

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 390 632**

51 Int. Cl.:

A61L 2/00 (2006.01)

A61L 2/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08770008 .4**

96 Fecha de presentación: **03.06.2008**

97 Número de publicación de la solicitud: **2155264**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **24.02.2010**

54 Título: **Procedimiento para establecer una dosis de esterilización para productos sensibles a la radiación**

30 Prioridad:
07.06.2007 US 759279

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
14.11.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
14.11.2012

73 Titular/es:
**ETHICON, INC. (100.0%)
U.S. ROUTE 22
SOMERVILLE, NJ 08876-1515, US**

72 Inventor/es:
**KOWALSKI, JOHN, B. y
YEADON, STEPHEN, C.**

74 Agente/Representante:
CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 390 632 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento para establecer una dosis de esterilización para productos sensibles a la radiación

Antecedentes de la invención

5 La presente invención se refiere a la esterilización por radiación y más concretamente a la determinación de una dosis de radiación mínima, pero eficaz, para la esterilización.

10 Los procedimientos 1 y 2 de ajuste de la dosis, utilizados para la validación de una dosis de radiación de esterilización, se desarrollaron a principios de los 80. En ese momento, la cantidad de 2,5 megarads (25 kGy) se contemplaba como una dosis generalmente aceptable para la esterilización de dispositivos médicos. Sin embargo, se reconocía que muchos dispositivos médicos tenían un nivel de garantía de la esterilidad (NGE) de 10^{-6} a dosis inferiores y algunos requerían una dosis superior a 25 kGy para lograr este NGE. Eran características importantes de los dispositivos médicos utilizados en el trabajo de desarrollo para los Procedimientos 1 y 2 su fabricación en entornos mínimamente controlados, que daba como resultado unos niveles y una diversidad de tipos de carga microbiana relativamente más altos, y los materiales de construcción que se veían relativamente poco afectados por las dosis de radiación de 25 a 75 kGy.

15 Muchos productos sanitarios que están actualmente en desarrollo difieren significativamente de los que se producían a principios de los 80 al tener uno o más componentes bioactivos que son relativamente sensibles a los daños por radiación y que se fabrican en un entorno altamente controlado que limita los números y tipos de microorganismos contaminantes. Con frecuencia, algunos o la totalidad de los componentes de estos productos sanitarios se esterilizan antes de su introducción en el procedimiento de fabricación.

20 El principio subyacente clave de los Procedimientos 1 y 2 (véase la norma ISO 11137-2, 2006) es el uso del ensayo directo de la respuesta a la radiación de la carga microbiana del producto como parte de la determinación de una dosis para lograr un NGE de 10^{-6} . Con ambos procedimientos, se realiza un ensayo en el que se irradian 100 unidades de producto y se realiza un ensayo de esterilidad a una dosis que se espera que de como resultado ~ 1 artículo no estéril (10^{-2} NGE) de entre los 100 artículos sometidos a ensayo.

25 El Procedimiento 2B está indicado para una "carga microbiana baja y constante", pero estos términos cualitativos no están definidos rigurosamente. Con este procedimiento, no se hace ninguna determinación del nivel de carga microbiana del producto y la dosis de radiación utilizada para las 100 unidades de producto se calcula realizando un "experimento de dosis graduales" (IDE); este procedimiento utiliza un IDE con los siguientes valores de dosis: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, y 8 kGy. Se irradian veinte unidades de producto a cada una de estas dosis y se someten a un ensayo de esterilidad. El propósito del IDE es identificar la dosis "primera fracción positiva" (FFP), la primera dosis a la que se encuentra que por lo menos una unidad de producto es estéril y los demás artículos no son estériles (tal como 19/20 no estériles).

35 La dosis más baja en el IDE cuyo resultado es $0^+/20$ es una estimación de la dosis que proporcionará un NGE de 10^{-2} . Se irradian cien unidades de producto a esta dosis; este ensayo se denomina "ensayo de comprobación de dosis" (VDE). Si en el VDE se observan 0, 1, ó 2 ensayos de esterilidad positivos, la dosis administrada se denomina dosis "primer no-positivo" (FNP). La determinación de las dosis FFP y FNP permite, en el Procedimiento 2, calcular un factor, denominado "DS", que se utiliza para obtener una dosis de esterilización 10^{-6} a partir de la dosis NGE 10^{-2} determinada experimentalmente.

