

COMPLEJO CIENTIFICO ORTOPEDICO INTERNACIONAL

FRANK PAÍS

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA HABANA

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

“FINLAY-ALBARRAN”

*Tejido óseo y apósito biológico esterilizados con gas
óxido de etileno*

Tesis presentada en opción al grado científico

Doctor en Ciencias Médicas

Manuel Jacas Torné

La Habana, 2013

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA HABANA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
“FINLAY-ALBARRAN”
COMPLEJO CIENTÍFICO ORTOPÉDICO INTERNACIONAL
“FRANK PAIS”

*Tejido óseo y apósito biológico esterilizados con gas
óxido de etileno.*

Tesis presentada en opción al grado científico
Doctor en Ciencias Médicas.

Autor: DR. MsC. Manuel Jacas Torné

Tutor: Prof. Dr.Sc. RODRIGO ÁLVAREZ CAMBRAS

La Habana, 2013

Agradecimiento

Al Profesor y Académico Dr. Cs. Rodrigo Álvarez Cambras Director General del CCOI “Frank País”, por el apoyo y alentarme a concluir este trabajo a la mayor brevedad, por su importancia para nuestra Institución.

Al Dr. Eddy Sánchez Noda, Especialista en 2do. Grado en Anatomía Patológica, cuya reconocida experiencia como Experto en la Gestión de Banco de Tejidos y mi cercano colaborador, ha sido de gran ayuda.

Al Dr. Rafael Aria Calzón †, Responsable del Control de la Calidad del Banco de Tejido ORTOP, por su valiosa contribución a establecer las Normas de Calidad del Banco de Tejido ORTOP, aportando su experiencia internacional en el tema.

A la Dra. Daisy Piña Ares, Jefa del laboratorio de Microbiología por el interés mostrado poniendo a la disposición de esta investigación los recursos necesarios de su laboratorio.

A la Enf. María de los Ángeles Velez Nelly, técnica en esterilización con gas Óxido de Etileno, por el rigor demostrado en las medidas de seguridad y cumplimiento del protocolo de investigación.

A la Lic. Aleida García, especialista en microbiología, que ejecutó la siembra y cultivo de los grupos de muestras con gran rigor profesional.

Al Dr. C. Liván Peña Marrero, Especialista 2do grado en Ortopedia y Traumatología, Subdirector de Investigaciones, por su crítica severa y atinada.

Al Dr. C. Luís Oscar Marrero Riverón, Especialista 2do. Grado en Ortopedia y Traumatología que hizo acopio de su tiempo para la revisión del borrador.

DEDICATORIA

A la Medicina Cubana Revolucionaria y a los que con su esfuerzo diario en Cuba y muchas partes del Mundo la hacen grande; a la Escuela Latinoamericana de Medicina y a su genial promotor: Fidel Castro Ruz.

SÍNTESIS

Introducción: En Cuba tradicionalmente se ha empleado las radiaciones Gamma para esterilizar el tejido óseo y la piel porcina. Con el propósito de buscar una alternativa a su empleo se estudió el gas óxido de etileno (OtE), nunca antes empleado en Cuba con esos fines.

Objetivo general: Evaluar la efectividad del gas óxido de etileno como método esterilizante del tejido óseo esponjoso y la piel porcina.

Metodología de la investigación: Se realizó un estudio experimental *In Vitro*

donde se emplearon 54 muestras de tejido óseo esponjoso y 120 muestras de piel porcina las cuales se contaminaron con cepas conocidas de estafilococo coagulasa positivo y pseudomona aeruginosa para ser sometida a la acción del gas óxido de etileno y evaluar la efectividad de este para esterilizar los tejidos contaminados en un tiempo variable de 60, 90 y 120 minutos.

Resultados: Los resultados se muestran en tablas, las cuales se analizan y discuten a la luz de los conocimientos actuales comprobando que el gas óxido de etileno es efectivo para esterilizar los tejidos biológicos empleados en la investigación.

Conclusiones: El gas óxido de etileno es efectivo para esterilizar el tejido óseo esponjoso y la piel porcina empleados en este estudio y puede ser un método alternativo para el empleo de las radiaciones gamma.

Palabras claves:

Tejidos biológicos.

Gas óxido de etileno.

ÍNDICE

| Tabla de contenido | Página |
|---|---------------|
| Introducción | 1 |
| Antecedentes | 1 |
| Justificación | 5 |
| Problema científico | 7 |
| Hipótesis | 7 |
| Novedad científica | 7 |
| Objetivo del proyecto | 8 |
| Capítulo I | |
| MARCO TEÓRICO | |
| I. MARCO TEÓRICO | 10 |
| I. 1. Una rápida mirada a la historia de los trasplantes | 10 |
| I. 2. Trasplante de hueso. | 11 |
| I. 3. Osteogénesis y el poder del periostio. | 12 |
| I. 4. Pioneros de la Era Moderna en Cirugía. | 12 |
| I.5. Técnicas de preservación de homoinjertos. | 15 |
| I. 6. Tipos de injertos de hueso. | 15 |
| I. 7. Método de procuración y procesamiento de tejidos. | 16 |
| I. 8. Bacteriología. | 16 |
| I. 9. Método de esterilización. | 18 |
| I.10. Esterilización mediante irradiación ionizante. | 19 |
| I. 11. Método de esterilización con gas óxido de etileno. | 21 |
| 1.12. Inconvenientes. | 23 |
| 1.13. Efectos sobre la salud. | 24 |
| 1.14. Toxicidad para el hombre. | 24 |
| 1.15. Efectos cancerígenos y mutagénicos. | 25 |
| 1.16. Estudios teratogénicos. | 25 |
| 1.17. Personal expuesto profesionalmente. | 25 |
| CAPITULO II. | |
| DISEÑO METODOLÓGICO DE LA INVESTIGACIÓN | |
| 2. DISEÑO METODOLOGICO DE LA INVESTIGACIÓN. | 28 |
| 2. 1. Material y Método. | 28 |
| 2,2. Variables. | 28 |
| 2.3. Método de inclusión, exclusión y salida en el caso del tejido óseo. | 29 |
| 2.4. Método de inclusión, exclusión y salida en el caso de la piel porcina. | 29 |
| 2. 5. Recursos logísticos. | 30 |
| 2. 6. Muestra de estudio. | 30 |
| 2.6.1. Implementación de un método de contaminación de tejido óseo. | 30 |
| 2.6.2. Implementación de un método de contaminación de la piel porcina. | 30 |
| 2.7. Procedimiento seguido con las muestras de tejido óseo y piel porcina contaminados con cepas de gérmenes conocidos, no esterilizados, en el . banco de tejidos. | 31 |
| 2.8. Procedimiento en el departamento de esterilización. | 33 |

| | |
|---|-----------|
| 2.9. Procedimiento estandarizado para el estudio de muestras de tejidos en el laboratorio de microbiología. | 33 |
| 2.9.1. Equipos empleados en el Laboratorio de microbiología | 34 |
| 2.9.2. Medios de cultivos selectivos (placa) de acuerdo al germen a identificar. | 34 |
| 2.10. Estudio histológico comparativo entre la piel porcina esterilizada con irradiación y con gas óxido de etileno. | 35 |
| 2.11. Equipos empleados. | 38 |
| 2.12. Análisis estadísticos. | 39 |
| 2.13. Procedimientos éticos. | 39 |
| CAPITULO III. RESULTADOS | 40 |
| 3. Resultados. | 41 |
| 3.1. Comprobación del método de contaminación de tejido óseo esponjoso. | 41 |
| 3. 2. Resultado de comprobar la efectividad del gas óxido de Etileno para esterilizar tejido óseo esponjoso. | 42 |
| 3.3. Resultado de la contaminación de la piel porcina con un germen conocido. | 44 |
| 3.4. Resultado de comprobar la efectividad del gas óxido de etileno para esterilizar un lote de piel porcina contaminado con estafilococo coagulasa positivo y pseudomona aeruginosa. | 44 |
| 3.5. Resultado del estudio histológico comparativo de piel porcina esterilizada con radiación de Co 60 y gas óxido de etileno. | 46 |
| 3.6. Aporte social y valoración económica. | 46 |
| IV CAPITULO. DISCUSIÓN. | 49 |
| 4. Discusión. | 50 |
| 4.1. Discusión de de los resultados. | 50 |
| 4.2. Características del gas óxido de etileno. | 53 |
| 4.3. Reflexiones sobre las reacciones adversas. | 62 |
| Conclusiones | 67 |
| Recomendaciones. | 68 |
| Referencia bibliográfica | 69 |
| Anexos y figuras. | 79 |

INTRODUCCIÓN:

Antecedentes:

El empleo de los tejidos biológicos como injerto de una persona a otra para reparar afecciones de la anatomía humana es hoy una realidad científica, pero debió pasar por un largo período histórico de muchos siglos, aciertos y reveses, donde se destacaron numerosos hombres de ciencia los cuales aprovecharon los adelantos científicos de la época que les tocó vivir. El Profesor L, T, Woodward ha dejado constancia en su libro **Grandes Etapas de la Cirugía**, una instructiva obra monográfica (1).

Breve historia de los trasplantes.

La historia de los injertos se remonta a la prehistoria, siendo la más documentada la de hueso, a través de papiros y narraciones mitológicas, reproducida por el Profesor R. Geoffrey Burwell, un pionero en el tema. (2)

Los primeros intentos en cirugía plástica están ligados a la historia temprana de la práctica de trasplantes. Sushruta, la practicó en el norte de la India hace 2500 años, recibe el crédito por haber usado injertos de piel en la reconstrucción de narices perdidas en batalla o mutiladas como castigo por crímenes; de lo cual no existe un testimonio real, acerca del éxito de estos procedimientos. A los mitológicos San Cosme y San Damián se les atribuye el éxito de haber realizado el reemplazo total de una pierna en un hombre blanco por la pierna de un hombre negro (3).

El inicio de la era moderna de la implantología, es atribuido al cirujano boloñés Gaspare Tagliacozzi (1545-1599). En su obra clásica *De Curtorum Chirugia per Institutionem* (*La Cirugía de Mutilación por Injertación*) donde se

describe lo que más adelante sería conocido como colgajo de antebrazo, al adherir un colgajo de piel del antebrazo a la nariz y seccionar la conexión algunas semanas más tarde.

John Hunter (1728-1793) (1), cuando aún no se conocía el microscopio óptico, la existencia de las células del tejido óseo (osteoclastos y osteoblastos), ni el uso de los Rayos X, fue el primero en emplear la palabra “trasplante” como remedo de la acción semejante en el reino vegetal. Implantó perdigones de plomo en la diáfisis de la tibia de pollos para demostrar su crecimiento. Este hecho dio inicio de la polémica que duró un siglo sobre el papel del periostio en la regeneración ósea (3). James Syme, cuatro décadas posteriores a muerte de Hunter, realizó diversos experimentos en perros extirpando en parte la diáfisis radial de ambas patas inferiores; en el lado donde se conservó el periostio el hueso se regeneró.

El siglo XIX fue el inicio de la era moderna de la cirugía; se conocía la anatomía humana, el control de las hemorragias, había una clara necesidad de prevenir el *shock* y el dolor; y se inició la práctica de los métodos de asepsia y antisepsia. A mediados de siglo se comenzó a difundir el uso de nuevos métodos de injerto, que fueron mejorados por Thiersch (1886), llegando a la conclusión de que los aloinjertos y los xenoinjertos podían funcionar (4).

En 1867 Joseph Lister (1) aplica los resultados de las investigaciones de Luís Pasteur y recomienda el lavado de las manos y la aplicación del gas carbónico para esterilizar los instrumentos quirúrgicos; nace así la **asepsia**. Un año después el cirujano alemán Ernest Von Bergmann descubre la esterilización al vapor. A comienzos del Siglo XX, Friedlaender afirmó claramente que el rechazo de los aloinjertos era inevitable, proceso que se originaba por un evento inmunológico, según otros autores. (5, 6)

Ya a comienzos del siglo XX se hizo evidente que los distintos métodos de esterilización física que emplean altas temperaturas no era posible su empleo en algunos materiales, producto de las nuevas tecnologías del

petróleo o material biológico para implantes, los cuales no resisten el empleo del calor a altas temperaturas (7).

En 1934, Chamley y Stack, en la Clínica Mayo, resumieron las teorías de crecimiento y de regeneración del hueso hasta ese momento, e identificaron las contribuciones individuales de los principales pioneros. (8)

Con Porto del Castillo, fundador del primer servicio de Ortopedia en Cuba en el Hospital Reina Mercedes, trabajó como alumno Alberto Inclán Costa, quién luego devendría eminente ortopédico y del cual conoció de sus trabajos relacionados con la conservación de los tejidos por medio del frío. El Dr. Inclán es reconocido a su vez, como el creador el primer banco de hueso del mundo. (9)

La Segunda Guerra Mundial tuvo un profundo cambio en la ciencia y aceleró el progreso de la comprensión de la enfermedad renal y los trasplantes de tejidos. Problemas como los de quemaduras masivas durante la guerra, y nuevas formas de insuficiencia renal dieron lugar a nuevas complicaciones clínicas. Las terapias existentes eran ineficaces debido a la incomprensión, en aquellos momentos, de los mecanismos del *shock* hipovolémico y sus secuelas metabólicas y se puso en evidencia la escasez de equipos de monitoreo y diagnóstico.

En Gran Bretaña se estableció la unidad de quemados del **Medical Research Council** en Glasgow. Peter Medawar se interesó en los problemas del injerto de piel, al observar un quemado severo en un hospital de Oxford. Para Medawar, fue evidente que el rechazo de un aloinjerto era un fenómeno inmunológico importante y carente de explicación. De vuelta en Oxford, Medawar repitió el experimento utilizando conejos y denominó 'inmunidad activamente adquirida al mecanismo de rechazo. Medawar y sus colegas estudiaron intensivamente este fenómeno inmunológico y en 1960 él y Burnet compartieron el Premio Nóbel de Medicina y Fisiología (10).

En la actualidad en muchas partes del mundo se han trasplantado con éxito aloinjertos de riñón, corazón, hígado, pulmones, córneas, arterias y válvulas cardíacas.

Desde 1968, con un creciente conocimiento en campos relacionados con la inmunología del trasplante de huesos, en especial la conservación y esterilización de tejidos biológicos, la fijación interna de estos al esqueleto y el control de las infecciones, algunos cirujanos se han visto motivados a re-evaluar científicamente el alotransplante de articulaciones (10 - 12).

Los avances de la ciencia, estimulada por los imperativos de las dos guerras mundiales, se reflejaron en el perfeccionamiento de la conservación y esterilización de los tejidos biológicos con fines terapéuticos. (13)

La liofilización de los tejidos biológicos, el plasma sanguíneo en particular, se pone a punto durante la Guerra de Corea (1951) a comienzo de la década del 50. Por otra parte el empleo pacífico de la energía nuclear propició la esterilización de los tejidos biológicos mediante la irradiación .

El primer banco de tejido centralizado lo funda el Dr. George Hyatt en la marina de guerra de los Estados Unidos en 1950. En Checoslovaquia en 1953 se funda un banco de tejidos por Hrodic Kralova. (14)

El primitivo banco de huesos creado por el Prof. Inclán en el antiguo Hospital Reina Mercedes, es trasladado en la primera mitad de la década de los años 50 a lo que es hoy el Hospital Manuel Fajardo y pocos años más tarde, al recién inaugurado sanatorio para la atención de los niños con secuelas de meningitis: Organización Nacional de Rehabilitación de Impedidos (ONRI). Actualmente al cambiar de objeto social la ONRI, pasó a llamarse banco de tejidos ORTOP del Complejo Científico Ortopédico Internacional "Frank País".(15).

Desde sus inicios el Banco de Tejidos ORTOP® es una institución donde son procurados, procesados, conservados, esterilizados, almacenados y distribuidos tejidos biológicos, viables o no viables; provenientes de donantes vivos o cadavéricos; humanos o animales.

Desde su fundación la esterilización de los tejidos, óseo o de cualquier otro tipo, se realizó con el irradiador del propio banco de tejidos ORTOP. A finales de la década del noventa (1997-99), su unidad de irradiación fue desmantelada por no ofrecer seguridad y desde entonces se procedió a esterilizar en otros irradiadores de Ciudad de la Habana, lo cual hace dependiente al banco de tejidos ORTOP® de otras instituciones y por tanto vulnerable a las dificultades de las mismas en mantener su operatividad.

