

ARTÍCULO ORIGINAL

Apósito biológico esterilizado con gas óxido de etileno

A biological dressing sterilized using ethylene oxide gas

Pansement biologique désinfecté par l'oxyde d'éthylène gazeux

Dr. Manuel Jacas Torné,^I Dr. Eddy Sánchez Noda,^I Dr. Norberto García Mesa,^I Dra. Daisy Piña Ares^I

^I Complejo Científico Ortopédico Internacional "Frank País". La Habana, Cuba.

RESUMEN

Objetivo: se presentó el resultado de una investigación preclínica dirigida a comprobar el poder esterilizante del gas óxido de etileno sobre la piel porcina empleada como apósito biológico.

Métodos: se contaminaron 2 grupos de 60 muestras cada uno, de piel porcina liofilizada con una cepa de estafilococo coagulasa positivo y *Pseudomonas aeruginosa*, respectivamente. El 25 % de las muestras de cada grupo se envió al laboratorio de microbiología para comprobar la efectividad del método de contaminación. El 75 % restante se trató durante diferentes períodos en una cámara de gas óxido de etileno y, posteriormente, se enviaron al laboratorio de microbiología para comprobar el grado de esterilidad.

Resultados: se demostró la alta efectividad del gas óxido de etileno para esterilizar la piel porcina que es empleada como apósito biológico.

Conclusiones: este método es seguro, por lo que es apropiado para el empleo en la clínica médica.

Palabras clave: gas óxido de etileno, tejido biológico, esterilización.

ABSTRACT

Objective: to present the result from a preclinical research aimed to verify the sterilizing power of ethylene oxide gas on the porcine skin used as a biological dressing.

Methods: two groups of 60 samples each of lyophilized porcine skin were contaminated with a strain of positive-coagulase staphylococcus and *Pseudomonas aeruginosa*, respectively. The 25 % of samples of each group was sent to microbiology laboratory to verify the effectiveness of contamination method. The remainder 75 % was treated in different periods in a chamber of ethylene oxide gas and later, was sent to the above laboratory to verify the sterility degree.

Results: it was demonstrated the effectiveness of the ethylene oxide gas to sterilize the porcine skin, which is used as a biological dressing.

Conclusions: this method is safe, therefore it is appropriate to use in the medical clinic.

Key words: ethylene oxide gas, biological tissue, sterilization.

RÉSUMÉ

Objectifs: le résultat d'une recherche pré-clinique visée à confirmer l'effet désinfectant de l'oxyde d'éthylène gazeux sur la peau porcine, utilisée en tant que pansement biologique, est présenté.

Méthodes: deux groupes de 60 échantillons chacun de peau porcine lyophilisée ont été respectivement infectés par une souche de staphylocoagulase positive et de *Pseudomonas aeruginosa*. Afin de vérifier l'effectivité de cette méthode d'infection, 25 % des échantillons de chaque groupe ont été envoyés au laboratoire de microbiologie. Les échantillons restant ont été traités pendant différentes périodes dans une chambre à l'oxyde d'éthylène gazeux, et puis ils ont été envoyés au laboratoire de microbiologie pour confirmer le degré de désinfection.

Résultats: on a démontré que l'oxyde d'éthylène gazeux est hautement efficace pour désinfecter la peau porcine utilisée comme pansement biologique.

Conclusions: on a démontré que cette méthode est sûre, et que son usage est donc approprié dans la clinique médicale.

Mots clés: oxyde d'éthylène gazeux, tissu biologique, désinfection.

INTRODUCCIÓN

El gas óxido de etileno (O₂E) se utiliza ampliamente como materia prima en la síntesis de muchos compuestos orgánicos. Desde 1928 se comenzó a utilizar como agente fumigante e insecticida. En la década de los cuarenta se realizaron estudios como agente esterilizante; en 1949 se comenzó su empleo como gas esterilizante en instrumental médico. En los últimos años se ha generalizado su empleo en esterilizar materiales que no toleran el calor (plástico y elastómero). Es así que se emplea para esterilizar catéteres, jeringuillas desechables, sondas, prótesis valvulares, instrumental endoscópico, industria farmacéutica, y otros.^{1,2}