40 La dificultad a la hora de aplicar el Procedimiento 2B a los productos actuales con una carga microbiana media baja que se fabrican en entornos altamente controlados es la manera en que se calcula el valor DS. El uso del cálculo " $DS = 1,6 + (FNP - FFP)$ " establece un límite inferior en el valor DS igual a 1,8 kGy que proporciona una dosis de esterilización mínima de 8,2 kGy [dosis de esterilización = dosis 10^{-2} + $4(DS) = 1,0 + 4(1,8) = 8,2$; FNP = 1,0 kGy]. Una dosis de esterilización de 8,2 kGy es demasiado conservadora, por ejemplo, para un producto con una carga microbiana de 1,0 compuesta por microorganismos que son relativamente sensibles a la radiación. La presente invención supera las limitaciones de los procedimientos de las normas vigentes en la determinación de una dosis eficaz para los materiales sensibles a la radiación que tienen cargas microbianas bajas.

Además de lo anteriormente indicado, en el documento US 2006280645 se desvela un sistema de administración de un agente transdérmico y procedimientos para esterilizar un dispositivo transdérmico que están adaptados para administrar un péptido natriurético.

50 El sistema contiene un elemento de microproyección que tiene una pluralidad de microsaliertes de perforación del estrato córneo que están recubiertos con un recubrimiento biocompatible que tiene por lo menos un péptido natriurético dispuesto sobre los mismos. Se dice que el elemento de microproyección se expone a radiación para su esterilización, conservando al mismo tiempo una actividad suficiente del péptido natriurético. En un aspecto, el elemento de microproyección se sella durante el envasado con una atmósfera inerte y humedad reducida. En otro aspecto, se dice que la radiación esterilizadora es radiación gamma o haz de electrones, que se administra a una dosis en el intervalo de aproximadamente 14-21 kGy y se realiza a $-78,5$ - 25°C . Se dice que la velocidad de administración de la radiación preferente es superior a 3,0 kGy/h.

En el documento EP 1785153 se desvelan procedimientos de esterilización de lentes de contacto de hidrogel de silicona. Se dice que los procedimientos incluyen la exposición de una o más lentes de contacto de hidrogel de silicona a radiación de alta energía, tal como radiación gamma o radiación de haz de electrones. En el documento EP 1785153 se desvelan también paquetes esterilizados que contienen lentes de contacto de hidrogel de silicona.

- 5 En el documento US 2007084145 se desvela un embalaje para una prenda de vestir y un procedimiento para la formación de la prenda de vestir. En el procedimiento, se coloca por lo menos una prenda de vestir no estéril en una bolsa termosellable, se forma un vacío en la bolsa y la bolsa se termosella. A continuación, se coloca la bolsa en una cubierta de cartón y se cierra la cubierta de cartón. Esta disposición define un conjunto. El conjunto se coloca en una caja de cartón, y se cierra la caja de cartón. Después de ello, la caja que contiene el conjunto se irradia a un nivel de
10 garantía de la esterilidad deseado. Todas las etapas pueden realizarse en una sala limpia, o las etapas antes de formar el conjunto se realizan en la sala limpia y las etapas después del conjunto se realizan fuera de la sala limpia.

- En el documento US 2007111196 se desvelan procedimientos para fabricar un biodetector esterilizado. Se dice que el biodetector comprende por lo menos un reactivo de unión, que se dice que a su vez comprende por lo menos un dominio de unión proteico no enzimático. Determinados aspectos descritos en el documento US 2007111196 implican montar parcialmente los componentes del biodetector, a excepción del reactivo de unión, y esterilizar por separado este conjunto parcial y el reactivo de unión. A continuación, el reactivo de unión esterilizado y el conjunto parcial esterilizado se montan asépticamente para producir el biodetector esterilizado. Otros aspectos descritos en el documento US 2007111196 implican el montaje de prácticamente la totalidad de los componentes del biodetector, incluyendo el reactivo de unión, y la esterilización del biodetector montado para producir un biodetector esterilizado.