La principal dificultad que debieron superar los bancos de tejidos implantables fue la conservación del tejido en condiciones de esterilidad hasta el momento de ser implantados. Los métodos de esterilización conocidos como, el calor, el calor seco ó calor húmedo (vapor) o algunas soluciones esterilizantes son impracticables en algunos materiales implantables, entre ellos los biológicos. Al comienzo los tejidos eran procurados en condiciones de asepsia y conservados a bajas temperaturas; luego cuando comenzó la época de los antibióticos, estos se añadieron a la conservación conjuntamente con las bajas temperaturas.

Justificación:

Existen dos métodos estandarizados para esterilizar materiales sensibles al calor, el método de irradiación y gas óxido de etileno (OtE), lo cual es el caso de los implantes biológicos. Actualmente son usuarios de la esterilización a bajas temperaturas los tejidos biológicos empleados en ortopedia, masilo facial y caumatología.

Las radiaciones Gammas son bactericidas alrededor de los 2 millones de rads, pero no es virucida a esa dosis. Las radiaciones X por encima de 2.5 millones de rads, comienzan a deteriorar el colágeno y provoca la pérdida de la fortaleza mecánica del tejido. El OtE es un potente esterilizante tanto para las bacterias como para los virus. Cuando la matriz osteoinductiva es cuidada durante el procesamiento, el gas OtE no interfiere con la osteoinducción. (15)

Los residuos de OtE y sus metabolitos son removidos por la cámara de desintoxicación, lo cual puede comprobarse mediante cromatografía gaseosa según la agencia para la alimentación y los medicamentos, FDA por sus siglas en inglés, ha estandarizado. (16)

En la actualidad solo funciona un irradiador de cobalto 60, de los cuatro que había en La Habana. El país no dispone de recursos financieros para garantizar la recarga de las fuentes, por lo que cada vez será más difícil su empleo.

La imposibilidad de disponer en todo momento con esa facilidad justifica la búsqueda de un método de esterilización de tejido óseo y piel porcina, que funcionara a bajas temperaturas y que estuviera al alcance del CCOI Frank País.

En el CCOI Frank País se dispone de un equipo de desinfección marca Dräger, de nacionalidad alemana, empleado para la desinfección de equipos, el cual emplea vaporizaciones de formaldehído a baja temperatura, pero no es útil a los fines de esterilización del banco de tejido. Nos decidimos por probar una autoclave Sakura® de gas óxido de etileno, de nacionalidad japonesa. (17, 18)

La efectividad del OtE empleado en otros países, no había sido probada hasta el momento en Cuba en lo que concierne a los tejidos óseo esponjoso y piel porcina para implante. La esterilización con OtE es un proceder empleado por muchas instituciones de Salud Pública en Cuba como único método de esterilización a baja temperatura. El banco de tejido ORTOP®, del CCOI Frank País dispone de todos los recursos necesarios para implementar la esterilización del tejido biológico que procesa con el empleo del gas OtE.

Las ventajas que se le atribuyen al OtE como agente esterilizante son (19):

A)- Gran eficacia de acción. Posee una acción bactericida y esporicida irreversible debido a su efecto alquilante de los grupos funcionales de las moléculas proteicas.

B)- Coeficiente de difusión muy favorable debido su pequeño tamaño molecular, lo que le confiere un gran poder de penetración. Ello permite esterilizar productos y materiales embalados herméticamente pero permeables al OtE. (Papel, cartón y materiales plásticos)

C)- Se consigue la esterilización en un ambiente relativamente seco ya que bastan humedades relativas del orden del 30-40 %; la presencia de humedad favorece la penetración del gas.

D)- El precio del proceso de esterilización es razonable por tratarse de un gas fácilmente asequible en todos los países industrializados.

Problema científico.

Después de la II guerra mundial, se generalizó el uso pacífico de la energía nuclear; a comienzo de la década del 50 se puso a punto las radiaciones gammas para esterilizar aquellas materias primas o instrumental médico que no soportaban el calor. La esterilización de materiales, dispositivos e implantes médicos sensibles a las altas temperaturas como método de esterilización sigue siendo un problema, a pesar de los adelantos experimentados desde la década de los años 50.

En Cuba se emplean las radiaciones para esterilizar los tejidos biológicos pero nunca se ha empleado el gas óxido de etileno. ¿Será efectivo el gas óxido de etileno para esterilizar los injertos de tejido óseo esponjoso y la piel porcina empleada como apósito biológico?

Hipótesis.

El gas Óxido de Etileno (OtE) es un agente esterilizante adecuado para ser aplicado al tejido óseo esponjoso o la piel porcina cuando son contaminados con cepas de bacterias conocidas.

Novedad científica.

El gas OtE como agente esterilizante se emplea en todo el mundo a pesar de conocerse que se trata de una sustancia que en alguna medida y circunstancias es tóxica, cancerígena, teratogénica e incluso explosiva; no obstante normas internacionales, aceptadas por la comunidad científica,

regulan su empleo estableciendo los límites a que pueden exponerse a sus efectos.(20) A pesar de conocerse y emplearse en Cuba como agente esterilizante hace algo más de 50 años, nunca se ha empleado para esterilizar tejido óseo esponjoso ni la piel porcina empleada como apósito biológico. Por primera vez se empleó en nuestro país en un ensayo experimental. (21)

OBJETIVOS

Objetivo general:

Evaluar la efectividad del gas óxido de etileno como método esterilizante del tejido óseo esponjoso y la piel porcina.

Objetivos específicos:

- 1.-Comprobar la efectividad del gas óxido de etileno para esterilizar porciones de tejido óseo esponjoso y piel porcina contaminados con un germen conocido.
- 2.- Identificar el tiempo mínimo necesario para esterilizar con el gas óxido de etileno porciones de tejido óseo esponjoso y piel porcina contaminados con estafilococos coagulasa positivo y pseudomona aeruginosa.
- 3.- Comparar los cambios histológicos que se producen en la piel porcina esterilizada con óxido de etileno y radiaciones gamma.
- 4.- Comparar desde el punto de vista económico, los beneficios del empleo de la esterilización con gas OtE y del método de esterilización con irradiaciones gamma.

CAPITULO 1
MARCO TEÓRICO

1.- Marco Teórico:

1.1.- Una rápida mirada histórica a la práctica de los trasplantes de tejidos.

Muy tempranamente existieron evidencias de que se empleó una placa de oro para reparar defectos en el hueso frontal de un jefe peruano del período neolítico. Este cráneo puede ser visto aún en el Museo de Oro de la ciudad de Lima, Perú. A Mohammed Al Gafequi de Córdoba (1265) se le da el crédito de haber propuesto la fusión de la espina dorsal utilizando huesos de pescado. Hace 500 años los aztecas difundieron el uso del entablillado y la inserción de *'una rama de madera de pino'* en el canal medular (3).

El inicio de la era moderna, sin embargo, es atribuido al cirujano boloñés Gaspare Tagliacozzi, ya citado (1545-1599). Tagliacozzi rechazó la idea de usar aloinjertos, debido a la "fuerza y poder" del individuo. Habrían de pasar 400 años para que esta "fuerza y poder" fuera reconocida como un fenómeno biológico importante. Durante el declinar de la cirugía en el siglo XVII, el texto original de Tagliacozzi fue ignorado. Su trabajo, con rigor científico, fue olvidado y se propagaron historias satíricas acerca del uso de narices de esclavos, etc. (3)

El primer injerto de hueso documentado fue reportado alrededor de 1668 por Job van Meekeren, cirujano de la ciudad de Ámsterdam. La operación tuvo lugar en Moscú. (3)

En el siglo XIX comienza la era de los aloinjertos. Se difundió el uso de nuevos métodos de injerto de piel, que fueron mejorados por el método de Thiersch (1886) de no emplear los injertos de gran espesor y emplear solamente injertos de 2 ó 3 mm. La conclusión fue que los aloinjertos y aún los xenoinjertos podían funcionar, a juzgar por el éxito de los injertos de piel, había claramente un grado inherente de autoengaño. Todo injerto de piel deja un depósito de colágeno al ser rechazado, y esto puede ser equivocadamente tomado como un injerto exitoso. La epitelización puede también ocurrir debajo de un injerto rechazado, por crecimiento hacia adentro desde los lados, y esta nueva piel puede ser confundida con un

injerto exitoso. Estos falsos éxitos deben haber sido alentados por el éxito indudable en el uso, por primera vez, de aloinjerto de hueso por William McEwan (1881) (22)

1.2.- Trasplante de hueso

Indudablemente que en todo este recuento histórico son las afecciones óseas las que obligan a los cirujanos a buscarle soluciones, incluso atrevidas, como se ha visto. Además de la revisión fundamental de Burwell (2) acerca de la historia de los injertos de hueso y de los sustitutos de hueso, existe un número de otras reseñas también autorizadas sobre los aspectos históricos que pueden ser consultadas, en particular: las de Urist. (5)

Hipócrates (460 – 335 a. n. e.) (1), precursor de otras ramas de la medicina, también lo fue de la ortopedia como lo testimonian dos obras suyas sobre “Las articulaciones” y “sobre las fracturas” .

Los hallazgos de instrumentos quirúrgicos celtas para este propósito de la actividad quirúrgica señalan su origen entre los siglos IV y V AC. Merreur (1810) obtuvo una exitosa cicatrización de las placas óseas en los cráneos de animales luego de una trepanación quirúrgica. En los inicios del siglo XIX, se hicieron muchas observaciones acerca del resultado de retirar porciones de cráneo para regresarlas a su sitio inmediatamente como autoinjertos. Al hacer una revisión de este trabajo, Wagner pensó que los trasplantes habían sido probablemente absorbidos y reemplazados por hueso nuevo. (23)

John Hunter (1728-1793) se dedicó a la cirugía dental al inicio de su carrera profesional. Reimplantó dientes perdidos por trauma e injertó dientes como aloinjertos a los que dio el nombre de ‘dientes vástagos’, terminología que tomó de la práctica de jardinería de injertar árboles.

1.3.- Osteogénesis y el poder del periostio.

Syme en Edimburgo (1842) (7, 23, 24) experimentó con el hueso radio de perros y encontró que el periostio ciertamente producía la formación de hueso. Goodsir (1845), alumno de Syme, concluyó, sin embargo, que el periostio carecía de poder para formar hueso: *'es una membrana limitante'*. Consideró que su poder para formar hueso dependía enteramente del hecho que las partículas de la verdadera sustancia ósea de la diáfisis se habían adherido a él; éstas partículas se convertían en centros a partir de los cuales se formaba el nuevo hueso, adherido al periostio. Este es un punto de vista que McEwan más tarde volvió a sostener. (22)

Ollier (1867) en Lyon, a través de su trabajo, se convirtió en el protagonista de la *'escuela vitalista'* de transplante de hueso, que creía que el tejido óseo cubierto con periostio sobrevivía después del injerto. Su problema, sin embargo, era que los fragmentos que había hecho crecer con éxito a partir de lonjas de periostio plantadas bajo el cuero cabelludo o entre los músculos, cesaban de crecer y tendían a desaparecer. Ahora sabemos que estos injertos de hueso, se reabsorbían porque no estaban sujetos a las *fuerzas y las presiones* que eran las que estimulaban la actividad de los osteoblastos (24).

1.4.- Pioneros de la Era Moderna en Cirugía.

Del libro de Woodward "Las Grandes Etapas de la Cirugía" (1) se toman referencias de las barreras que tuvieron que vencer los grandes hombres de pensamiento liberal ante el oscurantismo de la edad media. Los conocimientos de la anatomía humana eran rudimentarios en el siglo XIV pues la disección de cadáveres estaban prohibidas por el Papa Bonifacio VIII. Andrés Vesalio (Bruxelas 1514) se robaba los cadáveres en los cementerios; así pudo publicar en 1543 su famoso libro "De humani Corporis Fabrica". Se estableció en el siglo XVIII el comercio clandestino de cadáveres para las escuelas de medicina, como la fundada por William Hunter, hermano de John, cuyo mérito fue abrir a la Medicina general el campo de la observación y la experimentación.

Otra especialidad que se desarrolla mucho en esa época es la Ortopedia. Ese término había sido forjado en 1741 a partir de dos términos griegos: orto que significa “recto” y pedia que significa “pie”. Hasta mediados del siglo XIX la ortopedia no era considerada como una práctica quirúrgica. Solo se practicaban incisiones superficiales de tendones para corregir el “*pie equino*”, pero en el curso de los últimos 150 años las técnicas ortopédicas han experimentado un gran avance. Ellas engloban los accidentes y enfermedades de los huesos, las articulaciones, músculos, tendones y ligamentos. Durante un período que precedió a la antisepsia, las enfermedades o accidentes de las articulaciones se trataban con la amputación. Se amputaban no solo en los casos de fracturas abiertas sino ante el menor signo de infección. En el curso de la segunda mitad del siglo XIX se desarrolla una verdadera escuela de Ortopedia. En 1868 el cirujano inglés Stromeyer Little opera una pequeña “cojita” a la cual le fractura el fémur y se lo realinea para corregirle la cojera. En 1877 Wilian MacErwen diseña una tijera biselada por las dos láminas, una de las cuales gradúa para que el cirujano pueda determinar el grado de penetración. MacErwen denominó su instrumento “osteotomo”. El propio MacErwen realizó el primer injerto de hueso, después de haber experimentado en perros. La operación fue un éxito a pesar de que la realizó en una osteomielitis, una vez cureteada la parte del hueso infectada. Otra operación memorable fue realizada por el cirujano de Edimburgo, MacErwen, en 1883, cuando se atreve con éxito a extirpar un cartílago de la rodilla que estaba dañado.

El adelanto científico más importante para la medicina y en especial para la Ortopedia fue el descubrimiento de forma casual de los rayos X, por el físico alemán Wilhelm Roentgen, en 1895. (1)

La práctica moderna de injerto de hueso fue puesta a punto por McEwan en la enfermería de Glasgow en 1880. Él ha quedado como la figura histórica más importante en este campo.

MacEwan también reportó un injerto de costilla utilizado para reemplazar media mandíbula. En 1934, Chamley y Stack, en la Clínica Mayo, resumieron las teorías de crecimiento y de regeneración de hueso hasta

ese momento, y también identificaron las contribuciones individuales de los principales pioneros: (24)

1. Ollier (24) sostuvo que el crecimiento y el reemplazo de hueso se deben específicamente a la actividad osteogénica de los osteoblastos del periostio.
2. Barth (1893) dijo que todo hueso trasplantado muere y es reemplazado por proliferación de hueso nuevo que se extiende del hueso receptor circundante hacia el interior del trasplante muerto. El injerto es solo osteoconductor.
3. Axhausen (1908) sostuvo que la reparación de defectos óseos y el reemplazo de injertos óseos son afectados por depósito de hueso por el periostio y el endostio.
4. MacEwan (1912) afirmó que el hueso crece y se repara a sí mismo por proliferación de células óseas. El periostio no tiene ninguna función osteogénica y actúa meramente como membrana limitante del hueso en crecimiento.

Baschkirzew y Petrow (1912) describieron que todo el hueso nuevo está formado por metaplasia de tejido conjuntivo preexistente en la región donde será depositado. (23)

Las investigaciones de Bonfiglio (25), llevadas a cabo en animales, establecieron lo que parece ser una clara ventaja de aloinjertos congelados frescos a otros aloinjertos conservados por otros métodos; con estas allanaron el camino para la utilización de aloinjertos masivos, en trasplantes clínicos.

Desde 1968, con un creciente conocimiento en el campo de la inmunología del trasplante de huesos, y en especial la conservación y esterilización de tejidos, la fijación interna del esqueleto y el control de la infección, algunos cirujanos se percataron de la necesidad de reevaluar científicamente el alotransplante de articulaciones.

1. 5.-Técnicas para preservación de homoinjertos (26, 27)

A- Fresco: No requiere de preservación; este tipo de injerto tiene una alta respuesta inmune. Conserva su viabilidad y es el más apropiado para el trasplante de cartílago articular y piel.

B- Fresco-Congelado: Debe ser conservado a -70°C . La congelación disminuye la inmunogenicidad. Es un método empleado para el trasplante de cartílago articular y osteoarticular (articulaciones completas).

C- Fresco-Congelado-Irradiado: Es conservado a -70°C e irradiado con irradiaciones gamma de cobalto 60 (22 -25 KGy). Es el método aceptado para el trasplante de cartílago articular y osteoarticular, pero con mayor protección contra las infecciones.

D- Liofilizado: Tejido deshidratado hasta 5 % de humedad residual y esterilizado mediante radiaciones gamma de Cobalto 60 (22 -25 KGy) o (OtE). El cartílago articular no puede ser preservado por este método, pues pierde sus propiedades mecánicas. Es almacenado a temperatura ambiente.