En Cuba se emplean las radiaciones ionizantes y el gas OtE para esterilizar los materiales termosensibles. Las plantas de irradiación en Cuba se encuentran ubicadas en la capital del país. La gran mayoría de las instituciones hospitalarias emplean para esterilizar el material sensible al calor, el OtE. Su empleo se reduce a la recuperación de material descartable, catéteres y algún otro equipo o dispositivo implantable como marcapasos electrónicos, electrodos, válvulas cardíacas mecánicas y tejidos sintéticos. Su empleo para esterilizar material biológico no está generalizado.³

Las dificultades de disponer en todo momento de las radiaciones ionizantes y constar en la institución de autoclave para OtE, nos estimuló su empleo para comprobar su poder esterilizante sobre la piel porcina que se usa como apósito biológico, lo cual constituye el objetivo de este estudio.

MÉTODOS

Durante la confección y ejecución del protocolo de investigación se tuvieron en cuenta las normas y resoluciones nacionales que regulan esta actividad en el país.⁴⁻⁷

Se prepararan 120 muestras de piel porcina liofilizada, de 15 × 15 mm de superficie, y entre 0,3 y 0,4 mm de espesor, las cuales se dividieron en 2 grupos de 60 muestras cada uno.

El primer grupo (A) de 60 muestras se contaminó con una cepa ya conocida de estafilococo coagulasa positivo (EC) y el segundo grupo (B) de 60 muestras, se contaminó con una cepa de *Pseudomonas aeruginosa*. El proceder se realizó en el banco de tejidos en un gabinete de seguridad biológica. Cada muestra se empaquetó individualmente con doble envoltura, en bolsas especiales para esterilizar con gas OtE, convenientemente roturadas.

El 25 % las muestras del primer grupo (A), 15 muestras, y del segundo grupo (B), 15 muestras, fueron estudiadas en el Laboratorio de Microbiología para confirmar la efectividad del método de contaminación.

Las restantes 45 muestras de cada grupo A y B, se subdividieron en 3 subgrupos de 15 muestras cada uno: A1, A2, A3 y B1, B2, B3; los cuales se sometieron a una esterilización en autoclave de OtE, durante 60, 90 y 120 min, respectivamente.

Para la esterilización se empleó una cámara para OtE Sakura ®. Tokio. El método empleado en la cámara de OtE fue:

- a) La concentración del gas OtE fue de 500 kg/L.
- b) El tiempo de exposición variable entre 60, 90 y 120 min, en correspondencia con el protocolo.
- c) La temperatura de 45 °C.
- d) Humedad relativa de 50 %.

El proceso se dividió en 2 etapas:

1. Preacondicionamiento: se calentó la carga y se suministró la humedad necesaria.
2. Esterilización, con 4 fases:
 - Evacuación de la cámara que produce vacío forzado con una bomba.
 - Introducción del 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 eliminó el gas OtE remanente 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.⁸

Al final del proceso se empleó la cámara de desintoxicación para extraer todo residuo de gas remanente.⁹

Además del indicador químico para OtE del papel de empaquetamiento, se empleó un indicador biológico para gas óxido de etileno marca Esporitec®. México. Cada lote se esterilizó independientemente. Todas las muestras se enviaron al laboratorio de microbiología, acompañadas de los tubos testigos.

En el laboratorio de microbiología se procedió a determinar el grado de esterilidad de cada uno de los subgrupos. Para hacer este estudio se procedió a tomar 5 muestras de cada subgrupo de 15, aplicando la fórmula:

$$K = N/n$$

Donde K es el intervalo de selección sistemática; N, número total del grupo y n, porcentaje de la muestra escogida.

*Procesamiento estadístico de los resultados*¹⁰

El resultado en cada grupo de ensayo se codificó y comparó entre sí como: 0, si no hay presencia de microorganismos; y 1 si hay presencia de alguno. Se establecieron medias en cada grupo de ensayo, y las desviaciones estándar.

RESULTADOS

En la tabla 1 se muestran los resultados del procedimiento de comprobación del método de contaminación.

El grupo A, contaminado con un estafilococo coagulasa positivo, sus 15 muestras fueron positivas a la misma cepa empleada de estafilococo. De igual forma en el grupo B, todas las muestras estuvieron contaminadas con la misma cepa de *Pseudomona aeruginosa* utilizada. Estos resultados muestran que el método de contaminación fue confiable.