20 **Sumario de la invención**

- La presente invención proporciona un procedimiento para esterilizar objetos con radiación, comprendiendo el procedimiento las etapas que consisten en determinar una dosis de radiación suficiente para asegurar la esterilización a un nivel de garantía de la esterilidad (NGE) objetivo de 10^{-6} y a continuación aplicar dicha dosis de radiación a los objetos, y en el que la etapa que consiste en determinar dicha dosis incluye las etapas que consisten
25 en: determinar una estimación de la dosis que da como resultado un NGE especificado sometiendo a ensayo una cantidad de muestras de los objetos a distintos niveles de dosis de radiación para determinar una dosis por debajo de la cual no todas las muestras son esterilizadas y por encima de la cual son esterilizadas, en el que dicho NGE especificado es superior a dicho NGE objetivo; confirmar la estimación de la dosis que da como resultado dicho NGE especificado sometiendo a ensayo una cantidad de muestras de los objetos a la dosis que se estimó; y calcular una
30 dosis para el NGE objetivo de 10^{-6} añadiendo un factor a la dosis que se confirmó que da como resultado dicho NGE especificado, caracterizado porque dicho procedimiento comprende adicionalmente determinar una carga microbiana en una o más muestras de los objetos antes de la esterilización, y en el que dicho factor es proporcional a la dosis que proporciona dicho NGE especificado de supervivencia de un microorganismo e inversamente proporcional a un logaritmo de dicha carga microbiana.

- 35 Preferentemente, la carga microbiana es igual o inferior a 20 UFC, y más preferentemente inferior a 5 UFC.

Preferentemente, el NGE especificado es 0,01. Preferentemente, la cantidad es de 100 muestras de los objetos para confirmar que la dosis estimada da como resultado una probabilidad de supervivencia de un microorganismo de 0,01.

- 40 Preferentemente, el factor es igual a $PV \cdot (CD / (2 + \log(BB)))$, en el que PV representa un valor de proporcionalidad, CD representa la dosis que se ha confirmado que da como resultado una probabilidad de supervivencia de un microorganismo de 0,01 y BB representa la carga microbiana en unidades formadoras de colonias. Preferentemente, PV oscila entre 1,0 y 10,0. Preferentemente PV es 2 o superior, más preferentemente entre 2 y 3, siendo lo más preferente 2,2.

En un aspecto de la invención, el objeto comprende una proteína.

45 **Descripción detallada de la invención**

- Una limitación a la utilización de la esterilización por radiación son los efectos perjudiciales que la radiación ionizante puede tener sobre el producto que está siendo irradiado. De forma similar, no puede aplicarse la esterilización por vapor a un producto lábil al calor. El calor también puede ser una limitación para el óxido de etileno, así como los efectos producidos a partir de la reacción con el propio gas. Con la tecnología moderna, puede producirse un
50 producto lábil al calor o sensible a otro procedimiento mediante el procesamiento aséptico hasta un nivel en el que menos de uno entre cien artículos están contaminados. Tal producto no puede conseguir de manera realista un NGE de 10^{-6} a través de un procedimiento aséptico, pero podría llevarse, siempre que el producto pueda soportar la dosis de radiación necesaria, a un NGE de 10^{-6} mediante una dosis de radiación relativamente baja.

- El mundo microbiano contiene un gran número de especies que varían ampliamente en su resistencia a la radiación ionizante. Aunque muchos son extremadamente sensibles hay algunos que son muy resistentes a la radiación, por lo tanto un elemento esencial de cualquier procedimiento de ajuste de la dosis aceptable es la inclusión en el procedimiento de una etapa que mida la respuesta a la radiación de la carga microbiana del producto.

La presente invención mejora los procedimientos anteriores para determinar la dosis de esterilización específica de producto NGE 10^{-6} que tiene un nivel de conservadurismo apropiado. Incluye una determinación de la carga microbiana para calcular con mayor precisión las dosis de esterilización en presencia de una carga microbiana baja.

5 Para determinar la dosis de esterilización de acuerdo con la presente invención resulta preferible seleccionar por lo menos 270 unidades de producto de cada uno de tres lotes de producción independientes de un producto a esterilizar. La carga microbiana se determina para cada una de diez unidades de producto seleccionadas no estériles de cada lote, incluyendo la carga microbiana media por artículo para cada uno de los tres lotes y la carga microbiana media por artículo para todas las unidades de producto seleccionadas. Resulta preferible determinar la carga microbiana en unidades de producto individuales, pero si la carga microbiana es demasiado baja, es posible 10 sacar diez artículos de un solo lote con el fin de determinar una carga microbiana media del lote. Preferentemente, la carga microbiana se determina según la norma ISO 11737.