E- Desmineralizado: Mediante procedimientos químicos el tejido se descalcifica y se obtiene una matriz orgánica, preservando las proteínas morfogenéticas y por tanto las potencialidades biológicas. Es de amplio uso en odontología y cirugía reconstructiva máximo-facial.

F- Deslipidación y Desproteínización: Mediante métodos químicos o enzimáticos se eliminan las grasas y las proteínas preservando la matriz de hidroxiapatita y las propiedades osteoconductoras del hueso; de amplio uso en el procesamiento de otras especies animales al hombre (heteroinjerto, bovino, equino).

1.6.-Tipos de Injerto de hueso: (28)

A. Auto injerto: Porción de tejido tomado e injertado en el propio paciente. Puede ser vascularizado o no vascularizado. En el primer caso necesita técnicas de microcirugía vascular.

B. Aloinjerto (Homoinjerto): Segmento de tejido tomado de un donante de la misma especie pero de diferente genotipo.

C. Xenoinjerto (Heteroinjerto): Porción de tejido tomado de diferentes especies (bovino, porcino, equino).

1.7.- Métodos de Procuración y Procesamiento de Tejidos: (15,29)

A- Estéril: El tejido es procurado en condiciones de asepsia en el quirófano, dentro de las 12 horas de fallecidos o 24 horas si el cuerpo ha sido conservado a 4 ° C. ó en donante multiorgánico.

B- Limpio-No Estéril: El tejido es procurado y procesado dentro de las 24 horas de fallecido, si el cuerpo ha sido conservado a 4 ° C. Este tejido debe ser esterilizado.

1.8 - Bacteriología. (30, 31, 32, 33)

Bacteriología, ciencia que estudia las bacterias, incluyendo su clasificación, y la prevención de enfermedades de etiología bacteriana. Las materias que componen la bacteriología son objeto de estudio no sólo de los microbiólogos, sino de un grupo importante de especialidades afines a la medicina (30, 31).

Las bacterias fueron descritas por primera vez por el naturalista holandés Antoni van Leeuwenhoek, que las observó con la ayuda de un microscopio simple construido por él mismo. Comunicó su descubrimiento a la Real Sociedad de Londres en 1683, pero la bacteriología no se desarrolló como ciencia hasta mediados del siglo XIX. En efecto, durante casi doscientos años se pensó que las bacterias aparecían por generación espontánea, y fue necesario el esfuerzo de varias generaciones de químicos y biólogos para demostrar que, como todos los seres vivos, las bacterias se reproducen a partir de otras. Este hecho fundamental fue establecido definitivamente en 1860 por el científico francés Louis Pasteur, quién también describió el origen bacteriano de los procesos de fermentación y de muchas enfermedades infecciosas. La primera clasificación sistemática

de las bacterias fue publicada en 1872 por el biólogo alemán Ferdinand J. Cohn, que las situaba en el reino vegetal.

En 1876 Luís Pasteur, que ya había diseñado el procedimiento de inocular las bacterias directamente en un medio nutriente para cultivarlas y estudiarlas, identificó a una bacteria como agente etiológico del carbunco (1).

En 1880 se inició el conocimiento científico de la inmunidad frente a las bacterias: Pasteur descubrió que el *Bacillus anthracis* cultivado a una temperatura entre 42 °C y 43 °C, pierde toda su virulencia tras varias generaciones, y más tarde se descubrió que los animales inoculados con estas bacterias debilitadas eran resistentes a la infección. Desde esa fecha se puede decir que nació la prevención, modificación y tratamiento de las enfermedades mediante la inmunización, uno de los avances más importantes de la medicina actual (1).

Un método fundamental para estudiar las bacterias es cultivarlas en un medio líquido o en la superficie de un medio sólido de agar. Los medios de cultivo contienen distintos nutrientes que van, desde azúcares simples hasta sustancias complejas como la sangre o el extracto de caldo de carne. Para aislar o purificar una especie bacteriana a partir de una muestra formada por muchos tipos de bacterias, se siembra en un medio de cultivo sólido donde las células que se multiplican no cambian de localización; tras muchos ciclos reproductivos, cada bacteria individual genera por escisión binaria una colonia macroscópica compuesta por decenas de millones de células similares a la original. Si esta colonia individual se siembra a su vez en un nuevo medio crecerá como cultivo puro de un solo tipo de bacteria.

Muchas especies bacterianas son tan parecidas morfológicamente que es imposible diferenciarlas sólo con el uso del microscopio; en este caso, para identificar cada tipo de bacteria, se estudian sus características bioquímicas sembrándolas en medios de cultivo especiales. Así, algunos medios contienen un producto que inhibe el crecimiento de la mayoría de

las especies bacterianas, pero no la de un tipo que deseamos averiguar si está presente. Otras veces el medio de cultivo contiene determinados azúcares especiales que sólo pueden utilizar algunas bacterias. En algunos medios se añaden indicadores de pH que cambian de color cuando uno de los nutrientes del medio es fermentado y se generan catabolitos ácidos. Si las bacterias son capaces de producir fermentación, generan gases que pueden ser apreciados cuando el cultivo se realiza en un tubo cerrado. Con otros medios de cultivo se identifica si las bacterias producen determinadas enzimas que digieren los nutrientes: así, algunas bacterias con enzimas hemolíticas (capaces de romper los glóbulos rojos) producen hemólisis y cambios apreciables microscópicamente en las placas de agar-sangre. Los diferentes medios y técnicas de cultivo son esenciales en el laboratorio de microbiología de un hospital, pues sirven para identificar las bacterias causantes de las enfermedades infecciosas y los antibióticos a los que son sensibles esas bacterias.

1.9.- Métodos de Esterilización.

El fuego fue el primer instrumento de esterilización empleado por el hombre ya desde la prehistoria, aún sin conocer los principios de su acción. Las heridas de guerra, las amputaciones etc. se cauterizaban con hierros candentes o aceites hirviendo. La presencia de las infecciones fue la última barrera que encontró la cirugía en su desarrollo.

La *esterilización* la define el diccionario como la destrucción de los gérmenes patógenos, destrucción de todo organismo vivo en cualquier objeto o material por medios físicos o por procedimientos químicos. También se define, en biología, la esterilización como la anulación de la capacidad de reproducción biológica de un ser vivo.

Antiséptico es el agente físico o químico que evita la putrefacción, infección o cambios similares, de los alimentos y tejidos vivos, destruyendo los microorganismos o impidiendo su desarrollo. Desde la antigüedad los alimentos se han conservado mediante el empleo de agentes antisépticos

como el calor durante la cocción, la sal y el vinagre en la salazón y adobo, y el humo de la madera (que contiene creosota, un compuesto similar al ácido carbólico) en el ahumado de las carnes. En la actualidad, los principales agentes antisépticos en la conservación de los alimentos son el calor y el frío utilizados en procesos como el enlatado, la pasteurización y la refrigeración. La irradiación es otro medio de conservación de los alimentos. El uso de antisépticos en el cuidado y tratamiento de las heridas fue introducido por el cirujano inglés Joseph Lister en 1865. Basado en los hallazgos del fisiólogo alemán Theodor Schwann y del bioquímico francés Louis Pasteur, Lister desinfectaba las heridas quirúrgicas y accidentales con una solución de ácido carbólico, y en cinco años redujo la tasa de mortalidad de las amputaciones importantes de un 45 % a un 12 % (1).

Se han introducido otros muchos antisépticos, entre los cuales los más importantes son el bicloruro de mercurio, el yodo, el ácido bórico, los hipocloritos, el mercurocromo el mertiolato, la glicerina y el glutaraldehído. El cloro se utiliza en la esterilización del agua, en especial en los sistemas públicos de suministro de agua y en las piscinas. Actualmente en lo referente a la esterilización de instrumental, equipos médicos y dispositivos implantables, se emplean método físico y método químico. Las autoclaves a vapor siguen cumpliendo un papel importante en el arsenal de la esterilización médica. Se emplean las estufas de calor seco, las radiaciones, el acelerador de partículas, el plasma de peróxido de hidrógeno, formaldehído y el gas óxido de etileno.

1.10. Esterilización mediante radiación ionizante. (34, 35)

Radiaciones ionizantes son aquellas radiaciones con energía suficiente para ionizar la materia, extrayendo los electrones de sus estados ligados al átomo.

Las radiaciones ionizantes pueden provenir de sustancias radiactivas, que emiten dichas radiaciones de forma espontánea, o de generadores artificiales, tales como los generadores de Rayos X y los aceleradores de partículas.

Son utilizadas, desde su descubrimiento por Wilhelm Conrad Roentgen en 1895, en aplicaciones médicas e industriales, siendo la aplicación más

conocida los aparatos de rayos X, o el uso de fuentes de radiación en el ámbito médico, tanto en diagnóstico (gammagrafía) como en el tratamiento (radioterapia en oncología, por ejemplo) mediante el uso de fuentes (p.ej. cobaltoterapia) o aceleradores de partículas y en la esterilización de sustancias y materiales susceptibles al calor.

Las radiaciones ionizantes tienen aplicaciones muy importantes en ciencias, industrias, medicina. En la industria, las radiaciones ionizantes pueden ser útiles para la producción de energía, para la esterilización de alimentos, para conocer la composición interna de diversos materiales y para detectar errores de fabricación y ensamblaje. En el campo de la medicina, las radiaciones ionizantes también cuentan con numerosas aplicaciones beneficiosas para el ser humano. Con ellas se pueden realizar una gran variedad de estudios diagnósticos (Medicina Nuclear y Radiología) y tratamientos (Medicina Nuclear y Radioterapia) y esterilización dispositivos implantables.

En Cuba los tejidos se esterilizan en un irradiador instalado en el Centro de Aplicaciones Tecnológicas y Desarrollo Nuclear (CEADEN), mediante radiaciones gamma (γ) de cobalto 60, con una dosis de esterilización de 25 KGy. Validada por dosimetría de Frickle y determinación de dosis de esterilización como pasos del control de procesos.

Efectos de las radiaciones como agente esterilizante: Las radiaciones gamma actúan sobre los microorganismos para su destrucción y por consiguiente esterilizar los tejidos a través de dos vías:

- Efecto Directo: El efecto letal de la radiación en una célula bacteriana es atribuido principalmente a la ruptura de las bases del ácido desoxirribonucleico (DNA) y de las cadenas de polisacáridos de la membrana celular.
- Efecto Indirecto: producido por la formación de radicales libres acuosos como resultado de la radiólisis del agua en los microorganismos, estos radicales reaccionan con importantes moléculas biológicas tales como aminoácidos, carbohidratos, proteínas, electrones mitocondriales,

componente de transporte, bases del ácido desoxirribonucleico (ADN), cadenas de ácido ribonucleico (RNA) y lípidos. Por lo tanto, el efecto indirecto es considerado como el efecto de los factores ambientales (oxígeno, contenido de agua, medio, temperatura y tasa de dosis) y su interacción con los microorganismos y la radiación. También incluye a los radicales libres acuosos como intermediarios en la transferencia de energía de radiación a las moléculas biológicas.

1.11. Método de esterilización con gas Óxido de Etileno. (36,37, 38)

El óxido de etileno es una sustancia química usada principalmente para fabricar glicol de etileno (una sustancia química usada como anticongelante y poliéster).

El óxido de etileno es un gas inflamable de aroma más bien fuerte. Se disuelve fácilmente en agua.

Una pequeña cantidad (menos de 1%) es usada para controlar insectos en ciertos productos agrícolas almacenados, y una cantidad muy pequeña se usa en hospitales para esterilizar equipo y abastecimientos médicos.

Óxido de etileno (OtE, sigla aceptada en este trabajo) es el producto resultante de la oxidación del etileno (eteno).(39)

Son sinónimos:

- EtO
- ETO
- Dihidrooxireno
- Oxido de dimetileno
- 1,2-Epoxietano
- Epoxietano
- Oxido de eteno

- Oxaciciclopropano
- Oxano
- Oxidoetano
- Oxirano

El gas óxido de etileno es un gas incoloro a la temperatura ambiente; su olor es ligeramente dulce, parecido al éter, sólo perceptible en concentraciones a partir de las 700 ppm. Es soluble en disolventes orgánicos y miscibles con agua a cualquier proporción, forma con ella un compuesto estable el Etilenglicol. Es un gas inflamable cuando se expone a fuentes de ignición en presencia de oxígeno. Es muy soluble en sangre; es rápidamente absorbido por vía inhalatoria, ya que es un gas a temperatura ambiente. Otra vía menos importante de penetración es la cutánea. Se distribuye en el organismo con gran celeridad, siendo su vida media de 9 a 10 minutos. Se excreta principalmente por la orina. Su principal acción sobre los materiales biológico se debe a un agente alquilante muy activo. Por esa vía modifica la estructura del ácido desoxirribonucleico (ADN), del ácido ribonucleico (RNA) y de los lípidos, puesto que se bloquean puntos moleculares críticos que incapacitan a las moléculas para intervenir en los procesos metabólicos y reproductores, con la consiguiente interrupción del metabolismo celular y muerte de la célula.

El proceso se divide en dos etapas:

- 1- Preacondicionamiento: Se calienta la carga y se suministra la humedad necesaria.
- 2- Esterilización: Consta de 4 fases:
 - Evacuación de la cámara haciendo vacío con una bomba.
 - Inyectar el vapor para restablecer la humedad necesaria.
 - Inyección de OtE en la concentración indicada.
 - Evacuación final de la cámara e inyección de aire cuando termina el proceso. Se elimina el OtE por medio de un flujo de aire forzado hacia el

exterior a través de un convertidor catalítico que asegura la conversión del gas en CO₂ y H₂O.

Al final se emplea la cámara de desintoxicación para extraer todo residuo de gas remanente.

Cada lote es esterilizado independientemente acompañado con un indicador biológico para gas óxido de etileno marca Esporitec® (México). Los parámetros son iguales para cada lote, solo varía el tiempo de exposición.

1.12.- Inconvenientes. (40)

A)- Peligrosidad ya que forma mezcla explosiva con el aire y la mayor parte de los gases. El límite de explosividad en el aire oscila entre el 3 y el 100%. Por esta razón se utiliza con anhídrido carbónico.

B)- Tiene cierta tendencia a sufrir polimerización, lo cual debe preverse en el diseño de las instalaciones industriales.

C)- Se trata de un agente esterilizante lento ya que el proceso se prolonga durante varias horas.

D)- Puede presentar incompatibilidad con algunas materias primas y materiales plásticos debido a su poder alquilante.

En un anexo hacemos una relación de materiales como líquidos, gases y productos sólidos que nunca deben esterilizarse con óxido de etileno. (53)

(Ver anexo 6).

Su principal acción sobre materiales biológicos se debe a un agente alquilante muy activo. Por esa vía modifica la estructura del ácido desoxirribonucleico (ADN), el ácido ribonucleico (RNA) y lípidos, puesto que se bloquean puntos moleculares críticos que incapacitan a las moléculas para intervenir en los procesos metabólicos y reproductores, con la consiguiente interrupción del metabolismo celular y muerte de la célula.

El óxido de etileno es una sustancia química manufacturada usada principalmente en la industria para fabricar glicol de etileno (una sustancia química usada para fabricar anticongelante y poliéster). Otros usos son como antiemulsionante del petróleo, disolvente, propulsor de cohetes, algunos de cierta importancia son la fumigación de ciertos materiales.

1.13.- Efectos sobre la salud. (42)

Respirar bajos niveles de óxido de etileno por meses o años ha producido irritación de los ojos, la piel y las vías respiratorias, y ha afectado el sistema nervioso (dolor de cabeza, náusea, vómitos, pérdida de la memoria, adormecimiento, etc.). Las exposiciones a niveles más altos por períodos más breves han causado efectos similares, aunque más severos. Hay cierta evidencia de que la exposición al óxido de etileno puede inducir abortos en mujeres embarazadas.(42)

Los efectos sobre la salud más importantes son la toxicidad, cancerígenos, Mutagénicos y teratogénicos:

1.14.- Toxicidad para el hombre.

Fuertemente irritante local, aguda y subaguda, con un periodo de latencia de unas horas para los ojos y la piel. En los ojos, las lesiones pueden ser irreversibles y a grandes concentraciones puede producir cataratas.

La exposición por inhalación puede provocar:

- Irritación de vías respiratorias: disnea, cianosis, incluso edema pulmonar.
- Trastornos en el aparato digestivo: náuseas, vómitos y diarreas.
- Trastornos neurológicos: cefaleas, somnolencia, incoordinación.

Exposiciones repetidas pueden producir dermatosis alérgicas, siendo éstas poco frecuentes, también pueden dar reacciones de sensibilización. A

concentraciones moderadamente altas se han descrito casos de polineuritis sensitivo-motoras y alteraciones del sistema neurovegetativo.