Tabla 1. Muestras no esterilizadas

| Muestra | Grupo | Microorganismo aislado |
|---------|-------|---------------------------------|
| 1 | A | Estafilococo coagulasa positivo |
| | B | <i>Pseudomona aeruginosa</i> |
| 2 | A | Estafilococo coagulasa positivo |
| | B | <i>Pseudomona aeruginosa</i> |
| 3 | A | Estafilococo coagulasa positivo |
| | B | <i>Pseudomona aeruginosa</i> |
| 4 | A | Estafilococo coagulasa positivo |
| | B | <i>Pseudomona aeruginosa</i> |
| 5 | A | Estafilococo coagulasa positivo |
| | B | <i>Pseudomona aeruginosa</i> |

A: contaminado con estafilococo coagulasa positivo, B: contaminado con *Pseudomona aeruginosa*.

En la tabla 2 se resumen los resultados de las 90 muestras de piel porcina contaminadas, según el método experimentado, pero luego esterilizadas con gas OtE durante un tiempo variable de 60, 90 y 120 min. El resultado demuestra que aún empleando el tiempo mínimo de 60 min, el gas es efectivo tanto para el estafilococo coagulasa positivo como para la *Pseudomona aeruginosa*.

Tabla 2. Muestras contaminadas con estafilococo coagulasa positivo y *Pseudomona aeruginosa*, esterilizadas con óxido de etileno

| Muestra | Grupo | Subgrupo 60 min | Subgrupo 90 min | Subgrupo 120 min |
|---------|-------|-----------------|-----------------|------------------|
| 1 | A | 0 | 0 | 0 |
| | B | 0 | 0 | 0 |
| 2 | A | 0 | 0 | 0 |
| | B | 0 | 0 | 0 |
| 3 | A | 0 | 0 | 0 |
| | B | 0 | 0 | 0 |
| 4 | A | 0 | 0 | 0 |
| | B | 0 | 0 | 0 |
| 5 | A | 0 | 0 | 0 |
| | B | 0 | 0 | 0 |

Grupo A: estafilococo coagulasa positivo, Grupo B: *Pseudomona aeruginosa*.

DISCUSIÓN

Tradicionalmente el Banco de Tejidos ORTOP® ha empleado las radiaciones ionizantes como método de esterilización de tejido óseo y piel porcina para apósito biológico.^{11,12}

La piel humana no es necesario esterilizarla cuando se emplea como autotrasplante en quemados. También se puede emplear como un homoinjerto proveniente de los bancos de piel, creados al efecto. En el caso del Banco de Tejidos ORTOP se elaboran apósitos biológicos a partir de piel porcina liofilizada, la cual sí requiere ser esterilizada con el empleo para ello de glicerol, gas OtE o radiación gamma.

Las radiaciones (rayos X, rayos gamma y rayos beta) exigen instalaciones muy costosas y, por su mismo poder energético pueden, en algunas ocasiones, dar resultados indeseables como la aparición de radicales libres, cambio de coloración, interacciones, y otros.^{13,14}

La efectividad del OtE no había sido probada hasta el momento en Cuba en lo que concierne a los tejidos biológicos para implante. El ensayo diseñado para probar la efectividad del método de contaminación así como el realizado sometiendo porciones de piel porcina contaminadas con un microorganismo conocido a la acción del gas óxido de etileno, demostró su eficacia en cuanto al poder esterilizante.

Otro de los empleos del OtE es en los dispositivos médicos llamados "desechables", que se recuperan mucho mediante limpieza y esterilización. Desde finales de la década de los cincuenta del siglo xx, 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 en Cuba. Así surgen las cámaras de esterilización que emplean el gas OtE, las cuales se comenzaron a utilizar de manera considerable en una variada gama de productos, cuyos fabricantes catalogaban de "descartables".¹⁵⁻¹⁷

Efectos sobre la salud

Al óxido de etileno se le atribuyen algunos efectos nocivos para la salud: los más importantes son la toxicidad, cancerígenos y mutagénicos.^{18,19}