El nivel medio de carga microbiana para cada uno de los tres lotes se compara con la carga microbiana media global para determinar si cualquiera de los promedios de lote es dos o más veces superior a la carga microbiana media global. Si uno o más de los promedios de lote es dos o más veces superior a la carga microbiana media global, entonces, para los cálculos posteriores, la carga microbiana utilizada debe ser el promedio de lote más alto, de lo 15 contrario para los cálculos posteriores se utilizará la carga microbiana media global.

Se realiza un IDE irradiando veinte unidades de producto de uno de los tres lotes de producción a una de una serie de dosis no inferior a ocho que aumentan en incrementos nominales de 0,25 kGy a partir de no menos de 0,25 kGy. Cada una de éstas se controla con dosímetros. Preferentemente, las dosis deben estar dentro de una tolerancia de 20 +0,05 kGy o +10%, lo que sea mayor. A continuación, se someten a ensayo las unidades de producto irradiadas para verificar la esterilidad y se anota el número de ensayos positivos. Preferentemente, tales ensayos siguen la norma ISO 11737-2.

A continuación se determina la dosis FNP. Para cada uno de los tres lotes la dosis FNP es la más baja de dos dosis consecutivas a las que todos los ensayos de esterilidad resultan negativos seguido de no más de un ensayo positivo 25 adicional en cualquiera de los demás ensayos en las series de dosis graduales. De manera alternativa, la FNP puede determinarse buscando la dosis más baja a la que se da un positivo en 20 ensayos de esterilidad inmediatamente precedido de una y sólo una dosis gradual a la que todos los ensayos fueron negativos y seguido de dosis graduales a las que todos los ensayos son negativos. Esta información se utiliza para determinar una "dosis de verificación" (VD), que es igual a la mayor de las tres dosis FNP.

30 La VD se utiliza para realizar un VDE en el que 100 productos de cada uno de los tres lotes se irradian a la VD. Las tolerancias para el VDE deben ser similares a las del IDE. Las unidades de producto irradiadas se someten a ensayo individualmente para verificar la esterilidad y se registra el número de ensayos positivos. No deben aparecer más de dos ensayos positivos de esterilidad para cada uno de los lotes.

Estos datos se utilizan a continuación para calcular un valor D_{10} primario (PD_{10}) utilizando la fórmula 35 $PD_{10} = VD / (2 + \log(BB))$, donde BB es la carga microbiana media del lote en unidades formadoras de colonias (UFC).

Los autores de la presente invención han examinado un gran número de poblaciones reales y una gran serie de poblaciones simuladas de microorganismos para determinar la relación de la D_{10} requerida para reducir cada población en un amplio intervalo de números de carga microbiana entre los que proporcionan un NGE de 10^{-2} (PD_{10}) 40 y la necesaria para reducir la población restante a la dosis de 10^2 a una NGE de 10^{-6} . La segunda D_{10} se denomina D_{10} terminal o TD_{10} .

Se ha descubierto que las poblaciones A a F que comprenden las distribuciones de resistencias de seis poblaciones microbianas diferentes, y las modificaciones seleccionadas de las mismas, tienen utilidad como pruebas de 45 exposición en las evaluaciones por ordenador de diversos ajustes de la dosis y procedimientos de comprobación. La Población C es el patrón empleado en el Procedimiento 1 de ajuste de la dosis y, como tal, se diseñó para representar una prueba de exposición muy rigurosa para el procedimiento de esterilización por radiación; al desarrollar la distribución, las mediciones de la resistencia de los microorganismos integrantes que daban valores D_{10} que oscilan entre 1,0 y 4,2 kGy, se llevaron a cabo con los organismos secados en presencia de materia orgánica, creando así deliberadamente condiciones protectoras contra la radiación altamente eficaces. La Población B representa las resistencias de los mismos microorganismos que en la Población C pero con resistencias medidas 50 en ausencia de solutos orgánicos; en conjunto, su respuesta a la radiación es algo superior a la de la Población C, oscilando el intervalo D_{10} entre 0,8 y 3,3 kGy. Se postuló la Población A teórica a partir de la Población B para representar una prueba de exposición microbiana mínima para el procedimiento de esterilización por radiación - se obtuvo reduciendo cada una de las 9 clases de valores D_{10} alrededor del 30% conservando al mismo tiempo las frecuencias de aparición encontradas para la Población B. Evidentemente, la selección inicial de la Población A está 55 en consonancia con el estado microbiológico previsto de los productos candidatos a los que se aplicará un nuevo procedimiento de ajuste de la dosis. D, E y F son las poblaciones que poseen distribuciones de resistencias que presentan respuestas a la radiación mucho menores que la de la Población C y por lo tanto no son relevantes en el presente contexto.

