

Biological indicators of ethylene oxide sterilization processes
containing *Bacillus atropheus* (ATCC 9372) spores self-contained.

DESCRIPTION

USP (United States Pharmacopoeia) and EP (European Pharmacopoeia) standards, recommend to use bioindicators during ethylene oxide sterilization processes.

STERILtest BAT E6/E5 self-contained are made of a thermoplastic tube, with a cup permeable to ethylene oxide, that contains an ampoule with a nutrient broth with a pH indicator and a disc impregnated with *Bacillus atropheus* (ATCC 9372) spores in predefined concentrations (E6=1-5x10⁶UFC/disc; E5=1-5x10⁵UFC/disc).

These bioindicators are used for validation, re-validation and process monitoring of ethylene oxide sterilizers.

Biological indicators **STERILtest BAT E6/E5 self-contained** are produced under strictly controlled conditions in order to satisfy the requirements indicated in the USP current edition and in accordance with ISO 11138 and EN 866 standards.

PRINCIPLE

STERILtest BAT E6/E5 self-contained contains, inside a thermoplastic tube, a paper disc impregnated with *Bacillus atropheus* (ATCC 9372) spores in predefined concentrations (E6=1-5x10⁶UFC/disc; E5=1-5x10⁵UFC/disc).

The tube contains also a small glass ampoule with nutrient broth with a pH indicator. Spores are completely killed off during the ethylene oxide sterilization process if the process has been efficient. Therefore during the following incubation in the culture medium, contained inside the ampoule, they are not able to grow and to modify the medium's colour.

On the contrary if the sterilization process has not been efficient, spores partially survive and therefore during the incubation are able to grow and to modify the medium's colour.

INSTRUCTIONS FOR USE

- Take one or more **STERILtest BAT E6/E5 self-contained** from the package.
- Put the **STERILtest BAT E6/E5 self-contained** on the bottom, in the centre, inner sides and on the critical points of the sterilizer.
- For sterilizer with capacity up to 250 litres put two **STERILtest BAT E6/E5 self-contained** for each selected point of the sterilizer. For sterilizers with capacity higher than 250 litres put six or more **STERILtest BAT E6/E5 self-contained** in each selected point.
- Remove the **STERILtest BAT E6/E5 self-contained** after sterilization/aeration cycle, and activate them by breaking the glass ampoule through pressure to permit contact between culture medium and spores.
- Incubate the activated **STERILtest BAT E6/E5 self-contained** at 30-35 °C (86-95 °F) for 7 days or for a different time validated by user.
- Incubate, at the same conditions of time and temperature, a **STERILtest BAT E6/E5 self-contained**, activated by breaking the glass ampoule through pressure, not submitted to the sterilization cycle and belonging to the same batch, as spore growth control (positive control).
- Examine **STERILtest BAT E6/E5 self-contained** colour and interpret results as per **EVALUTATION TABLE**: a change of medium's colour from violet/clear to yellow/turbid indicates a microbial growth and therefore an unsuccessful sterilization. On the contrary, the persistence of the medium's initial colour (violet/clear) indicates absence of microbial growth and therefore a successful sterilization.

EVALUATION

Bacillus atropheus (ATCC 9372) spores are killed off if the sterilization cycle has been efficient: in this case the broth contained in **STERILtest BAT E6/E5 self-contained** remains violet/clear even after incubation at 30-35 °C (86-95 °F) for the selected time. If the sterilization cycle has not been efficient, spores partially survive and the broth contained in **STERILtest BAT E6/E5 self-contained** turns yellow/turbid after incubation at 30-35°C (86-95°F) for the selected time. The broth contained in **STERILtest BAT E6/E5 self-contained** not submitted to the sterilization cycle and used as spore growth control has to turn yellow/turbid after incubation. On the contrary, the test must be repeated after having investigated the causes of the negative result.

EVALUATION TABLE		
MEDIUM COLOUR	SPORE	STERILIZATION
Violet / Clear	Killed off	Successful
Yellow / Turbid	Vital	Unsuccessful

STERILTEST TREATMENT AFTER USE

After use, sterilize the positive **STERILtest BAT E6/E5 self-contained** (yellow/turbid) in autoclave at 121 °C for at least 30 minutes and eliminate them in accordance with the procedures of the laboratory.