En el personal expuesto profesionalmente se incluye el de las centrales de esterilización de los hospitales y el de las industrias químicas con exposición profesional.^{20,21}

Los estudios epidemiológicos realizados sobre personal profesionalmente expuesto al OtE, han mostrado una incidencia significativa de abortos, enfermedad de Hodgkin y linfomas.^{22,23}

Aunque no es de interés fundamental para los fines de ese trabajo, solo se considera como personal con riesgo de exposición profesional a aquellas personas que trabajan en puestos con riesgo de exposición; también aquellas que trabajan de forma permanente, 8 h diarias. No se incluye como personal expuesto profesionalmente a aquellas que trabajan de forma temporal y durante menos de 2 meses y en puestos de trabajo con riesgo de exposición.²⁴

Por todo lo anterior los fabricantes de autoclaves para OtE la fabrican cada vez más seguras en su manipulación, lo cual permite un grado muy elevado de seguridad para los profesionales y el medio ambiente (*Agency for Toxic Substances and Disease Registry: ATSDR; FDA. Center for Drug Evaluation and Research, 2008*).

En las Normas de Servicios de Tejidos de la Cruz Roja Norteamericana (*Standards of the American Red Cross Tissue Services*) se muestran las partes por millón tolerables para el OtE y sus metabolitos.

Normas de los Servicios de Tejidos de la Cruz Roja Norteamericana, 6ta. ed., 1994

| Dispositivos médicos para implante | Partes por millón | | |
|------------------------------------|-------------------|-------------------------|--------------|
| | Óxido de etileno | Clorhidrinas de etileno | Etilenglicol |
| Pequeño (<10 g) | 250 | 250 | 5000 |
| Mediano (>10-100 g) | 100 | 100 | 2000 |
| Grande (>100 g) | 25 | 25 | 500 |

Las investigaciones realizadas en Cuba^{25,26} en el Hospital "William Soler" en 2003 demuestran que los niveles alcanzados de residuos en materiales esterilizados y reesterilizados en OtE, no sobrepasan esas cifras. Recientemente, la doctora *Roxana Hidalgo Rodríguez* y otros²⁷ presentaron su experiencia al comparar 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 los autores de este trabajo. Según los resultados, no encontraron diferencia en el potencial esterilizante de ambos equipos.

Estos trabajos solo demuestran el interés de encontrar el equipo de esterilización ideal para materiales "reciclables" y materiales termolábiles, como son los implantes biológicos.

Independiente de todo lo antes expuesto sobre los inconvenientes del gas OtE, en el caso de la piel porcina empleada como apósito biológico, no se trata de un implante permanente sino transitorio por 4 o 5 d, sobre la superficie de la piel, que cumple las normas de esterilización con OtE en cuanto a la aireación y que además requiere ser hidratado durante unos minutos, antes de su empleo.

El método utilizado de contaminación de la piel porcina con un microorganismo conocido fue efectivo para la totalidad de las muestras. Quedó demostrado que la piel porcina contaminada se esterilizaba en un tiempo mínimo de 60 min con el gas óxido de etileno. El empleo de apósitos biológicos esterilizados con OtE no implica un riesgo para los pacientes que lo requieran, porque no se trata de un implante permanente. Estos resultados demuestran la necesidad de un ensayo preclínico en el laboratorio, el cual demuestre que la piel porcina esterilizada con óxido de etileno no es irritante ni tóxica, si se prepara siguiendo las buenas prácticas normadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rutala WA, Gergen MF, Wether DJ. Comparative evaluation of the sporicidal activity of new low-temperature sterilization technologies: ethylene oxide, 2 plasma sterilization systems, and paracetic acid. *Am J Infect Control.* 1998;26:393-8.
2. Microsoft® Encarta® 2008. Microsoft Corporation; 1993-2007.
3. Conclusiones II Congreso Panamericano de Esterilización. Perú: ANEEE; 2002.