La idea de dividir una curva de dosis-respuesta de la radiación de una población microbiana heterogénea en dos partes distintas se utilizó por primera vez en el desarrollo del Procedimiento VD_{max}. Al llevar adelante esta actividad, se reconoció que, sujeto a pasar el VDE a un NGE especificado (generalmente 10⁻²), es únicamente la respuesta de la población microbiana en el producto que sobrevive a este NGE la que establece la dosis de esterilización para conseguir un NGE objetivo algo inferior a 10⁻² (generalmente 10⁻⁶). Esta respuesta terminal puede definirse cuantitativamente mediante el valor D₁₀ obtenido a partir de la línea recta que une los dos puntos (log 10⁻², dosis a 10⁻²), (log 10⁻⁶, dosis a 10⁻⁶); su valor se ha simbolizado mediante el término TD₁₀. La parte superior de la curva de dosis-respuesta, que se da por encima de un NGE de 10⁻², puede definirse de forma similar a través de una D₁₀ obtenida a partir de la línea que une los puntos (logaritmo de la carga microbiana, dosis = 0), (log 10⁻², dosis a 10⁻²), estando simbolizado su valor por PD₁₀. Este análisis de las curvas de dosis-respuesta de la Población C es la base del Procedimiento VD_{max} que se está aplicando hoy en día a la comprobación de un intervalo de dosis de esterilización que se extiende de 15 a 35 kGy; en este contexto, ha demostrado ser un enfoque valioso y válido (Comentario: con el Procedimiento VD_{max}, la verificación se realiza a un NGE de 10⁻¹ y, por lo tanto, este NGE es el punto de transición de la curva de dosis-respuesta para el cálculo de los valores de PD₁₀ y TD₁₀ para su uso con este procedimiento) .

Las poblaciones microbianas heterogéneas con una respuesta a la radiación heterogénea asociada constituirán generalmente la presente carga microbiana en el producto antes de la esterilización. Tales poblaciones proporcionan inevitablemente valores de TD₁₀ que superan los de PD₁₀ y, por lo tanto, dan relaciones de TD₁₀/PD₁₀ superiores a 1,0. Excepcionalmente, la carga microbiana puede comprender microorganismos de un solo tipo que presentan una respuesta homogénea a la radiación. Las poblaciones homogéneas dan relaciones de 1,0 o, en circunstancias en las que la curva de dosis-respuesta del microorganismo presenta un hombro, inferiores a 1,0.

popA

Para la "Población A" (popA), que es heterogénea, la expectativa es que las relaciones TD₁₀/PD₁₀ sean superiores a 1,0, independientemente del nivel de carga microbiana. Se descubrió que esto era así. Las relaciones TD₁₀/PD₁₀ varían sistemáticamente en el intervalo de carga microbiana, 0,02 a 1.000, teniendo un valor de 2,01 en el límite inferior y 1,67 en el superior pasando al mismo tiempo por un máximo de 2,18 a una carga microbiana de 0,50. La existencia de un máximo es debido a las diferentes velocidades a las que los valores de TD₁₀ y PD₁₀ aumentan con una carga microbiana creciente. El redondeo de este máximo hasta un valor de 2,2 proporciona una elección inicial del coeficiente PD₁₀ con el que pueden compararse los valores de las relaciones TD₁₀/PD₁₀ obtenidas a partir de poblaciones que poseen distribuciones de resistencias distintas de la de popA.

popC

Los valores de las relaciones TD₁₀/PD₁₀ para la "Población C" (popC), otra población microbiana heterogénea, se comportan de una manera similar a la encontrada para popA con carga microbiana creciente. Para los niveles de carga microbiana que se extienden de 0,02 a 1.000, las relaciones oscilan entre 1,78 y 1,58, con un máximo de 1,92 a una carga microbiana de aproximadamente 0,30. PopC es la distribución de resistencias (denominada distribución estándar de resistencias) en que se funda el Procedimiento 1 de ajuste de la dosis y sus relaciones TD₁₀/PD₁₀, a niveles comparables de carga microbiana, son universalmente inferiores que los de popA, un hallazgo que indica un grado de conservadurismo asociado con una elección de 2,2 como coeficiente PD₁₀.