Estudios en animales de experimentación, indican que además de irritación de las vías respiratorias, efectos al sistema nervioso y al sistema reproductivo, la exposición de larga duración al óxido de etileno, también puede afectar los riñones, las glándulas adrenales y los músculos esqueléticos.

1.15.- Efectos cancerígenos y mutagénicos. (38, 40)

En estudios experimentales sobre ratas y ratones, el OtE ha mostrado una gran capacidad de inducción de un amplio número de tumores en diversas localizaciones, tumores de estómago, pulmón/bronquio, útero, mama, linfomas, leucemias, tumores del SNC, mesoteliomas, sarcomas, etc.

1.16.- Estudios Teratogénicos.

Los estudios en estos mismos animales, así como en el conejo, no muestran tanta concordancia en cuanto a sus efectos teratogénicos, aunque éstos se han observado en condiciones muy extremas (altísimas concentraciones ambientales en el momento de la fecundación, inyección intravenosa de OtE.

Hoy en día se considera que existe una evidencia suficiente para considerar el OtE como cancerígeno en humanos, siendo incluidos, hasta el momento, en el grupo 1 de la International Agency for Research on Cancer (IARC), clasificación de 1998.

1.17.- Personal expuesto profesionalmente. (39)

Los estudios epidemiológicos realizados sobre personal profesionalmente expuesto al OtE, incluyendo personal de las centrales de esterilización de los hospitales y personal de industrias químicas con exposición profesional, encuentran una asociación entre la exposición a OtE y los tumores de origen linfóide y hematopoyético, fundamentalmente con la leucemia linfóide y los linfomas no

Hodgkin, y en algunos de estos estudios encuentran además una asociación con el cáncer de estómago (50).

El óxido de etileno es una sustancia que puede considerarse mutagénica para el hombre, definida en España por el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene del Trabajo (INSHT) como M2, pues al ser un agente alquilante:

- Induce un incremento en la frecuencia de aberraciones cromosómicas, relacionado con la dosis recibida.
- Posee una elevada capacidad mutagénica
- Diversos estudios epidemiológicos han observado una asociación entre la exposición profesional a OtE y el riesgo de aborto.

La American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) de EEUU establece un valor Threshold Limit Values/Time-Weighted Average (TLV-TWA) de 1 ppm (1,8 mg/m³), como concentración promedio permitida para 8 horas/día y 40 horas semanales.

— La OSHA (Occupational Safety & Health Administration) de EEUU recomienda un límite de exposición inferior a 0,1 ppm para 8 horas diarias de exposición .

— Las normas GOST de Rusia establecen como valor permitido en ambientes laborales 0,5 ppm para 8 horas /día.

— La mayoría de los países europeos como Francia, Alemania, Italia, Gran Bretaña, Dinamarca, Suecia... disponen de un límite de exposición

laboral para 8 horas/día, comprendido entre 1 y 5 ppm. Este mismo valor es considerado por la Occupational Safety and Health Administration (OSHA) pero ampliando el tiempo de exposición.

A todo ello se debe de tener en cuenta en esta evaluación el OtE endógeno, producido por el propio organismo a partir del etileno; en su producción influyen Muchos factores como son: los hereditarios, las dietas pobres en selenio y ricas en grasas saturadas, la composición de la flora intestinal.

CAPITULO 2
DISEÑO METODOLÓGICO DE LA INVESTIGACIÓN

2.- Diseño metodológico de la investigación. (42, 43)

2.1.- Materiales y método:

Para emprender este estudio se realizó una evaluación de nuestras posibilidades organizativas, recursos materiales y acceso a las fuentes de información. (44, 45, 46)

Tipo de estudio: Experimental *In Vitro* en el que se evalúa la propiedad esterilizante del gas óxido de etileno mediante el empleo en tejido óseo esponjoso y piel porcina contaminados con gérmenes provenientes de cepas conocidas. Para ello se establecerá un método que garantice la contaminación de porciones de tejido óseo esponjoso y piel porcina, con un germen conocido.

En este ensayo preclínico se empleó una mezcla de OtE / CO₂ (ver anexo 5) en una proporción de 20 / 80 %; con los siguientes parámetros:

- a) La concentración del gas OtE fue de 500 mg / L.
- b) El tiempo de exposición fue variable entre 60, 90 y 120 minutos, en correspondencia con el protocolo de actuación.
- c) La temperatura de 55 °C.
- d) Humedad relativa de 60 %.
- e) Tiempo de aireación 2 horas en la cámara.

2.2. Variables:

- a)- Variable principal cualitativa, cuantificar los gérmenes patógenos en las muestras de tejido óseo y piel porcina contaminadas con una cepa de gérmenes conocidos, después de ser sometido a la acción del gas óxido de etileno durante un tiempo variable. Los resultados se expresan: como 1, la presencia de gérmenes y como 0, si hay ausencia.
- b)- Variable secundaria cuantitativa: tiempo de exposición de las muestras contaminadas con la cepa de un germen conocido a la

acción del gas óxido de etileno para la eliminación del mismo. Cuantificar el número de gérmenes en cada grupo de ensayo de acuerdo al tiempo de exposición al gas OtE. Los resultados se cuantifican como 1 la presencia de gérmenes y como 0 si hay ausencia.

c)- Variable secundaria cualitativa: evalúa los cambios histológicos en la piel porcina esterilizada con OtE comparándola con igual muestra de piel porcina esterilizada con irradiaciones de cobalto 60, mediante el estudio de las células epidérmicas de la capa cornea y cuerpo de Malpiggio y la presencia de cambios morfológicos en la membrana, citoplasma y núcleo celular.

e)- Variable secundaria cuantitativa: comparar el costo de esterilizar una misma cantidad de tejido óseo esponjoso, incluyendo la empaquetadura, mediante irradiación de cobalto 60 ó con el empleo del gas óxido de etileno.

2.3.- Método de inclusión, exclusión y salida, en el caso del tejido óseo.

Son incluidos en este proceso solamente los tejidos procurados por el Sistema Nacional de Trasplante de Órganos Tejidos y Células (SNTOTC), el cual incluye en sus normas de procuración el consentimiento informado de familiares del fallecido y los donantes incluidos y excluidos en el programa. Son excluidos los tejidos que no cumplan las normas del Banco de Tejidos ORTOP en cuanto a la procuración y conservación de los tejidos o no provengan del SNTOTC, Tampoco se incluyeron las cabezas femorales enviadas por nuestro salón de operaciones. Son dados de baja del experimento los tejidos cuyas empaquetaduras sean deficientes.

2.4.- Método de inclusión, exclusión y salida, en el caso de la piel porcina.

En el caso de la piel porcina se incluyen aquellas procedentes de animales certificados por el centro productor, convenido a ese efecto. Se excluyeron del estudio los animales que no provinieron del centro productor así como

las pieles traumatizadas en el traslado del animal al Banco de Tejidos. Causaron salida del experimento las piezas que presentaran deficiencias en su empaquetadura que no garanticen su hermeticidad o errores en su identificación.

2.5.- Recursos logísticos.

El Complejo Científico Ortopédico Internacional (CCOI) “Frank País”, donde se encuentra ubicado el Banco de Tejidos ORTOP, dispone de cámaras de Esterilización con gas OtE marca Sakura ®, Japón, 1995

(Fig. 3), una Liofilizadora Telstar (Fig.1) y cámaras de aireación (desintoxicación), para la esterilización de los materiales sensibles al calor. Dispone además de un moderno laboratorio de microbiología con los recursos necesarios para el diagnóstico y clasificación de los gérmenes patógenos.

2.6. Muestra de Estudio.

2.6.1. Implementación de un método de contaminación de tejido óseo esponjoso.

En el caso del tejido óseo esponjoso se emplearon 54 porciones de hueso homólogo procedente del Sistema Nacional de Trasplante de Órganos, Tejidos y Células (SNTOTC), de 16 mm³., las cuales fueron sometidas al procesamiento estándar del Banco de Tejidos, según establecen sus normas hasta culminar con la deshumidificación al 5% (liofilización). Estas muestras fueron separadas en tres grupos de ensayo de 18 muestras cada uno. Este primer ensayo tiene como objetivo comprobar un método de contaminación del tejido óseo esponjoso y los otros dos para comprobar la eficacia del gas OtE en esterilizar las muestras de tejido óseo contaminadas con un germen conocido.

2.6.2. Implementación de un método de contaminación de piel porcina.

Toda la piel porcina empleada en el ensayo era proveniente de cerdos suministrados por la empresa porcina acompañados con su certificado de

calidad, sacrificados en el propio banco de tejidos. El grupón es lavado con jabón y abundante agua, para el arrastre mecánico. El tratamiento de la piel se completa con el lavado con cetablón al 1 %. Los animales eran de la raza *Poland chine*, de 170 a 190 Kg. de peso, de la misma especie y raza que se viene empleando desde hace 20 años en el Banco de Tejidos ORTOP para la fabricación de los apósitos biológicos.

Para el estudio de la piel porcina se emplearon 120 piezas liofilizadas de 10 X 10 mm. de superficie, y entre 0,3 y 0,4 mm. de espesor. Se confeccionó un grupos de ensayo de 30 muestras para comprobar el método de contaminación con gérmenes conocidos dividido en dos subgrupos de 15 muestras cada uno, para probar la eficacia del método de contaminación de la piel con una cepa de *Estafilococo coagulasa* positivo y otra de *Pseudomona aeruginosa*. En este caso no empleamos grupo control por considerar que la prueba de control de la contaminación con un germen conocido para el tejido óseo era suficiente.

El proceder se realizó en el banco de tejidos en un gabinete de seguridad biológica (Fig. 3) marca Telestar de España. Cada muestra se empaquetó individualmente con doble envoltura, en bolsas especiales para esterilizar con gas OtE, convenientemente roturadas.

Con la piel porcina restante, 90 muestras, se realizó un segundo ensayo con el objetivo de comprobar la capacidad del gas OtE para esterilizar dos grupos de 45 muestras cada uno, los cuales fueron contaminados con *Estafilococo coagulasa* positivo y *Pseudomona aeruginosa*, respectivamente.

2.7.- Procedimiento seguido con las muestras de tejido óseo y piel porcina contaminados con cepas de gérmenes conocidos, no esterilizados, en el Banco de Tejidos.

. **Primer ensayo hueso.** Con las 54 muestras de tejido óseo para este ensayo, 18 del total, se realizo el primer ensayo, confeccionando 3 subgrupos, uno de control y dos de ensayo, con el objetivo de comprobar el método de contaminación del tejido óseo esponjoso el cual consistió en

sembrar en un medio de cultivo; seis (6) muestras no contaminadas (subgrupo A), tal como salen del proceso de liofilización. Seis (6) muestras contaminadas con una cepa conocida de *Estafilococos coagulasa positivo*, (subgrupo B) y seis (6) muestras contaminadas con una cepa conocida de *Pseudomona aeruginosa* (subgrupo C). Todas las muestras de tejido óseo procesadas de esa forma, sin esterilizar, fueron enviadas al laboratorio de microbiología para ser estudiadas.

El **segundo ensayo** lo formaron las 36 muestras de tejido óseo restantes; se dividieron en dos subgrupos de 18 muestras cada uno de (subgrupo Ec) y (subgrupo Pa). Estos subgrupos de igual forma que en el primer ensayo, fueron contaminados con dos cepas de gérmenes ya conocidas y enviados para el departamento de esterilización para ser esterilizados en lotes de seis durante un tiempo variable de 60, 90 y 120 minutos.

El **tercer ensayo** se conformó con 30 muestras de **piel**, separadas en dos grupos de 15 muestras, uno fue contaminado con una cepa conocida de *Estafilococos coagulasa positivo*, y el segundo se contaminó con una cepa conocida de *Pseudomona aeruginosa*. Con estos dos grupos (A y B), sin ser esterilizados, fueron enviados al laboratorio de microbiología para ser estudiados.

El método evaluativo empleado fue cualitativo con el objetivo de comprobar la efectividad del método contaminación.

El **cuarto ensayo** para comprobar la *efectividad del gas OtE* para esterilizar dos lotes de piel porcina contaminados respectivamente con cepas de gérmenes conocidos.

Con las 90 muestras de piel porcina restantes se realizó el **quinto ensayo**. Las muestras fueron divididas en dos grupos de 45 muestras (A y B) cada uno. Todas las muestras fueron contaminadas de igual forma que en el ensayo tres, con las cepas gérmenes ya conocidas y enviadas al departamento de esterilización para ser expuestas en su totalidad al gas óxido de etileno durante un tiempo variable de 60, 90 y 120 minutos.

2.8.- Procedimiento en el departamento de esterilización.

Cada grupo B y C de tejido óseo se dividió en tres subgrupo de 6 muestras cada uno, que fueron sometidos a un proceso de esterilización durante de 60 (subgrupo Ec1), 90 (subgrupo Ec2) y 120 (subgrupo Ec3) minutos; igualmente el grupo C se dividió en tres subgrupos: Pa1 (60 minutos), Pa2 (90 minutos) y Pa3 (120 minutos) en un autoclave Sakura® para gas óxido de etileno.

En el caso de la piel porcina cada grupo A y B fueron subdivididos en 3 subgrupos, y sometidos al proceso de esterilización durante de 60 (subgrupo Ec1), 90 (subgrupo Ec2) y 120 (subgrupo Ec3) minutos; igualmente el grupo C se dividió en tres subgrupos: Pa1 (60 minutos), Pa2 (90 minutos) y Pa3 (120 minutos) y sometido a la acción del gas OtE durante 60, 90 y 120 minutos, convenientemente roturados.

2.9.- Procedimiento estandarizado para el estudio de las muestras de tejidos, en el laboratorio de microbiología. (Fig. 3)

En el laboratorio de microbiología al llegar las muestras de tejido eran inspeccionadas para comprobar la hermeticidad de la envoltura y su paso por la cámara de OtE. Todas las muestras fueron procesadas desconociendo los técnicos el proceder realizado con las muestras de tejido, incluyendo el tiempo de esterilización.

Las muestras de tejido se tomaron con pinza estéril y se introdujeron en el medio de cultivo de tioglicolato, posteriormente se incubaron a 37° C durante 7 a 10 días con lecturas diarias.

A las 72 horas de incubación se hicieron pases a Agar sangre de carnero aunque no se observara crecimiento bacteriano, para confirmar que no había crecimiento de microorganismos.

Durante el tiempo de incubación si se observaba turbidez en los medios de cultivo utilizados, se procedió a realizar pase a Agar sangre de carnero para la identificación de los microorganismos encontrados, o a medios de

cultivo selectivos de acuerdo a requerimientos del tipo de germen encontrado.

Todas las muestras de tejido óseo fueron estudiadas por tratarse de un número reducido. En el caso de las muestras de piel, por tratarse de una muestra grande, se estudiaron solamente el 33%.

Se procedió a la correcta y completa identificación de las muestras, especificándose: material a controlar, fecha de esterilización, equipo, tanda de esterilización, lugar de ubicación del equipo, operador, así como el método de esterilización y otros datos de interés para identificar los resultados.

Los resultados se expresaron como:

- No crecimiento bacteriano: = 0
- Se aislaron microorganismos en las muestra: = 1

Las muestras fueron sometidas al mismo proceso de siembra en medios de cultivo como el empleado en el primer ensayo, informando el resultado del estudio.

2.9.1. Equipos empleados en el laboratorio de microbiología:

Gabinete de seguridad biológica

Incubadora 37°C

Microscopio óptico estereoscópico.

Autoclave (121°C),

Horno de Pasteur (160°C).

Medios de cultivo y reactivos.

Medio fluido de tioglicolato.

Agar sangre de carnero

2.9.2. Medios de cultivo selectivos (placa) de acuerdo al germen a identificar.

- Medios de cultivo y reactivos para pruebas bioquímicas
- Colorantes de Gram

- Discos diagnósticos.
- Cristalería.
- Placas de Petri de 10 - 15 x 100 mm.,
- Tubos de ensayo de tapa de rosca de 18 x 150 mm. y de 100 x 13 mm.
Láminas porta-objetos.
- Otros:
 - Hisopos individuales
 - Pinzas
 - Mechero Bunsen
 - Asas y agujas
 - Rotulador
 - Tijeras
 - Aceite de inmersión
 - Gradillas para tubos de ensayo de 18 x 150 Mm. y de 100 x 13 mm.

2.10.- Estudio histológico comparativo entre la piel porcina esterilizada con radiación y con gas óxido de etileno.

Finalmente se realizó un **quinto ensayo** para evaluar si el empleo del OtE como esterilizante de la piel porcina produce algún cambio histológico, al ser comparado con la piel porcina esterilizada con radiaciones ionizantes.