STORAGE

Store the product at 10-25 °C: in these conditions it maintains its validity until the expiry date indicated on the label.

BIBLIOGRAPHY

- United States Pharmacopoeia ultima edizione.
- European Pharmacopoeia ultima edizione.
- ISO 11138 e EN 866 ultima edizione.

PRESENTATION

PRODUCT	CODE	PACKAGING	SPORES: UFC / disc	D _{EO} (600±30 mg/l, 60%±10% RH, 54±1 °C)
STERILtest BAT E6 self-contained	91150	100 units	1-5x10 ⁶	2,6-4,5 minutes
STERILtest BAT E5 self-contained	91151	100 units	1-5x10 ⁵	2,6-4,5 minutes

D value for ethylene oxide is calculated with the MPN and SC methods with 600±30 mg/L of ethylene oxide, at a temperature of 54±1 °C, with 50-70% humidity.

TABLE OF SYMBOLS

 Manufacturer	 Contains sufficient for <n> tests	 Temperature limitation
 Catalogue number	 Fragile, handle with care	 Caution, consult accompanying documents
 Use by	 Batch code	 Do not reuse



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY
Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com

liofilchem@liofilchem.com

Rev.1 / 09.03.2020

Indicatori biologici dei processi di sterilizzazione con ossido di etilene
contenenti spore di *Bacillus atropheus* (ATCC 9372) self-contained.

DESCRIZIONE

Le norme USP (United States Pharmacopoeia) ed EP (European Pharmacopoeia) raccomandano l'uso di bioindicatori durante i processi di sterilizzazione con ossido di etilene.

Gli indicatori biologici **STERILtest BAT E6/E5 self-contained** sono costituiti da una provetta in termoplastica, provvista di tappo permeabile all'ossido di etilene, che contiene all'interno un'ampolla di brodo nutritivo con un indicatore di pH ed un dischetto inoculato con quantità predefinite di spore di *Bacillus atropheus* (ATCC 9372).

Questi bioindicatori vengono utilizzati per la validazione, per la riqualifica e per il monitoraggio di processo degli sterilizzatori ad ossido di etilene.

Gli indicatori biologici **STERILtest BAT E6/E5 self-contained** vengono prodotti in condizioni strettamente controllate in modo da soddisfare i requisiti indicati nell'edizione attualmente in vigore dell'USP ed in accordo con le norme ISO 11138 ed EN 866.

PRINCIPIO

Gli indicatori biologici **STERILtest BAT E6/E5 self-contained** contengono, all'interno di una provetta in termoplastica, un dischetto di carta impregnato di spore di *Bacillus atropheus* (ATCC 9372) in concentrazioni predefinite (E6=1-5x10⁶UFC/dischetto; E5=1-5x10⁵UFC/dischetto).

La provetta contiene inoltre una piccola ampolla in vetro con brodo nutritivo e un indicatore di pH. Le spore del microrganismo vengono completamente distrutte durante il processo di sterilizzazione con ossido di etilene se il processo è stato efficiente. Quindi durante l'incubazione successiva nel terreno colturale, contenuto all'interno dell'ampolla, non sono in grado di svilupparsi e di modificare il colore del terreno stesso. Qualora invece il processo di sterilizzazione non sia stato efficiente, le spore sopravvivono parzialmente e quindi durante l'incubazione sono in grado di svilupparsi e di modificare il colore del terreno.