popA MD55 a MD62

Estas poblaciones microbianas comprenden una familia desarrollada por la modificación de popA. La modificación implicaba desplazar sistemáticamente a la derecha la frecuencia de la resistencia más alta que se daba en popA invirtiendo al mismo tiempo las frecuencias desplazadas en orden ascendente dentro de las ocho poblaciones. Esto dio poblaciones con respuestas a la radiación que disminuían progresivamente con el aumento de la designación MD. Como las ocho MD son heterogéneas, dieron valores de relaciones TD₁₀/PD₁₀ superiores a 1,0. Para este grupo de poblaciones con distribuciones de resistencias muy distintas, ninguno de los valores de la relación TD₁₀/PD₁₀ fue superior a 2,05 para el intervalo de carga microbiana de 0,02 a 1.000 estando la gran mayoría muy por debajo del valor de comparación de 2,2. De hecho, a medida que aumentaba la resistencia global de las poblaciones (en otras palabras, disminuía la respuesta a la radiación), las relaciones se acercaban a un valor de 1,0, lo que apunta de nuevo a la naturaleza conservadora de un coeficiente de 2,2.

Otras distribuciones modificadas obtenidas a partir de popA

Otro medio para desarrollar distribuciones de resistencias que varían en conjunto de que las de la distribución original es sumar progresivamente las probabilidades de resistencia, partiendo de la que tiene el valor más bajo y continuando hasta la más alta. Esto proporciona poblaciones para las que las respuestas a la radiación son, en diversos grados, mayores o menores que las de la población original. PopA_MD6 y MD9 es uno de tales pares de poblaciones que responden de esta manera opuesta, popA_MD10 y MD14 es otra y popA_MD15 y 20 es una tercera, presentando la población con la designación numérica más alta del par la menor respuesta a la radiación y haciéndose cada vez mayor la diferencia de respuesta para los pares de poblaciones a medida que aumenta la designación. Para esas poblaciones modificadas cuya respuesta a la radiación es superior a la de popA (MD6, 9 y

15), los valores calculados de las relaciones TD_{10}/PD_{10} a lo largo del intervalo de carga microbiana 0,02 -1.000 se encuentran todos por debajo de los valores correspondientes para popA y por lo tanto se encuentran ampliamente cubiertos por un valor de 2,2. Por el contrario, las poblaciones, que han sido modificadas de una manera que proporciona una relación de microorganismos resistentes que excede la de popA que da como resultado una respuesta disminuida a la radiación, dan valores de relaciones en el extremo inferior del intervalo de carga microbiana que son superiores a 2,2. Por ejemplo, para popA_MD9 se ve una relación máxima de 2,52 a una carga microbiana de 0,3; 2,76 para MD14 a 0,2; y 3,04 para MD20 a 0,08. Evidentemente, estos hallazgos requieren una consideración en la elección final para el valor del coeficiente PD_{10} .

Poblaciones diversas

10 Se han estudiado siete poblaciones adicionales. Dos, creadas a partir de cada una de popA y popC, se desarrollaron de manera que se diera la misma probabilidad en cada clase de resistencia que constituye la distribución; se denominaron popA_even y popC_even, respectivamente. Dos poblaciones más fueron modificaciones de popA y popC. Comprendían probabilidades iguales de cada una de únicamente las clases de poblaciones más sensibles y resistentes y se les denominó popA_50S_50R y popC_50S_50R. Tres poblaciones fueron de naturaleza homogénea, comprendiendo cada una un solo tipo de microorganismo que tenía una resistencia definida por un valor D_{10} de 0,5, 2,5 ó 4,2 kGy; se denominaron pop_mono 0,5, 2,5 y 4,5, respectivamente.

15 Las siete poblaciones dieron unas relaciones TD_{10}/PD_{10} de acuerdo con la expectativa general indicada anteriormente. Las poblaciones heterogéneas proporcionaron un intervalo de valores de relaciones que variaban sistemáticamente con el cambio de nivel de carga microbiana y presentaban un máximo. Además, con la excepción de popA_50S_50R a una carga microbiana de 0,02, las relaciones tuvieron valores inferiores a 2,2. La excepción era el resultado de la presencia de un valor PD_{10} excesivamente bajo a este nivel de carga microbiana. Todas las poblaciones 'mono' homogéneas presentaron relaciones TD_{10}/PD_{10} de 1,0.

