bioindicator | 1.10274.0002 | Pack containing 100 ampoules, each with 2 ml of spore suspension |



Non-sterile = yellow-orange (growth)



Sterile = red-violet (no growth)