MODALITÀ D'USO

- Prelevare uno o più **STERILtest BAT E6/E5 self-contained** dalla confezione.
- Disporre gli **STERILtest BAT E6/E5 self-contained** sul fondo, al centro, sulle pareti e nei punti critici dello sterilizzatore.
- Per sterilizzatori con capacità fino a 250 litri disporre due **STERILtest BAT E6/E5 self-contained** per ogni punto prescelto dello sterilizzatore. Per sterilizzatori con capacità superiore a 250 litri disporre sei o più **STERILtest BAT E6/E5 self-contained** per ogni punto prescelto.
- Togliere gli **STERILtest BAT E6/E5 self-contained** dopo il ciclo di sterilizzazione/aerazione, ed attivarli rompendo l'ampolla in vetro mediante pressione, per permettere il contatto del terreno colturale con le spore.
- Incubare gli **STERILtest BAT E6/E5 self-contained** attivati, a 30-35 °C (86-95 °F) per 7 giorni oppure per un tempo ridotto sottoposto a validazione da parte dell'utilizzatore.
- Incubare, alle stesse condizioni di tempo e temperatura, uno **STERILtest BAT E6/E5 self-contained**, attivato rompendo l'ampolla in vetro mediante pressione, non sottoposto al ciclo di sterilizzazione e appartenente allo stesso lotto, come controllo di crescita delle spore (controllo positivo).
- Valutare il colore degli **STERILtest BAT E6/E5 self-contained** ed interpretare i risultati come da **SCHEMA DI VALUTAZIONE**: un cambiamento di colore dal viola/limpido al giallo/torbido del terreno è indice di crescita microbica e quindi di sterilizzazione mancata. Al contrario la permanenza della colorazione iniziale (viola/limpido) del terreno è indice di assenza di crescita microbica e quindi di sterilizzazione superata.

VALUTAZIONE

Le spore di *Bacillus atropheus* (ATCC 9372) vengono distrutte se il ciclo di sterilizzazione è stato efficiente: in questo caso il brodo dello **STERILtest BAT E6/E5 self-contained** rimane di colore viola/limpido anche dopo incubazione a 30-35 °C (86-95 °F) per il tempo prescelto. Se il ciclo di sterilizzazione non è stato efficiente, le spore sopravvivono parzialmente e il brodo dello **STERILtest BAT E6/E5 self-contained** vira al giallo/torbido dopo incubazione a 30-35 °C (86-95 °F) per il tempo prescelto. Il brodo dello **STERILtest BAT E6/E5 self-contained** non sottoposto al ciclo di sterilizzazione ed usato come controllo di crescita delle spore deve virare al giallo/torbido dopo incubazione. In caso contrario il test deve essere ripetuto dopo aver indagato sulle cause del risultato negativo.

SCHEMA DI VALUTAZIONE		
COLORE DEL TERRENO	SPORE	STERILIZZAZIONE
Viola / Limpido	Distrutte	Superata
Giallo / Torbido	Vitali	Mancata

TRATTAMENTO DEGLI STERILTEST DOPO L'USO

Dopo l'uso, autoclavare gli **STERILtest BAT E6/E5 self-contained** positivi (giallo/ torbido) a 121 °C per almeno 30 minuti ed eliminarli in accordo con le pratiche in uso in laboratorio.

CONSERVAZIONE

Il prodotto deve essere conservato a 10-25 °C: in tali condizioni mantiene la sua validità fino alla data di scadenza riportata in etichetta.

BIBLIOGRAFIA

- United States Pharmacopoeia ultima edizione.
- European Pharmacopoeia ultima edizione.
- ISO 11138 e EN 866 ultima edizione.

PRESENTAZIONE

PRODOTTO	CODICE	CONFEZIONE	Spore: UFC / dischetto	D _{EO} (600±30 mg/l, 60%±10% RH, 54±1 °C)
STERILtest BAT E6 self-contained	91150	100 unità	1-5x10 ⁶	2,6-4,5 minuti
STERILtest BAT E5 self-contained	91151	100 unità	1-5x10 ⁵	2,6-4,5 minuti

Il valore di D per l'ossido di etilene è calcolato con il metodo MPN e SC con 600±30 mg/L di ossido di etilene, alla temperatura di 54±1 °C, con umidità pari al 50-70%.

TABELLA DEI SIMBOLI

 Fabbricante	 Contenuto sufficiente per "n" saggi	 Limiti di temperatura
 Numero di catalogo	 Fragile, maneggiare con cura	 Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso
 Utilizzare entro	 Codice del lotto	 Non riutilizzare



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY
Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com

liofilchem@liofilchem.com

Rev.1 / 09.03.2020