20 Los experimentos simulados, que emplean suspensiones mixtas de esporas de *B. pumilus* y células de *S. marcescens* irradiadas a dosis que oscilan entre 0,25 y 1,0 kGy, dieron la seguridad necesaria de que la detección es técnicamente posible con estas dosis de radiación. También demostraron que un experimento de dosis graduales empleando este intervalo de dosis puede proporcionar una matriz de resultados de fracciones positivas a partir de la que puede obtenerse una estimación de la dosis para conseguir un NGE de 10^{-2} .

25 Los IDE y VDE simulados han demostrado que los procedimientos asociados, en su versión modificada, dan resultados satisfactorios. Por lo tanto, hay buenas razones para creer que los IDE y VDE a "dosis baja" llevados a cabo sobre el producto serán procedimientos prácticos y técnicamente viables a partir de los cuales pueden identificarse dosis significativas y necesarias.

30 El análisis TD_{10}/PD_{10} de popA produjo una relación redondeada máxima de 2,2 y este valor se ha comparado con los valores de las relaciones obtenidas a partir de los análisis realizados en una amplia variedad de poblaciones que tienen distribuciones de resistencias considerablemente diferentes, pero con frecuencia relacionadas. El resultado general de esta comparación es que popC, que tiene una mayor resistencia a la radiación que popA, y la mayoría de las poblaciones con modificaciones en la distribución de resistencias de popA proporcionan valores de relaciones sensiblemente inferiores a 2,2 en un amplio intervalo de niveles de carga microbiana. Evidentemente, este resultado apoya decididamente la elección de 2,2 como coeficiente PD_{10} y subraya el conservadurismo del valor. Las excepciones a este hallazgo son determinadas poblaciones que poseen distribuciones en las que están presentes mayores proporciones de microorganismos de alta resistencia a la radiación que las que hay en popA. Su presencia produce principalmente aumentos en los valores de TD_{10} que, a su vez, dan relaciones TD_{10}/PD_{10} altas.

35 Teniendo en cuenta las excepciones anteriormente indicadas, lo que debe tenerse en cuenta es la importancia de tales distribuciones para el "mundo real". En la actualidad esta es una decisión basada en el juicio, aunque hay que decir que, a la luz de las condiciones de fabricación estipuladas y los controles que deben imponerse sobre las mismas, la aparición en el producto antes de la esterilización de poblaciones microbianas que tienen un número significativo de microorganismos de alta resistencia a la radiación es muy poco probable. Además, los resultados de los VDE actuarán como una verificación de su ausencia. Si aparecen tales microorganismos, tendrán que presentarse a una carga microbiana específica en una proporción que exceda la del nivel de popA para que el coeficiente PD_{10} de 2,2 no sea válido.

40 Por lo tanto, se supone que TD_{10} es 2,2 veces PD_{10} . La dosis de esterilización para conseguir un NGE de 10^{-6} se calcula entonces añadiendo cuatro dosis TD_{10} a la VD, en otras palabras, la dosis de esterilización es igual a VD más ($4*TD_{10}$).

45 La dosis de esterilización es por lo tanto la dosis utilizada para esterilizar los dispositivos en cuestión y que proporciona un nivel de garantía de la esterilidad de 10^{-6} . El procedimiento está recomendado para cargas microbianas medias extremadamente bajas de cinco UFC o menos. Resulta útil para la esterilización de fármacos delicados y dispositivos sensibles a la radiación.

50 Las proteínas son especialmente difíciles de esterilizar sin sufrir daños. Un área concreta de interés para los inventores es la esterilización de proteínas de la sangre y proteínas plasmáticas. La fuente de las proteínas puede