Para ello se prepararon 50 porciones de piel porcina de. 1 cm² divididas en 5 grupos de 10:

Grupo A: Liofilizada solamente (sin contaminar ni esterilizar).

Grupo B: Liofilizada y Esterilizada con Oxido de Etileno durante 60 minutos.

Grupo C: Liofilizada y Esterilizada con Oxido de Etileno durante 90 minutos.

Grupo D: Liofilizada y Esterilizada con Oxido de Etileno durante 120 minutos.

Grupo E: Liofilizada e Irradiada con Cobalto 60 a una dosis de 25 KGy.

Las 10 muestras de tejidos irradiados procedían de lotes esterilizados en el CEADEN. Los esterilizados con OtE procedían de las muestras no empleadas en el estudio microbiológico.

Fijación: Las piezas son fijadas en formol 10 % durante 24 horas en un volumen de fijador de 10 partes por cantidad de fijador. Se identifica cada frasco con los datos del fragmento.

Deshidratación, aclaración y embebido en parafina:

Se realiza en un equipo procesador automático de tejidos en alcoholes a porcentajes crecientes: 70 %, 80 %, 90% y 100%, posteriormente siguen al proceso de aclaración y desalcoholización con xilol, el paso siguiente consiste en embeber el fragmento en parafina líquida 60⁰ C de fusión.

Inclusión.

En moldes de aluminio se forman bloques de parafina en los que se incluyen tangencialmente los segmentos de piel de forma que sea posible la visualización de sus capas, se identifica el bloque con los datos del segmento. Se deja solidificar el bloque y elimina el exceso de parafina de la superficie de corte.

Corte.

Se utilizan para los cortes micrótomo vertical Leitz – Wetzlar Modelo 1207, se realizan cortes seriados de 5 micras de espesor y se escogen 3 para colocarlos sobre una lámina portaobjetos, a la que previamente se colocó albúmina para lograr se adhiera el fragmento.

Coloración.

Hematoxilina-Eosina.

- Desparafinar: Previamente a la coloración de los fragmentos se procede a desparafinar en tres cambios consecutivos de xilol.

- Hidratación: Se rehidrata el tejido mediante su inmersión en alcoholes descendentes desde 100 % hasta 70 %, luego son sumergidos en agua corriente.
- Coloración con Hematoxilina de Mayer:
 - Hematoxilina 1 gr.
 - Alcohol absoluto 15 ml.
 - Agua destilada 1000 ml
 - Iodato de sodio 0, 15 grs.
 - Alumbre de potasio50 grs.
 - Ácido Acético Glacial 20 ml
- Del agua corriente se sumergen los fragmentos en la hematoxilina para la coloración de los núcleos, para diferenciar se sumergen inmediatamente en ácido clorhídrico al 1 % y luego rápidamente también hacia agua corriente.
- Inmersión en alcoholes ascendentes hasta llegar al alcohol absoluto, para lograr nuevamente la deshidratación.
Hematoxilina Acida Fosfotungstica de Mallory.

Técnica específica para entre otros detalles histológicos demostrar los puentes intercelulares entre las células epidérmicas.

Hematoxilina Acida..... 1 gr
Acido Fosfotungstico 20 gr
Agua destilada..... 1000 ml

- Se disuelven los solutos por separado en el agua destilada, una vez diluidos se agregan 0.177 grs. de permanganato de potasio al 0.25 %

Reacción Ácido periódico de Schiff: (PAS)

- Disolver 1 gr de fuchina diamante en 200 ml de agua destilada a punto de ebullición, dejar enfriar.
- Agregar 20 ml de ácido clorhídrico

- Agregar 2 gr de metabisulfito de sodio
- Poner en la oscuridad con cubierta de papel aluminio durante 24 horas.
- Agregar 0,5 gr de carbón vegetal y guardar en refrigeración a 4^o C
- Añadir ácido priódico al 5 %
- Realizar baños sulfurosos con metasulfito de sodio al 5 % 5 ml
- Ácido clorhídrico normal 5 ml
- Agua destilada 90 ml

Método: Lavar con agua destilada, introducir en solución de ácido priódico durante 5 minutos, Lavar con agua corriente y destilada sucesivamente. Introducir en reactivo de Schiff durante 30 minutos. Lavar con agua destilada. Introducir en la hematoxilina de Harris por 2 minutos. Diferenciar con ácido clorhídrico. Lavar con agua corriente. Deshidratar, aclarar y montaje de la lámina cubreobjeto.

Resultados:

- glucógeno ----- rojo
- muco polisacáridos---- Magenta
- muco proteínas ----- rojo
- membrana basal----- rojo.

2.11.- Equipos empleados.

Una vez concluido el procesamiento técnico se realizará un estudio histológico de los cortes de piel según los grupos del modelo experimental. Para el estudio se utiliza un microscopio óptico OLYMPUS, modelo BH-2, de Japón, el que posee una cámara analógica SONY CCD-1RIS para la digitalización de las imágenes microscópicas del tejido. Una vez digitalizadas se procederá a realizar los estudios morfométricos mediante el empleo de un sistema computarizado para la Morfometría de Imágenes de EISISOFT Digipat 2001. Versión 4.

Teniendo en cuenta que no se trata de un ensayo de implantación en animales de experimentación solo se consideró una variable principal en la cual se evaluó la cohesión entre las células epidérmicas de las capas córnea y cuerpo mucoso de Malpiggio, tanto en la piel de cerdo

esterilizada con gas OtE como la esterilizada mediante irradiación de cobalto 60.

2.12. Análisis estadístico.

Debido a la muestra seleccionada para el estudio, 54 porciones de tejido óseo esponjoso y 120 porciones de piel porcina, divididas en grupos y subgrupos, se le aplicó el método paramétrico. Los resultados fueron codificados en cada subgrupo: ausencia de germen = 0, presencia de germen = 1; y comparados entre sí. (47).

La aplicación del test de Welch a las variables: número total de muestras, números de muestras contaminadas y tiempo de esterilización, permitió calcular la **media** y la **desviación estándar** con las fórmulas siguientes:

La media:
$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

Para la desviación estándar:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

2.13. Procedimientos éticos:

Todo los procedimientos empleados en el Banco de Tejidos ORTOP®. cumplieron las normas de procedimiento y calidad instituidas (49, 50). El ensayo preclínico del gas OtE como agente esterilizante de tejido óseo esponjoso fue aprobado mediante dictamen del Consejo Científico del CCOI Frak País y el Comité de Ética.

CAPITULO 3
RESULTADOS

3.- Resultados

3.1.- Comprobación del método de contaminación de tejido óseo esponjoso. (Tablas 1, 2 y 3).

Las tablas resumen los resultados. La tabla No. 1 (subgrupo A) que no fue contaminado, muestra el resultado del el estudio microbiológico del tejido tal y como sale del proceso de liofilización, donde se demuestra que la mayoría de la muestras están contaminadas.

El subgrupo B se contaminó con *Estafilococo coagulasa* positivo proveniente de una cepa de gérmenes conocida y el subgrupo C se contaminó con *Pseudomona aeruginosa*. El resultado del estudio en el laboratorio de microbiología fue el siguiente:

Tabla 1

Subgrupo A: sin contaminar

| No. Muestra | Cultivo |
|-------------|--------------|
| A1 | Estafilococo |
| A2 | Estafilococo |
| A3 | Estafilococo |
| A4 | Negativo |
| A5 | Estafilococo |
| A6 | Negativo |

Fuente: Planilla de microbiología. (Anexo 5)

Las tablas 2 y 3, comprueban que el método de contaminación fue efectivo, por lo tanto es adecuado para el segundo ensayo, para comprobar la efectividad del gas óxido de etileno en esterilizar el tejido óseo esponjoso, en caso de estar contaminado con un estafilococo o una pseudomona.

Tabla 2

 Subgrupo B: Contaminado con estafilococo coagulasa positivo.

| No..Muestra | Cultivo |
|-------------|--------------|
| B1 | Estafilococo |
| B2 | Estafilococo |
| B3 | Estafilococo |
| B4 | Estafilococo |
| B5 | Estafilococo |
| B6 | Estafilococo |

Fuente: Planilla de microbiología. (Anexo 5)

Tabla 3

 Subgrupo C: Contaminado con pseudomona aeruginosa

| No. Muestra | Cultivo |
|-------------|------------|
| C1 | Pseudomona |
| C2 | Pseudomona |
| C3 | Pseudomona |
| C4 | Pseudomona |
| C5 | Pseudomona |
| C6 | Pseudomona |

Fuente: Planilla de microbiología. (Anexo 5)

3.2.- Resultados de Comprobar la efectividad del gas OtE para esterilizar el tejido óseo esponjoso.

El resultado de someter 36 muestras de estafilococo coagulasa positivo a la acción del OtE en un tiempo variable de 60, 90 y 120 minutos se expresan en las tablas 4 y 5.

Tabla 4

Grupo B: Tejido óseo contaminado con estafilococo coagulasa positivo y esterilizado con ÓtE durante:

Ec1 60 minutos.

Ec2 90 minutos.

Ec3 120 minutos

| Subgrupo Ec 1 | Resultado | Subgrupo Ec 2 | Resultado | Subgrupo Ec 3 | Resultado |
|------------------|-----------|------------------|-----------|------------------|-----------|
| 1 Ec 1 | 0 | 1 Ec 2 | 0 | 1 Ec 3 | 0 |
| 2 Ec 1 | 0 | 2 Ec 2 | 1 | 2 Ec 3 | 0 |
| 3 Ec 1 | 1 | 3 Ec 2 | 0 | 3 Ec 3 | 0 |
| 4 Ec 1 | 0 | 4 Ec 2 | 0 | 4 Ec 3 | 0 |
| 5 Ec 1 | 0 | 5 Ec 2 | 0 | 5 Ec 3 | 0 |
| 6 Ec 1 | 0 | 6 Ec 2 | 0 | 6 Ec 3 | 0 |

Fuente: Planilla de microbiología. (Anexo 5)

Tabla 5

Grupo C: Tejido óseo contaminado con pseudomona aeruginosa y esterilizado con ÓtE durante:

(Pa 1) 60 minutos.

(Pa 2) 90 minutos.

(Pa 3) 120 minutos.

| Subgrupo Pa 1 | Resultado | Subgrupo Pa 2 | Resultado | Subgrupo Pa 3 | Resultado |
|------------------|-----------|------------------|-----------|------------------|-----------|
| 1 Pa 1 | 0 | 1 Pa 2 | 0 | 1 Pa 3 | 0 |
| 2 Pa 1 | 0 | 2 Pa 2 | 1 | 2 Pa 3 | 0 |
| 3 Pa 1 | 0 | 3 Pa 2 | 0 | 3 Pa 3 | 0 |
| 4 Pa 1 | 0 | 4 Pa 2 | 0 | 4 Pa 3 | 0 |
| 5 Pa 1 | 0 | 5 Pa 2 | 0 | 5 Pa 3 | 0 |
| 6 Pa 1 | 0 | 6 Pa 2 | 0 | 6 Pa 3 | 0 |

3.3. Resultados de la contaminación de la piel porcina con un germen

Conocido.

El resultado de la contaminación de la piel porcina con dos tipos de gérmenes conocidos, analizados en el laboratorio de microbiología después de terminado el proceso de liofilización, sin que se hayan expuestos gas OtE se puede apreciar en el resumen en las tablas 6.

Tabla 6

Muestras de piel no esterilizadas y contaminadas con estafilococo coagulasa positivo (Ec) grupo A, y pseudomona aeruginosa (Psa) grupo B

| Muestras Ec. Grupo A | Resultado | Muestra Psa. Grupo B | Resultado |
|----------------------|-----------|----------------------|-----------|
| 1 | Ec | 1 | Psa |
| 2 | Ec | 2 | Psa |
| 3 | Ec | 3 | Psa |
| 4 | Ec | 4 | Psa |
| 5 | Ec | 5 | Psa |

Fuente: Planilla de microbiología. (Anexo 5)

3.4. Resultado de comprobar la efectividad del gas óxido de etileno para Esterilizar un lote de piel porcina contaminado con estafilococo coagulasa positivo y pseudomona aeruginosa.

Las tablas Nos. 7 y 8 resumen el resultado de comprobar la efectividad del gas OtE para esterilizar la piel porcina contaminada con un germen conocido durante un tiempo variable de 60, 90 y 120 minutos.

Tabla 7

| Grupo A (Estafilococo coagulasa positivo) | | | | | |
|---|-----------|---------------------|-----------|----------------------|-----------|
| Subgrupo 60 minutos | | Subgrupo 90 minutos | | Subgrupo 120 Minutos | |
| Ec 1 | | Ec 2 | | Ec 3 | |
| No. muestra | Resultado | No. Muestra | Resultado | No. muestra | Resultado |
| 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 |
| 3 | 0 | 3 | 0 | 3 | 0 |
| 4 | 0 | 4 | 0 | 4 | 0 |
| 5 | 0 | 5 | 0 | 5 | 0 |

Tabla 8

| Grupo B (Pseudomona aeruginosa) | | | | | |
|---------------------------------|-----------|----------------------|-----------|-----------------------|-----------|
| Subgrupo 60 minutos. | | Subgrupo 90 minutos. | | Subgrupo 120 Minutos. | |
| Pa 1 | | Pa 2 | | Pa 3 | |
| No. muestra | Resultado | No. Muestra | Resultado | No. muestra | Resultado |
| 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 |
| 3 | 0 | 3 | 0 | 3 | 0 |
| 4 | 0 | 4 | 0 | 4 | 0 |
| 5 | 0 | 5 | 0 | 5 | 0 |

3.5. Resultado del estudio histológico comparativo entre la piel porcina esterilizada con OtE y radiaciones de cobalto 60.

Evaluación de los cambios histológicos en cada grupo de estudio según las variables definidas

Tabla 10:

| Variables | Grupo A | Grupo B | Grupo C | Grupo D | Grupo E |
|---|----------|----------|----------|----------|----------|
| Modificaciones en el citoplasma | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Alteraciones de la membrana celular | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Alteraciones nucleares | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Necrosis celular/Apoptosis | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Reacción tisular de la dermis superficial | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

La tabla diez resume los resultados del estudio comparativo de muestras de piel porcina esterilizada con gas óxido de etileno durante un período de tiempo variable y la esterilizada con radiaciones gamma de cobalto 60 a una dosis de 25 KGy. (Ver figuras 4 y 5)

3.6.- Aporte social y valoración económica.

Nuestro pequeño país esta sometido a un brutal y genocida bloqueo económico por el país más poderoso en el mundo en que vivimos, Sí hemos logrado sobrevivir a tan poderosas fuerzas que nos hostigan a cada

instante ha sido por haber dado a nuestro pueblo “toda la justicia” con lo que se ha logrado el apoyo de la gran mayoría de sus ciudadanos. El movimiento de innovadores y racionalizadores (ANIR) ha contribuido amortiguar los efectos del bloqueo. Los profesionales dedicados a la investigación no han estado ajenos al esfuerzo del país, buscando soluciones a los problemas, de la forma más económica posible. Fue ese el motivo que nos impulso a esta investigación.

El calculo económico lo hicimos cuando el precio que pagábamos al CADEN era en moneda convertible, en la actualidad se entendió que siendo nosotros un organismo del MINSAP, que ofrece gratuitamente su producción a los pacientes, no era lógico que se nos exigiera el pago en moneda libre convertible, en la actualidad el pago se realiza en moneda nacional. De todas formas esta investigación podrá ahorrar al país muchos recursos, al no utilizar los servicios del CADEN, que en definitiva a ellos sí les cuesta la prestación de sus servicios.

De generalizarse estos resultados, en las condiciones que se recomienda, el país estaría en condiciones de aplicarlo en casi todas las provincias donde dispongan de cámaras de esterilización con óxido de etileno

El costo de la esterilización de 900 gramos de tejido óseo calculado es:

A) – El irradiador del centro de aplicaciones y desarrollo de la energía nuclear (CEADEN) posee un contenedor pequeño de un pié cúbico, con capacidad para 900 gr. de tejido óseo esponjoso liofilizado y empaquetado (TOE)

a) Irradiar 900 gramos de tejido _____ 68.00 CUC

b) Combustible para el transporte. _____ 2.00 CUC

Total: 70.00 CUC

B) La capacidad de la cámara de OtE de nuestro centro es de 23 litros. El llenado de la cámara requiere 11,5gr. a una concentración de 500 Mg. por litro.