4. Comité Estatal de Normalización. Buenas Prácticas de Laboratorio, NC 26-212. La Habana: MINSAP; 1992.
5. Resolución No.16-2000. Directrices sobre Buenas Prácticas para la Fabricación de Productos Farmacéuticos. La Habana: MINSAP; 2000.
6. Boletín Informativo No. 2. Evaluación Preclínica Biológica de equipos médicos. No. 2 julio. La Habana: CCEEM; 1997.
7. Resolución Ministerial del MINSAP aprobando la Norma Cubana para los Bancos de Tejidos. Resolución 23/03 del 5 de Marzo del 2003. La Habana: MINSAP; 2003.
8. Kerney JN. Quality issues in skin banking: a review. Review. Burns. 1998;24(4):299-305.
9. Tarragano R, Cerdá N, López O, Valdés I. Esterilización con óxido de etileno. Bol AAM. 2004;163.
10. Hernández Sampier R. Metodología de la Investigación. T. 1. Cap. 10. La Habana: Ed. Félix Varela; 2004. p. 343.
11. Jacas Torné M, Sánchez Noda E, Álvarez Cambras R. Piel porcina liofilizada en el Gran Quemado. Belo Horizonte, Minas Gerais-Brasil: II Congresso Latino-Americano de Órgaos e Artificiaes e Biomaterais; 2001.
12. Arias Casson R, Jacas Toné M, Sánchez NodaE. Twenty Years of experience with lyophilized and irradiated pigs skin dressing. Kuala Lumpur, Malasia: 5To. Congreso Mundial de Bancos de Tejidos; 2008.
13. Zaragoza DL. Efecto de la radiación gamma sobre algunos injertos; 2003 [cited Sep 2011]. Disponible en: http://quimicanuclear.org/pdf_memorias2003/pdf_simposium/Daniel%20Luna.pdf
14. Rendell Baker RB. Safe use of ethylene oxide sterilisation in hospitals. Anesth Analg (Clev). 1970;49:919-21.
15. Rutala WA, Wether DJ. New disinfection and sterilization methods. Emergin Inf Dis. 2001;7(2):348-53.
16. Rhodes Matthew W. BS. Perspectives on reprocessing of single-use devices. J Clin Engineering. 2008;33(4):197-9.
17. Hettich R, Ghofrani A, Hafemann B. Immunogenicity of glycerol-preserved donor Skin. Burns. 1994;20(Suppl 1):S71-6.
18. Normas ISO. NC-ISO 10993-6:(E). Parte 6: Pruebas para los efectos locales después de la implantación. Evaluación biológica de dispositivos médicos; 1994.
19. Study Report of toxicity of ethylene oxide, ethyleneglicol and ethylenechorehydrin. Washington DC: Woodard Research Corporation. Heath Industries Asociotion; 1971.
20. Hogstedt C, Malmquest N, Wadman B. Leukemia in workers exposed to ethylene oxide. JAMA. 1979;241:11.

21. O' Leary K, Watkins ED, Guess WL. Toxicological studies on certanis medical grade plastics sterilized by ethylene oxide. J Ph Sci. 1968;57:12.
22. WHO international Agency for Research on Cancer (IARC). Monographs on the evaluative of carcinogenic risks chemicals to men. Vol II. Geneva: WHO; 1976.
23. Aragón Peña A, Gonzáles García MI. Protocolo de Vigilancia Sanitaria Específica Óxido de Etileno. Galicia, España: Ministerio de Sanidad y Consumo; 2003.
24. Rendell Baker R. Safe use of ethylene oxide sterilisation in hospitals. Anesth Analg (Clev). 1970;49:919-21.
25. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene del Trabajo. Evaluación y Control de Contaminantes Químicos en Hospitales. La Habana: MINSAP; 1989.
26. Castellanos Fernández V, Ríos Hernández M, Chiroles Despaigne S, Villavicencio Betancourt O, Hidalgo Rodríguez R. Residuales de la esterilización con gas óxido de etileno en equipos médicos. La Habana: Memorias V Congreso de la Sociedad Cubana de Bioingeniería; 2003.
27. 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 Invest Biomed[revista en la Internet]. 2006[citado 2011 Oct 20];25(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002006000100009&lng=es

Recibido: 31 de octubre de 2010.

Aprobado: 26 de junio de 2011.

Manuel Jacas Torné. Banco de Tejidos ORTOP. Complejo Científico Ortopédico Internacional "Frank País". Ave. 51 No. 19603. Lisa. La Habana, Cuba. Teléf.: 271 9055. Correo electrónico: btejcol@fpais.sld.cu