- ser natural (es decir, humana, animal), sintética o recombinante. Una proteína de la sangre/proteína plasmática sirve como molécula transportadora de lípidos, hormonas, vitaminas y metales. También sirven como enzimas, componentes del complemento, inhibidoras de proteasa, y precursoras de cininas. Una proteína de la sangre/proteína plasmática incluye, pero no se limita a, albúmina, anclod, batroxobina, colágeno, ecarina, elastina, epinefrina, Factor X/Xa, Factor VII/VIIa, Factor IX/IXa, Factor XI/XIa, Factor XII/XIIa, fibrina, ficolina, fibrinógeno, fibronectina, gelatina, globina, haptoglobina, hemoglobina, heparinasa, inhibina, insulina, interleucina, laminina, trombina, glicoproteínas de la superficie de las plaquetas, protrombina, selectina, trombina, transferrina, factor de von Willebrand, vasopresina, análogos de vasopresina, veneno procoagulante, agentes activadores de plaquetas y péptidos sintéticos con actividad hemostática.
- 5
- 10 Los inventores presentes también están interesados en la esterilización de polímeros, y en concreto los polímeros útiles en la preparación de los sustratos de tejido en apósitos para heridas, que incluyen, sin limitación, colágeno, alginato de calcio, quitina, poliéster, polipropileno, polisacáridos, ácidos poliacrílicos, ácidos polimetacrílicos, poliaminas, poliiminas, poliamidas, poliésteres, poliéteres, polinucleótidos, ácidos polinucleicos, polipéptidos, proteínas, poli (óxido de alquileo), polialquilenos, politioésteres, politioéteres, polivinilos, polímeros que comprenden
- 15 lípidos, y mezclas de los mismos. Las fibras preferentes comprenden polisacáridos regenerados oxidados, en concreto la celulosa regenerada oxidada. Se espera que los procedimientos de la presente invención resulten muy útiles con los polímeros y proteínas anteriores.
- Aunque la invención se ha descrito concretamente en relación a las formas de realización específicas de la misma, debe entenderse que esto es a modo de ilustración y no de limitación, y que el alcance de las reivindicaciones
- 20 adjuntas debe interpretarse tan ampliamente como lo permita la técnica anterior.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un procedimiento para esterilizar objetos con radiación, comprendiendo el procedimiento las etapas que consisten en determinar una dosis de radiación suficiente para asegurar la esterilización a un nivel de garantía de la esterilidad (NGE) objetivo de 10^{-6} y a continuación aplicar dicha dosis de radiación a los objetos, y en el que la etapa que consiste en determinar dicha dosis incluye las etapas que consisten en:
 - determinar una estimación de la dosis que da como resultado un NGE especificado sometiendo a ensayo una cantidad de muestras de los objetos a distintos niveles de dosis de radiación para determinar una dosis por debajo de la cual no todas las muestras son esterilizadas y por encima de la cual son esterilizadas, en el que dicho NGE especificado es superior a dicho NGE objetivo;
 - 10 confirmar la estimación de la dosis que da como resultado dicho NGE especificado sometiendo a ensayo una cantidad de muestras de los objetos a la dosis que había sido estimada; y
 - calcular una dosis para el NGE objetivo de 10^{-6} añadiendo un factor a la dosis que se ha confirmado que da como resultado dicho NGE especificado,
 - 15 **caracterizado porque** dicho procedimiento comprende adicionalmente determinar una carga microbiana en una o más muestras de los objetos antes de la esterilización, y en el que dicho factor es proporcional a la dosis que proporciona dicho NGE especificado de supervivencia de un microorganismo e inversamente proporcional a un logaritmo de dicha carga microbiana.
2. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que dicho NGE especificado es 0,01.
3. Un procedimiento según la reivindicación 1 ó 2, en el que la carga microbiana es igual o inferior a 20 UFC.
- 20 4. Un procedimiento según la reivindicación 3, en el que la carga microbiana es igual o inferior a 5 UFC.
5. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la cantidad es de 100 muestras de los objetos para confirmar que la dosis estimada da como resultado una probabilidad de supervivencia de un microorganismo de 0,01.
- 25 6. Un procedimiento según la reivindicación 5, en el que el factor es igual a $PV \cdot (CD / (2 + \log(BB)))$, en el que PV representa un valor de proporcionalidad, CD representa la dosis que se ha confirmado que da como resultado una probabilidad de supervivencia de un microorganismo de 0,01 y BB representa la carga microbiana en unidades formadoras de colonias.
7. Un procedimiento según la reivindicación 6, en el que PV oscila entre 1,0 y 10,0
8. Un procedimiento según la reivindicación 6, en el que PV es 2 o superior.
- 30 9. Un procedimiento según la reivindicación 8, en el que PV es por lo menos 2,2.
10. Un procedimiento según la reivindicación 6, en el que PV oscila entre 2 y 3.
11. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el objeto comprende una proteína.