RESULTADOS

El costo de un gramo de gas OtE, importado 3,4 centavos de CUC; lo cual equivale a 39,10 (39 por aproximación) CUC el llenado de la cámara. Siendo la capacidad de la cámara de OtE de 23 litros, esto permitiría esterilizar el doble de tejido óseo esponjoso (TOE), sin hacinamiento que dificulte la difusión del gas.

a)- Costos de la esterilización de 900 gramos de tejido óseo esponjoso, (TOE) con EtO: ----- 0.40 CUC

b) Costo de combustible para transporte: ----- 0.00 CUC

Total: 0.40 CUC

Nota: El precio cilindro gas EtO (25 Kg.) es: ----- 709. 21 CUC

Recargo de el 20%: ----- 141, 84 CUC

Total: 851. 05 CUC.

(Ver anexo 3)

CAPITULO 4

DISCUSIÓN

4. Discusión

4,1.- Discusión de los resultados,

En las tablas 1, 2 y 3 que recogen los resultados establecer un método de contaminación del tejido biológico con gérmenes conocidos que permita probar la eficacia del gas OtE para esterilizarlos, se demuestra en la tabla No.1 la población de gérmenes con que salen las muestras al terminar el proceso de liofilización. El porcentaje de contaminación se obtuvo con la fórmula:

$$P = \frac{C}{n} \times 100 \quad \text{donde } n \text{ es el No. de muestras y } C \text{ el de gérmenes encontrados.}$$

$$P = \frac{4}{6} \times 100 = 66.67 \%$$

Mientras que con la misma fórmula en las tablas 2 y 3 muestran que la contaminación fue 100% a los gérmenes implantados.

$$P = \frac{6}{6} = 1 \times 100 = 100\%$$

Estos resultados nos demuestran que el método de contaminación de las muestras resultó efectivo en la totalidad de las mismas.

El hecho que en el grupo A de control (Tabla 1), aparecieran gérmenes patógenos no tiene mayor implicación en los resultados, por el contrario, solo sirve para mostrar como es la contaminación de los tejidos que procesamos en nuestro banco de tejidos, antes de esterilizarlos. Para mi lo más interesante es que de las 6 muestras, dos estuvieran estériles, siendo el procesamiento de rutina "*limpio*" y no "*aséptico*".

En las tablas 4 y 5 se muestran los resultados de la esterilización del tejido óseo contaminado con una cepa de estafilococo coagulasa positivo y de pseudomona aeruginosa a intervalos de tiempo de 60, 90 y 120 minutos.

En esta tabla No.11 agrupamos los resultados de la Tabla 4 para mejor aplicación del estudio estadístico.

Tabla 11

| Subgrupo | Tiempo | muestras contaminadas |
|----------|------------|-----------------------|
| Ec1 | 60 minutos | 1 |
| Ec2 | 90 " | 2 |
| Ec3 | 120 " | 0 |

Los datos obtenidos con la aplicación del test de Welch se pueden resumir en el cuadro siguiente:

Tabla 12

| Parámetro. | grupo A | grupo B |
|------------------------|---------|---------|
| Promedio | 0.08333 | 0.1667 |
| Cantidad de la muestra | 12 | 12 |
| Derivación estándar | -0.2887 | 0.3892 |
| Error estándar | 0.08333 | 0.1124 |
| CI inferior a 95%. | -0.1001 | 0.08065 |
| CI superior a 95%. | 0.2667 | 0.4140 |

Para determinar si fue significativa la diferencias la cantidad de gérmenes que aparecieron a los 60 minutos y a los 90 minutos de esterilización, se utilizó el test de Welch cuyo resultado fue $t = 0.5957$ con valor de $p = 0.5581$ (no significativo) por lo que podemos aceptar la hipótesis que las medias de gérmenes encontrados en ambos grupos (60 y 90 minutos) son aproximadamente iguales.

En la discusión de los resultados de la tabla 5 donde se muestra el resultado de la esterilización de tejido óseo contaminado con una cepa de *Pseudomona aeruginosa*, donde se observa una aparente contradicción con la presencia de una muestra positiva, en el subgrupo Pa2 (90 minutos), mientras que a los 60 minutos y 120 minutos, los subgrupos Pa1 y Pa3, resultaron estériles.

No tenemos explicación para estos resultados ya que cada subgrupo se esterilizó por separado; por la escasa cantidad de muestras en la autoclave de OtE no hay posibilidades de que el gas no llegara a todas las muestras y por otra parte los tubos testigos biológico y el control químico a la esterilización con OtE incorporado al papel de envase mostraron la efectividad de cada proceso. Solo cabe pensar en una contaminación al momento de hacer la siembra en el laboratorio de microbiología.

En cuanto a la piel porcina la tabla 7 muestra que las 30 muestras contaminadas con *Ec.* Y *Pa.* que no fueron esterilizadas por tratarse de ensayo de probar el método de contaminación de la piel, se mostró igualmente efectivo en todos los casos.

Como todas las muestras contaminadas dieron resultados positivos a los dos gérmenes contaminantes, estafilococo coagulasa positivo y *pseudomona aeruginosa*, se consideró que el método era adecuado para pasar a la segunda fase de la investigación.

Las 90 muestras de piel restantes se dividieron en dos grupos de 45 muestras cada una. Un grupo se contaminó con estafilococo coagulasa positivo (*Pc.*) grupo A (Tabla 8) y el otro grupo con una *Pseudomona aeruginosa* (*Pa*) grupo

B (Tabla 9), para someterlos a la acción del óxido de etileno en un tiempo variable de 60, 90 y 120 minutos. El resultado mostrado en las Tablas 8 y 9 demuestra que todos los grupos se esterilizaron en el mínimo de tiempo, 60 minutos.

Por otra parte el estudio histológico comparativo entre la piel porcina esterilizada mediante irradiación o con el empleo del gas óxido de etileno, (Ver la tabla 10) en la variable principal referida a la cohesión entre las células epidérmicas de las capas cornea y cuerpo mucoso de Malpiggio, no se evidenció cambio alguno entre los dos grupos.

Los cambios en la variable **Modificaciones en el citoplasma** no pueden adjudicarse al método de esterilización puesto que el grupo A, que no se esterilizó, también se afectó lo que demuestra que esas modificaciones ya existían antes de someterse a los métodos empleados de esterilización.

Las otras 4 variables estudiadas mostraron igual resultado para los dos métodos de esterilización, esto es aplicable a las diferencias de tiempos de exposición al gas óxido de etileno.

En cuanto al aporte Social y Valoración Económica no tengo dudas de que los resultados son satisfactorios a favor de gas óxido de etileno pero el calculo económico que hicimos adolece de insuficiencias al no tener en cuenta otros factores que gravitan en los costos de producción: productividad, salarios, gastos de energía, depreciación de instrumental y equipos, por tal motivo no se hace énfasis en este resultado.

4.2.- Características del óxido de etileno: (50)

En esta discusión es necesario hacer referencia a las características ya señaladas del óxido de etileno, independientemente que se trate de una investigación *IN VITRO*, pero ella no tendría sentido sí el fin no fuera el empleo del gas óxido de etileno en la practica clínica.

El uso del OtE es muy cuestionado debido principalmente a la toxicidad que presenta, habiéndose propuesto algunos sistemas alternativos como el plasma gas de peróxido de hidrógeno, el ácido paracético o la mezcla de Vapor a 60° con formol al 2%. Aunque no puedan considerarse sustitutos al 100% del óxido de etileno (51, 52).

Una premisa para el empleo del óxido de etileno para esterilizar dispositivos médicos que no soportan las altas temperatura o son “reciclados” es garantizar que la tasa de residuos no sobrepase las cifras permisibles.

Algunos trabajos realizados en Cuba se refieren al tema.

En Cuba se han realizado numerosos trabajos relacionados con el óxido de etileno como agente esterilizante (61).

La Lic. Roxana Hidalgo y colaboradores realizaron una investigación muy interesante en el Hospital William Soler sobre las sondas y catéteres reciclables, esterilizadas con OtE, midiendo los residuales del gas mediante espectrofotometría demostrando que en todos los casos los niveles de residuales estaban por debajo de las tasas permisibles.(61) Ese mismo grupo de investigadores presentó un año más tarde su experiencia de trabajo en el V Congreso de la Sociedad Cubana de Bioingeniería en junio 10 al 13 de 2003 en la Habana.(62). Se comprende así que nuestros investigadores no han podido estar ajenos a acontecer científico relacionado con el tema de esta tesis. (63, 64, 65,66)

Los conocimientos actuales de la cadena epidemiológica de las infecciones y, principalmente, de sus mecanismos de transmisión, nos indican la necesidad de implantar en todo el ámbito asistencial (intra y extrahospitalario) unas prácticas de asepsia y antisepsia imprescindibles así como de limpieza, desinfección y esterilización de todos los instrumentos e implantes que tendrán contacto con el paciente. En el 2do. Congreso panamericano de esterilización, en noviembre del 2002, en Lima Perú, se hizo mucho énfasis en la importancia de disminuir la carga

bacteriana de los objetos a esterilizar mediante una exhaustiva limpieza y desinfección antes de proceder a la esterilización (51).

La ebullición, las autoclaves a vapor y las estufas siguen cumpliendo un papel importante en el arsenal de la esterilización médica que emplean temperaturas altas. Los materiales sensibles al calor requieren de otros métodos químicos, como el ácido fénico, iniciador de la era de la antisepsia, el ácido cianhídrico, el óxido de etileno, la clorhexidina, los derivados mercuriales, los derivados del yodo (povidona yodada) el plasma de peróxido de hidrógeno, el plasma de formaldehído, así como de agentes físicos como el acelerador de partículas y las radiaciones ionizantes (beta y gamma)

Las radiaciones (Rayos X, rayos gamma y rayos beta) exigen instalaciones muy costosas y por su mismo poder energético, pueden dar lugar en algunas ocasiones a resultados indeseables tales como la aparición de radicales libres, cambio de coloración, interacciones y respuesta lenta a la osteoinducción del crecimiento óseo. (34, 54).

En el reciente 5to. Congreso Mundial de Bancos de Tejidos (2008) Arjmand y colaboradores, de la Universidad de Terán informaron los resultados de una investigación experimental comparando los efectos de la esterilización de tejido óseo con radiaciones gamma y gas óxido de etileno en la capacidad osteoinductora, demostrando una diferencia significativa a favor de OtE (55).

En el caso de los Plasmas de peróxido de hidrógeno y de formaldehído así como los agentes físicos como el acelerador de partículas además de ser muy costosos no tienen gran poder de penetración.

Sin embargo la discusión debe centrarse en el OtE en su utilidad para el empleo en la práctica médica toda vez su empleo está precedido de prejuicios por señalársele algunas desventajas que obligan a evaluar el “*costo- beneficio*”, en aquellos implantes médicos permanentes, como se ha visto en sus características.

Como vimos en el Capítulo 1, página 27, en el acápite “Características del gas óxido de etileno”. El OtE se degrada rápidamente cuando es liberado al medio ambiente, siempre que se realice mezclado con agua.

La porción de gas que permanece en el agua será degradada por bacterias, o por reacciones con agua y otras sustancias químicas. Es muy soluble en sangre; es rápidamente absorbido por vía inhalatoria, ya que es un gas a temperatura ambiente.

Otra vía menos importante es la cutánea. Se distribuye en el organismo con gran celeridad, siendo su vida media de 9 a 10 minutos. Se excreta principalmente por la orina.

Otro de los empleos del OtE en los dispositivos médicos llamados “desechable” que son profusamente recuperados mediante limpieza y esterilización (57). Desde finales de la década de los 50, se hizo evidente la necesidad de emplear un método de esterilización para los materiales termosensibles, no solo que fuera seguro sino económicamente asequible en comparación con la irradiación gamma, ya puesta a punto para esos años. Así surgen las cámaras de esterilización mediante el gas OtE, las cuales se comenzaron a emplear profusamente en una variada gama de productos, cuyos fabricantes catalogaban de “descartables” , Existe numerosas normas internacionales que regulan y establecen los procedimientos necesarios para la recuperación de los llamados “descartables”.(59, 60).

Su empleo como agente esterilizante del material médico-quirúrgico, sobre todo el termo sensible, que no puede ser sometido a temperatura elevada; en la industria. y los centros de atención sanitaria, siendo este último uso, a penas el 1%, poco importante desde el punto de vista cuantitativo sobre el total de su empleo , pero es el que más interesa a esta discusión (37).

La novedad científica de esta tesis Doctoral está dada porque todos los trabajos publicados en Cuba se refieren a dispositivos médicos y no a tejidos biológico, como es el caso del tejido óseo esponjoso y la piel porcina empleada como apósito biológico. Los trabajos sobre el empleo

del gas óxido de etileno están avalados por numerosas publicaciones internacionales, tanto de organismos oficiales como instituciones científicas. (67, 68, 69, 70, 71)

Como se vio Cap. 1, pagina 24; los efectos sobre la salud más importantes son la toxicidad, cancerígenos, Mutagénicos y teratogénicos que debemos revisarlos aquí aunque sea someramente, por las razones apuntadas en el acápite 4.2.

El gas óxido de etileno o sus metabolitos son tóxicos para el hombre. Fuertemente irritante local, aguda y subaguda, con un periodo de latencia de unas horas para los ojos y la piel. En los ojos, las lesiones pueden ser irreversibles y a grandes concentraciones puede producir cataratas.

La exposición por inhalación puede provocar:

- Irritación de vías respiratorias: disnea, cianosis, incluso edema pulmonar.
- Trastornos en el aparato digestivo: náuseas, vómitos y diarreas.
- Trastornos neurológicos: cefaleas, somnolencia, incoordinación.

Exposiciones repetidas pueden producir dermatosis alérgicas, siendo éstas poco frecuentes, también pueden dar reacciones de sensibilización. A concentraciones moderadamente altas se han descrito casos de polineuritis sensitivo-motoras y alteraciones del sistema neurovegetativo.

Estudios en animales de experimentación, indican que además de irritación de las vías respiratorias, efectos al sistema nervioso y al sistema reproductivo, la exposición de larga duración al óxido de etileno, también puede afectar los riñones, las glándulas adrenales y los músculos esqueléticos.

Los efectos nocivos más cuestionados del OtE son los cancerígenos, mutagénicos y teratogénicos. (38, 40).

En estudios experimentales sobre ratas y ratones, el OtE ha mostrado una gran capacidad de inducción de un amplio número de tumores en diversas

localizaciones, tumores de estómago, pulmón/bronquio, útero, mama, linfomas, leucemias, tumores del SNC, mesoteliomas, sarcomas, etc.

Los estudios en estos mismos animales, así como en el conejo, no muestran tanta concordancia en cuanto a sus efectos teratogénicos, aunque éstos se han observado en condiciones muy extremas (altísimas concentraciones ambientales en el momento de la fecundación, inyección intravenosa de OtE).

Hoy en día se considera que existe una evidencia suficiente para considerar el OtE como cancerígeno en humanos, siendo incluidos, hasta el momento, en el grupo 1 de la International Agency for Research on Cancer (IARC), clasificación de 1998.

La revisión de la literatura (39) demuestra que son las personas en contacto directo y prolongado las que están en riesgo. Los estudios epidemiológicos realizados sobre personal profesionalmente expuesto al OtE, incluyendo personal de las centrales de esterilización de los hospitales y personal de industrias químicas con exposición profesional, encuentran una asociación entre la exposición a OtE y los tumores de origen linfoide y hematopoyético, fundamentalmente con la leucemia linfoide y los linfomas no Hodgkin, y en algunos de estos estudios encuentran además una asociación con el cáncer de estómago (50).

El óxido de etileno es una sustancia que puede considerarse mutagénica para el hombre, definida en España por el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene del Trabajo (INSHT) como M2, pues al ser un agente alquilante:

- Induce un incremento en la frecuencia de aberraciones cromosómicas, relacionado con la dosis recibida.
- Posee una elevada capacidad mutagénica
- Diversos estudios epidemiológicos han observado una asociación entre la exposición profesional a OtE y el riesgo de aborto.

La American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH)

de EEUU establece un valor Threshold Limit Values/Time-Weighted Average (TLV-TWA) de 1 ppm (1,8 mg/m³), como concentración promedio permitida para 8 horas/día y 40 horas semanales.

— La OSHA (Occupational Safety & Health Administration) de EEUU recomienda un límite de exposición inferior a 0,1 ppm para 8 horas diarias de exposición .

— Las normas GOST de Rusia establecen como valor permitido en ambientes laborales 0,5 ppm para 8 horas /día.

— La mayoría de los países europeos como Francia, Alemania, Italia, Gran Bretaña, Dinamarca, Suecia... disponen de un límite de exposición laboral para 8 horas/día, comprendido entre 1 y 5 ppm. Este mismo valor es considerado por la Occupational Safety and Health Administration (OSHA) pero ampliando el tiempo de exposición.

A todo ello se debe de tener en cuenta en esta evaluación el OtE endógeno, producido por el propio organismo a partir del etileno; en su producción influyen Muchos factores como son: los hereditarios, las dietas pobres en selenio y ricas en grasas saturadas, la composición de la flora intestinal.

La esterilización con gas óxido de etileno (OtE) se emplea en muchas partes del mundo, al igual que en nuestro país, para aquellos materiales y productos que no toleran el empleo de altas temperaturas. Al principio se empleó como agente fumigante pero ya en la década de los años cuarenta se comenzó a emplear para esterilizar implementos médicos como sondas, catéteres, marcapasos implantables, suturas etc. Con el desarrollo de la industria petroquímica aparecieron nuevos productos que no soportaban las altas temperaturas y que además eran muy costosos y era necesario recuperarlos; surge así la era de los “descartables”, catéteres intracardíacos y jeringuillas que obligó a generalizar su empleo.

En Cuba se publicó un estudio estableciendo los límites de exposición a 290 sustancias tóxicas donde aparece el concepto “*Concentración promedio admisible*” partiendo de las normas cubanas *NC 19-01-02* y *NC 19-01-03*. (58)

Aunque no es de interés fundamental para los fines de esta tesis, que solo se refiere a los pacientes que recibirán apósitos biológico de piel o implantes permanentes de hueso, se considera como personal con riesgo de exposición profesional a aquellas personas que trabajan en puestos con riesgo de exposición lo cual no se incluye como personal expuesto profesionalmente a aquellas personas que, de forma temporal y durante menos de 2 meses, desempeñen puestos de trabajo con riesgo de exposición.

El cuadro siguiente de Standards of the American Red Cross Tissue Services (Normas de Servicios de Tejidos de la Cruz Roja Norteamericana, 6ta. Edición, 1994), muestra las partes por millón tolerables para el OtE y sus metabolitos.

| Dispositivos Médicos para implante | Partes por Millón | | |
|------------------------------------|-------------------|-------------------------|--------------|
| | Oxido de etileno | Clorhidrinas de etileno | Etilenglicol |
| Pequeño (<10 gramos) | 250 | 250 | 5000 |
| Mediano (>10 -100 gramos) | 100 | 100 | 2000 |
| Grande (>100 gramos) | 25 | 25 | 500 |

En los Estados Unidos de Norteamérica y en los Países de Europa se ha empleado ampliamente el gas óxido de etileno (OtE) durante muchos años

para esterilizar dispositivos médicos y tejidos implantables bajo la atenta vigilancia y normas establecidas por organismos internacionales, para su empleo clínico. Países sumamente ricos como los estados Unidos de Norteamérica, que cuentan con numerosos bancos de tejidos, emplearon durante muchos años la esterilización de los tejidos biológico con OtE, además de emplear las radiaciones ionizantes (72, 73).

En Cuba se emplea el gas OtE desde hace más de 50 años en instituciones de salud y laboratorios farmacéuticos. Las nuevas tecnologías aplicadas en las autoclaves de óxido de etileno hacen su empleo muy seguro para los trabajadores de las centrales de esterilización. Quiero enfatizar que los autoclave de OtE utilizan un proceso de eliminar los residuos de gas remanentes en la cámara una vez terminado el proceso de esterilización, mediante lavado con agua destilada durante un tiempo considerado suficiente para eliminar la totalidad del gas remanente y luego son tratados en la cámara de desintoxicación durante 2 horas y luego almacenados en lugares ventilados durante no menos de 3 días

El OtE se ha empleado en cardiología y cirugía cardiovascular para esterilizar dispositivos y catéteres así como para oxigenadores, filtros e implantes de marcapasos cardiacos, parches sintéticos y válvulas mecánicas cardíacas, todos ellos con contacto directo con la sangre de los pacientes. Siendo la cirugía cardiovascular un proceder extremadamente costoso, el cual emplea muchos insumos procedentes del extranjero, mucho de los cuales catalogados por sus fabricantes como descartables, no hubiera sido posible su desarrollo sin la posibilidad de un método de esterilización a baja temperatura, que permitiera la reutilización de muchos de ellos.

La utilización del OtE no está exenta de riesgos, como se ha visto, pero no obstante, de las técnicas de esterilización en frío (utilización de gases o radiaciones) resulta indudablemente el procedimiento más ventajoso, según las conclusiones del 2do. Congreso peruano sobre esterilización.

4.3. Reflexiones sobre las reacciones adversas.

La toxicidad es una reacción adversa a infinidad de sustancias, alimentos, medicamentos etc.; los cuales, no obstante, se emplean diariamente con y sin conocimiento de causa, en la vida diaria. En Cuba se emplea el OtE desde hace 50 años para esterilizar materiales y equipos termolábiles. Desde que en el año 1949, internacionalmente se comenzó a emplear, se cuestionaron sus ventajas y desventajas. Se realizaron numerosas investigaciones para demostrar su toxicidad, tanto en la industria como en las centrales de esterilización de los hospitales.

Algo parecido sucede con las sustancias cancerígenas, de las cuales existen miles de ellas, que forman parte del medio ambiente que rodea al hombre. Trabajos experimentales en ratas y ratones, a los que se les hizo respirar en ambientes con tasas de OtE superiores al mínimo establecido, durante un tiempo prolongado, evidenciaron una incidencia alta de leucemias, tumores de cerebro, pulmón estomago etc. Estas evidencias confirman la necesidad de una vigilancia estrecha en todas aquellas personas expuestas de ser afectadas.

En Cuba la legislación y disposiciones normativas son abundantes (43, 46-58), y en consecuencia con las normas internacionales. Para abordar este trabajo de investigación sobre el gas óxido de etileno, no solo tuvimos en cuenta la necesidad de encontrar un método de esterilización a baja temperatura, sino preservar la salud de los futuros pacientes necesitados de nuestra producción. Ya vimos como este tema se ha abordado en nuestra literatura científica.

Aunque la expresión de la cantidad de residuales del gas OtE la expresa en términos del tiempo diario de exposición en miligramos del gas (mg OtE/día), a diferencia de partes por millón (ppm) a igual conclusión llegó la Lic. Vivian Castellanos y col. del centro de control estatal de equipos médicos después de una investigación en el Hospital Pediátrico William

Soler, en el que examinaron los residuales de OtE en sondas Foley y de aspiración, esterilizadas y reesterilizadas con ese proceder (58).

En cuanto al poder teratogénico, estudios en animales, no fueron tan concordantes, aunque estos se han observado cuando se emplea en condiciones muy extremas (altísimas concentraciones ambientales en el momento de la fecundación). Por todo ello se considera que existen evidencias suficientes para considerar el OtE como cancerígeno en humanos, y como consecuencia incluido en el grupo 1 de International Agency for Research on Cancer (IART) en su clasificación de 1998. Como se puede apreciar los estudios de riesgos de ser afectados por el OtE se limitan a los trabajadores expuestos en la industria y centrales de esterilización. (59)

Por otra parte, los implantes de tejido óseo de banco que se someten a la liofilización, necesariamente deben ser sometidos al lavado y rehidratación previa a su implantación en el salón de operaciones, lo cual coadyuva a la eliminación aún más si lo hubiera, de los vestigios de OtE remanente.

En el caso de la piel porcina empleada como apósito biológico además de ser sometida al mismo proceso antes de su aplicación, es decir a la rehidratación, no se trata de un implante permanente, por lo que tiene mucho menor riesgo de provocar reacciones adversas.

En el 2do congreso panamericano de esterilización celebrado en Perú (61), se debatió ampliamente sobre el tema, en la mayoría de los aspectos. Hubo participación de muchos Países de toda América, destacándose la del profesor William Rutala (ya citado) de Estados Unidos de Norte América. En el tema de la esterilización a baja temperatura se llegó a la conclusión que hasta ese momento, ningún método superaba el procedimiento químico con OtE. Ese fue también el consenso en la Mesa Redonda: "Esterilización a baja temperatura"; Donde fueron analizados los métodos como plasma de hidrogeno, formaldehído y óxido de etileno.

Estudios llevados a cabo sobre la toxicidad del OtE y su repercusión en el uso como agente esterilizante han influenciado para incorporar en los

autoclaves características de seguridad encaminadas a reducir la cantidad de OtE ambiental, así como el desarrollo e implantación de protocolos o procedimientos de trabajo, que permiten reducir la cantidad de OtE o sus metabolitos presentes en los materiales esterilizados a niveles mínimos y aceptados por los organismos internacionales.

Se conocen los niveles de residuos del gas o sus metabolitos que el organismo puede asimilar sin riesgos de sufrir de las reacciones adversas. Las medidas de seguridad para su empleo están bien establecidas así como los requisitos que deben cumplir los locales y autoclaves a gas OtE industriales para su empleo con un grado de seguridad razonable.

De manera general la primera medida preventiva frente a la posible exposición al OtE es reducir al máximo su uso. En consecuencia, solo se esterilizarán con óxido de etileno aquellos materiales que no sean capaces de resistir más de 115 °C, temperatura mínima a la que se efectúa la esterilización por la autoclave al vapor.

El acelerador de partículas, es un método de irradiación pero con poco poder de penetración e instalaciones costosas. Los plasmas de hidrógeno y de formaldehído no logran penetrar las luces de los instrumentos o catéteres muy finos. El formaldehído es también tóxico.

Recientemente, Hidalgo R. y col. (62) presentaron su experiencia comparando un esterilizador modelo 130 LF marca Matachana de fabricación española, con el esterilizador Sakura ®, semejante al que se emplea por el banco de tejido ORTOP, utilizado por el autor de esta tesis. Según los resultados, no encontraron diferencia en el potencial esterilizante de ambos equipos.

En la amplia revisión bibliográfica realizada sólo hemos encontrado informes sobre los efectos nocivos en los trabajadores de las centrales de esterilización y de la industria que emplean el gas óxido de etileno y están expuestos durante tiempo prolongados de meses o años. No encontramos en la literatura informes de efectos nocivos en pacientes que recibieran implantes de dispositivos esterilizados con OtE, como por ejemplo un

parche intracardíaco empleado para reparar un defecto congénito o adquirido; o que hubieran tenido contacto transitorio con un dispositivo médico como un catéter o una sonda vesical. Los informes de efectos nocivos se refieren a los trabajadores a los que nos referíamos en párrafos anteriores o a trabajos experimentales, donde los animales de experimentación son sometidos a pruebas de implantación o inhalación del gas que sobrepasan los límites aceptados internacionalmente.

En nuestra investigación lo más apropiado hubiera sido emplear el método espectro fotométrico pero no tuvimos esa posibilidad a pesar de intentado en varias instituciones en nuestro país. Nuestros resultados solo demuestran que los tejidos biológicos se esterilizan con el gas óxido de etileno pero no nos dicen de la cantidad de residuales que permanecen en los tejidos biológicos, condición indispensable para generalizar los resultados.

CONCLUSIONES

- 1.- El método empleado de contaminación de tejido óseo esponjoso y piel porcina con un germen conocido es efectivo en el 100% de las muestras contaminadas.
- 2.- El estudio estadístico demuestra que el gas OtE esteriliza el tejido óseo esponjoso es un agente efectivo para esterilizar el tejido óseo, aunque el tiempo más seguro y efectivo es de 2 horas.
- 3.- La piel porcina contaminada con un germen conocido, se esteriliza con el gas óxido de etileno en un tiempo mínimo de 60 minutos, en todos los casos.
- 4.- No se establecen cambios histológicos significativos en la piel porcina esterilizada con gas óxido de etileno al compararla con la irradiada con Cobalto 60.
- 5.- Queda demostrado que el empleo del gas OtE como esterilizante es más económico que el empleo de las radiaciones gamma; y proporciona al banco de tejidos ORTOP una autonomía en el procesamiento del tejido óseo esponjoso y la piel porcina, en los cuales es empleada.

RECOMENDACIONES

Estos resultados demuestran la necesidad de un ensayo preclínico en el laboratorio que demuestre que la piel porcina esterilizada con óxido de etileno no es irritante ni tóxica cuando se emplea el método utilizado en esta investigación. Esta recomendación es válida para el implante de tejido óseo sin manifestaciones de rechazo o toxicidad si se ejecutan siguiendo las buenas prácticas de laboratorio normadas y la técnica empleada en nuestra investigación.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.

1. Woodward, L,T. Les Grandes Etapes de la Chirurgie. Ed. Denoél, París 1964.
- 2- Burwell, R, G,: Injertos óseos, derivados y sustitutos. Ed. MR Urist, BT O'Connor, RG Burwell. Butterworth / Heimann, 1994.
3. Bado JL. Historia de la Ortopedia. Disponible URL:
4. Morris, J. Peter: Tissue Transplantation. Churchill / Livingstone, 1982.
5. Urist M R. eds. Bone Transplantation. In Fundamental and Clinical bone Physiology. Philadelphia. Lippincott, 1980.
6. Paranen, J. Reorganisation of fresh and preserved bone transplants Acta orthopaedica Scandinavia, Supplementum 92. 1966.
7. Campbell, W : Cirugía Ortopédica. ISBN Obras Completas 0-8152-2087-7.
8. Álvarez Cambras, R. Historia de la Cirugía Ortopédica y Traumatología En Álvarez Cambras, R. Tratado de Ortopedia y Traumatología. T1 La Habana. Ed. Pueblo y Educación. 1985
9. Inclán A: The use of preserved bone graft in orthopaedic Surgery. J.Bone and Joint Surg. 24 A: 81, 1942.
10. Langer F, Gross A C; Creaves H F: The autoimmunogenecity of reticular cartilage. Clin. Esp. Inm. 12: 3, 1972.

11. Friedlaender, G.E; Strong M; Tomford W W and Mankin H J: Long term follow up of patients with osteochondral allografts. A correlation between immunologic responses and clinical outcome. Orthopedic Clin. North Am. 30 (H): 583-588, 1999
12. DIZG, G; German Institute for Cell and Tissue Replacement: Quality Management Manual. Advances in Tissue Banking. Vol. 4 (2000).
13. General Standards for Tissue Banking. European Association of Tissue Banking. European Association of Musculo Skeletal Transplantation 1997
14. General Standards for Tissue Banking. American Association of Tissue Banks. 1994.
15. Resolución Ministerial del MINSAP aprobando la Norma Cubana para los Bancos de Tejidos. Resolución 23/03 del 5 de Marzo del 2003.
- 16- Dexter, F. and Beaumont, P.C. "Processing of Human Tissue Grafts ". Clwyd Research Tissue Bank, Clwyd, Wales, UK. 1986.
- 17- Bpychev B; Andreeff IV R, Metchkarskist M; Trasplantes Óseos Ed. Ac. Bulg. Ciencias. 1970.
18. Friedlaender,G.E, Current concepts review, bone grafts the basic Science rationale for clinical applications: Journal of Bone and Joint Surg. 69, 786. 1987.

19. Urist, M.R & McLean, F.C. (1952) Osteogenic potency and new bone formation by induction in transplants to anterior chamber of the eye. *Journal of Bone and Joint Surgery* 34-A, 443. Urist M R. Bone morphogenetic protein, bone regulation, heterotopy
20. Urist M R. Bone morphogenetic protein, bone regulation, heterotopy ossification and bone marrow consortium. *Bone and Mineral Research*. 6, 57. 1989
21. Syme, J. *Treatise on Excision of Diseased Joints*. Ed. By W. Turner
Edinburgh: A.C. Black. (1831). Melbourne. Liingstone Inc. 1990.
- 22.-. MacEwen, W. *The Growth of bone. Observations on Osteogenesis. An Experimental Inquiry into the Development and Reproduction of Diaphyseal bone*. Glasgow : James Maclehose & Sons. 1912.
- 23.- Ollier, L. *Traité Experimental et clinique de la Régénération des os et la production Artificielle de Tissus osseux*. Paris: Mason et Fils. 1867.
- 24.- Dexter, F; and Beaumont, P.C. *Processing of Human Tissue Grafts*. Clwyd Research Tissue Bank. Clwyd, Wales. UK. 1986.
25. Bonfiglioli M : *Repair of Bone Transplant Fractures*. *J. Bone Joint Surg.* 24A : 446, 1958.
- 26- Czerny A A, Gross A E eds. *Allograft in Orthopedic Practice*. Baltimore. Ed. Williams and Wilkins 1980.

27. Petrov. R. V. Una conversación sobre la nueva inmunología.
Trasplante de órganos. Pag. 145 – 156. Ed. Mir. Moscú. 1978
28. Phillips G. O; Osteochondral Allografts. Biology, Banking and
Clinical Applications . The Lancet 338, 1991.
29. Watson-Jonnes, R. Fracturas y Heridas articulares. Cap 16
Pp 417-440. Trasplante de Hueso. Ed. Revolución,1980.
- 30.-Microsoft® Encarta® 2008. 1993-2007, Microsoft Corporation.
31. García, P; Recomendaciones para el estudio Microbiológico de
tejidos preservados para Implantes. Rev Chil Infect 2004, 21 (2)
102-116
32. Widmer, AF; Frei, R Decontamination, disinfection, and sterilization
in P Murray (ed) Manual of Clinical Microbiology. 2003.
- 33.- Acosta-Gnass, SI; Estemlink, V: Manual de Esterilización para
Centros de Salud. Organización Mundial de la Salud. 2008.
Monografía p 92-98.
- 34 – efecto de la radiación gamma sobre algunos injertos utilizados en ...
esterilizar los tejidos
www.quimicanuclear.org/pdf.../pdf.../Daniel%20Luna.pdf – de DL Zaragoza.

35. Ethylene Oxide Sterilisation Safety Guide de la MEDISPA del Reino Unido, Monitor. Diciembre 1979, No. 79, Pag. 2-16.
36. Study Report of toxicity of ethylene oxide, ethilene glycol and ethilene glycol. Research Corporation. Heath Industries Asociation. Washington DC (1971)
37. Aragón Peña, A; González García M.I: Protocolo de Vigilancia Sanitaria Específica Óxido de Etileno. Editor: Ministerio de Sanidad y Consumo. Galicia .España. 11/11/03.
38. WHO international Agency for Research on Cancer (IARC) Monographs on the evaluative of carcinogenic risks chemicals to men. Vol II. (1976)
39. Gracia Rosell Farás y Paz Arias Castaño, Óxido de Etileno: Prevención de Exposición en Hospitales. Hospital Clínica Provincia de Barcelona. Fuente: Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el trabajo. España.
40. WHO international Agency for Research on Cancer (IARC) Monographs on the evaluative of carcinogenic risks chemicals to men. Vol II. (1976)
- 41, Instituto Nacional de Seguridad e Higiene del Trabajo. Evaluación y Control de Contaminantes Químicos en Hospitales. La Habana MINSAP 1989.

42. Hernández Sampier, R. Metodología de la Investigación. 2 tomos.
Cap 10 p343. Ed. Félix Varela t1 2003, t2 2004.
43. Guía para la salud y seguridad. No. 16 Óxido de Etileno. La Habana : OMS, 1993.
44. Ramos DBN. El Control de la Calidad de la Atención de Salud. La Habana Ed. Ciencias Médicas. 2004.
45. OPS Contaminación Ambiental en Centros Sanitarios.
Rev Centro Salud 1996 ; 4(7) : 465 -72.
46. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene del Trabajo. Evaluación y Control de Contaminantes Químicos en Hospitales. La Habana MINSAP. 1989.
- 47- Paneque, R. Metodología de la Investigación.
Elementos básicos para la investigación Clínica. Biblioteca Virtual en Salud. Infomed.
- 48- Principios de la Ética. La Habana: Editora Política 1983.
- 49- Código de Ética de los Trabajadores Profesionales de la Ciencia: Academia de Ciencias de Cuba; 1995.
50. Tarragano R, Cerdá. N, López, O., Valdés I.; Esterilización con Oxido de Etileno. Bol. AAM 163. 2004.
51. Conclusiones II Congreso Panamericano de Esterilización.13 – 15 noviembre. 2002.

52. O'Leary, .K. Watkins, E.D. Guess, W.L. "Toxicological Studies on certain Medical grade plastics sterilized by ethylene oxide" J. Ph. Sci. 57, 12,1968
- 53- Agency for Toxic Substances and Diseases Registry. (ATSDR) 12/09/08
54. Arjmand,B, Reza Aghayan, , Celestani, M, and Tirgari F. Effect of Gamma Irradiation the Osteoinductivity of Demineralized Allograft Bone Powder. Universidad de Teran Iran, Memorias del 5to. Congreso Mundial de Bancos de Tejidos. 2-6 de junio 2008. Kuala Lumpur. Malasia.
55. Reza Aghayan, Arjmand,B, Celestani, M, and Tirgari F. Effect of ethylene Oxide Sterilization on the Osteoinductivity of Demineralized Allograft Bone Powder. Universidad de Teran, Iran, Memorias del 5to. Congreso Mundial de Bancos de Tejidos. 2-6 de junio 2008. Kuala Lumpur Malacia
56. NIOSH Alert Preventing Worker injuries and death from explosions in industrial EtO sterilization facilities 2003 www.edc.gov/niosh/.
57. Hogstedt, C Malmquest, N; Wadman, B.- Leukemia in workers exposed to Ethilene Oxide. JAMA 241 (11), !!·"-!!·· (1979)
58. Fernández de la Vega. Implementación de límites de exposición

- ocupacional a sustancias nocivas en Cuba, Situación actual y perspectivas. Versión On Line Rev. Cubana Hig. Epidemiol v. 34 no.2. 2003.
59. United States Food and Drug Administration. Compliance Policy Guide. Re-use of medical disposable devices, 7124.6 Washington DC. FDA 24 Sept 1987..
60. Rhodes, Matthew W. BS. Perspectives on Reprocessing of Single-use Devices. Journal of Clinical Engineering. Vol 33- Issue 4-pp 197-199, October- December. 2008.
61. Hidalgo Rodríguez, R; Lic. Castellanos Fernández V; Tec. Chiroles Despaigne S ; y Tec. Villavicencio Betancourt, O. Dispositivos médicos de uso único reprocesados por esterilización química mediante Oxido de Etileno. Rev Cubana Epidemiol; 40(2): 89 – 94. 2002
62. Castellanos Fernández , V; Rios Hernández, M; Chiroles Despaigne, S; Villavicencio Betancourt, O; Hidalgo Rodríguez, R. Residuales de la esterilización con gas Óxido de Etileno en equipos médicos. Memorias V Congreso de la Sociedad Cubana de Bioingeniería. Junio 10 al 13 de 2003. Habana 2003,
63. Memoria VII Congreso Sociedad Cubana de Bioingeniería: Compuestos Heterocíclicos. La Habana 2007.

64. Jacas, M, Tejido óseo y Apósito Biológico Esterilizados con gas Óxido de Etileno. VII Jornada de Investigaciones Terminadas y Proyectos. Facultad Finlay-Albarrán. Trabajo Relevante. La Habana,7 de junio 2012.
65. Hidalgo Rodrigues, R; Chiroles Despaigne, S; Villavicencio Betancourt, O: Evaluación cuantitativa de la eficacia de un esterilizador químico que emplea Formaldehído al 2% en fase de vapor a bajas temperaturas. Rev Cubana de Invest Biomed. V25 n1. Ciudad de la Habana. Ene-mar, 2006.
66. Hospital Pediátrico William Soler v Actualizar las Políticas de Desinfección, **Esterilización** y Antisepsia limpieza y **esterilización** de **tejido** óseo existentes en **bancos de tejido** óseo. www.sld.cu/sitios/williamsoler/temas.php?idv...
67. FDA. Center for Drug Evaluation and Research. Guide to inspection of Dosage_spanish.htm.12/09/08.
68. Ihoest, W- L'oxide d'éthilene agend moderne de terilization. J. harm. Belg. 32 (5), 480-494 (1977).
69. Rendell Baker, Roberts, R:B. Safe use of ethylene oxide terilization in hospitals. Anesth. Analg. (Clev.), 49, 919-921 (1970)
70. General Standards for Tissue Banking European Association on Tissue Banks. Viena,Austria Julio 2001
71. Rutala, WA; Wether, DJ. New disinfection and sterilization methods.

Energin Inf Dis 7 (2) 348- 353. 2001.

72. Central Florida Tissue Bank Inc. 32 W. Gore Street. Orlando.

Florida.

73. Pacific COSAT Tissue Bank Processing. 2500-19 South Flower

Street. Los Angeles.CA90007.

ANEXOS Y FIGURAS

Anexo 1

Definiciones:

La limpieza (eliminación física, por arrastre, de materia orgánica de los objetos) de forma cuidadosa.

La desinfección consiste en la eliminación de gérmenes, destinada a impedir la transmisión de ciertos microorganismos, alterando su estructura o su metabolismo, independientemente de su estado fisiológico.


La esterilización consiste en la destrucción o eliminación de cualquier tipo de vida microbiana de los objetos inanimados, incluyendo las formas esporuladas de hongos y bacterias. Significa el nivel más alto como biocida.

Anexo 2

En la tabla siguiente se indican los niveles máximos de residuales de óxido de etileno en dispositivos médicos aconsejados tolerables por *la Food and Drug Administration*

| DISPOSITIVOS | ppm |
|--|-----|
| Implantes: | |
| • Pequeños (< 10 gramos) | 250 |
| • Medianos (10 – 100 gramos) | 100 |
| • Grandes (> 100 gramos) | 25 |
| Dispositivos intrauterinos | 5 |
| Lentes intraoculares | 25 |
| Dispositivos en contacto con mucosas | 250 |
| Dispositivos en contacto con la sangre | 25 |
| Dispositivos en contacto con la piel | 250 |
| Esponjas de cirugía | 25 |

Anexo 3

| | | | |
|--|---|---|--|
|  | | <h1>Certificate</h1> | |
| A Member of The Linde Group | | | |
| Technical and other enquiries: The Priestley Centre, 10 Priestley Road The Surrey Research Park Guildford GU2 7XY, UK Tel: 01483 244067 Fax: 01483 532115 | UK gas and equipment orders: Tel: 0800 02 0800 Fax: 0800 136 601 | Export gas and equipment orders: Tel: +44 1483 244067 Fax: +44 1483 532115 | |

Certificate of Conformity to specification

Product **20% ETHYLENE OXIDE /
balance 80% CARBON DIOXIDE**

Component (1) Ethylene Oxide (C₂H₄O)

BOC Specification :

Purity: **99.9% minimum (weight/weight)**

Impurities: (maximum)

| | |
|--------------------------------|----------------|
| Aldehydes (as acetaldehyde) | 30 ppm(wt/wt) |
| Water | 0.05% (wt/wt) |
| Acidity (as acetic acid) | 0.005% (wt/wt) |

General:

| | |
|----------------|---------------|
| Polymer | None detected |
| Appearance | Clear |
| Colour (Hazen) | 10 (max) |
| Residue | 0.01% (max) |

Component (2) Carbon Dioxide (CO₂)

BOC Specification :

Purity: **99.8% minimum (weight/weight)**

Impurities: (maximum)

| | |
|----------------|---------|
| Residual gases | 100 vpm |
| Moisture | 10 vpm |
| Oil | 2 vpm |
| hydrocarbons | 10 vpm |
| Total sulphur | 0.5 vpm |

Carbon Dioxide to meet the requirements of the European Pharmacopoeia 197

Anexo 4

Materiales que nunca deben esterilizarse con óxido de etileno

Materiales que nunca deben esterilizarse con óxido de etileno.

Fuente: Instituto de Seguridad e Higiene en el Trabajo. España.

- Líquidos, gases, o productos sólidos que puedan cambiar su composición química por acción del OtE.
- Material plástico impregnados en agua, lubricantes u otras sustancias Químicas.
- Materiales muy absorbentes (textiles, celulosas).
- Materiales envueltos con gasa u otros textiles.
- Materiales que estén fabricados con Mg, Zn, o Sn ya que se deterioran con el OtE.
- Nylon y papel de aluminio (que tampoco deben utilizarse para envolver o empaquetar otros materiales).
- El metacrilato y caucho porque retienen grandes cantidades de OtE.
- De manera general se recomienda no reesterilizar con OtE materiales de PVC o previamente esterilizados con rayos gamma, por existir riesgo de formación de clorhidrina.

Anexo 5

COMPLEJO CIENTÍFICO ORTOPÉDICO INTERNACIONAL "FRANK PAÍS"
 Banco de Tejidos ORTOP
 Resultados del estudio del Poder esterilizante del Oxido Etileno
 Planilla de Recogida de Datos para Tejido Óseo Esponjoso **4**

COMPLEJO CIENTÍFICO ORTOPÉDICO INTERNACIONAL "FRANK PAÍS"
 Banco de Tejidos ORTOP
 Resultados del estudio del Poder esterilizante del Oxido Etileno
 Planilla de Recogida de Datos para Tejido Óseo Esponjoso **3**

COMPLEJO CIENTÍFICO ORTOPÉDICO INTERNACIONAL "FRANK PAÍS"
 Banco de Tejidos ORTOP
 Resultados del estudio del Poder esterilizante del Oxido Etileno
 Planilla de Recogida de Datos para Tejido Óseo Esponjoso **2**

COMPLEJO CIENTÍFICO ORTOPÉDICO INTERNACIONAL "FRANK PAÍS"
 Banco de Tejidos ORTOP
 Resultados del estudio del Poder esterilizante del Oxido Etileno
 Planilla de Recogida de Datos para Tejido Óseo Esponjoso **1**

Grupo Control sin Oxidoetileno para cultivo

| | Cultivo | Germen | Observaciones |
|-----|----------|--------|---------------|
| A 1 | 10/10/10 | | |
| A 2 | 1 | | |
| A 3 | 1 | | |
| A 4 | 30/10/10 | | |

Legenda
 1,2,3,... Número de muestras
 A - Sin Contaminar
 B - Contaminado con Germen Gram +
 C - Contaminado con Germen Gram - neg

17.03.2013



Figura 1: Equipo de Liofilización

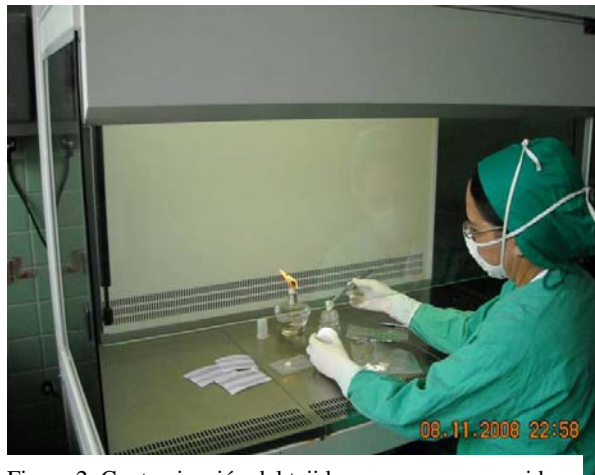


Figura 2: Contaminación del tejido con germen conocido.



Figura 3: Cámara ventiladora, extractora de residuos de gas



Figura 4: Indicador biológico de esterilización.

Figura 5

Epidermis y Dermis superficial de la piel Porcina **irradiada** H/E x 10.
Nótese el desprendimiento de la capa córnea y balonización celular con cambios intracitoplasmáticos (citoplasma granuloso) y nucleares (condensación de la cromatina y cariorexis)

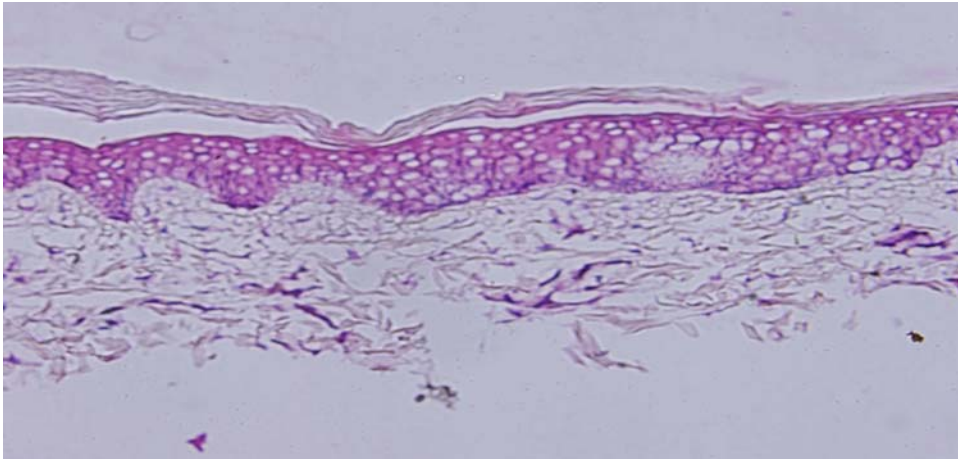


Figura 6.

Epidermis y Dermis superficial de la piel Porcina esterilizada con **EtO**
H/E x 10. *Los cambios celulares comparativamente con la irradiada son similares. Se mantiene los puentes celulares y la cohesión entre las células. La dermis superficial no muestra cambios relevantes*

