

CÓDIGO DE PRÁCTICAS PARA LA ESTERILIZACIÓN POR IRRADIACIÓN DE TEJIDOS HUMANOS PARA USO CLÍNICO:

REQUISITOS PARA LA VALIDACIÓN Y CONTROL DE RUTINA

Eulogia Kairiyama
(compiladora)



Primera edición
Editorial Tecnológica de Costa Rica, 2013.

612.02

B793f

Kairiyama, Eulogia; comp.

Código de prácticas para la esterilización por
irradiación de tejidos humanos para uso clínico /

Eulogia Kairiyama – 1ed. -- Cartago, Costa Rica:
Editorial Tecnológica de Costa Rica, 2013

78 páginas.

ISBN 978-9977-66-268-8

1. Tejidos 2. Procedimiento



IAEA

International Atomic Energy Agency

Acuerdo Regional de Cooperación para la promoción de la ciencia y la
tecnología nucleares en América Latina y el Caribe

Proyecto RLA/6/062 ARCAL CVIII

Instituto Nacional de Donación y Trasplante de Células, Tejidos y Órganos
(INDT) – Uruguay

© **Editorial Tecnológica de Costa Rica**
Instituto Tecnológico de Costa Rica
Correo electrónico: editorial@itcr.ac.cr
www.editorialtecnologica.tec.ac.cr
Apdo. 159-7050, Cartago
Tel: (506) 2550-2297 / 2550-2336
Fax: (506) 2552-5354
Hecho el depósito de ley.
Impreso en Costa Rica.

Contenido

Prefacio	9
Presentación.....	13
Contribuyentes para la traducción, revisión y actualización..	15
Introducción.....	15
Objetivo	19
Alcance.....	19
Definiciones.....	23
Esterilización de tejidos	
humanos para uso clínico	31
Generalidades	31
Consideraciones de los procesos de preesterilización.....	32
Proceso de esterilización con radiaciones ionizantes: requisitos para el desarrollo, validación y control de rutina	33
Generalidades	33
Requisitos técnicos	34
Validación.....	34
<i>Calificación del tejido procesado y su envase para su esterilización</i>	<i>35</i>
<i>Calificación de la instalación de irradiación</i>	<i>36</i>
<i>Calificación de la operación</i>	<i>36</i>
<i>Calificación del desempeño</i>	<i>37</i>
<i>Revisión y aprobación de la validación</i>	<i>39</i>
Irradiación de rutina y control del proceso	39

Liberación del tejido procesado irradiado40
Mantenimiento de la efectividad del proceso40

Anexo I. Determinación de la dosis de esterilización

la dosis de esterilización43
Alcance43
Selección de muestras de tejidos procesados43
Porción normalizada de producto (pnp)44
Determinación de la carga microbiana44
Selección del método para determinar la dosis de esterilización.....45
Procedimiento del método A49
 Lote único de producción49
 Obtención de la muestra49
 Determinación de la carga microbiana50
 Selección de la dosis de verificación (DV)51
 Acondicionamiento de las muestras para la irradiación con la DV.....51
 Irradiación de las muestras para el ensayo de la DV.....51
 Ensayo de verificación de la resistencia de los microorganismos a la radiación52
 Interpretación de los resultados52
 Cálculo de la dosis de esterilización52
 Lotes múltiples de producción.....53
 Obtención de la muestra53
 Determinación de la carga microbiana53
 Selección de la dosis de verificación (DV)53
 Acondicionamiento de las muestras para la irradiación con la DV.....54
 Irradiación de las muestras con la dosis de verificación para el ensayo de comprobación de la resistencia de los microorganismos a la radiación54

<i>Ensayo de verificación de la resistencia de los microorganismos a la radiación</i>	54
<i>Cálculo de la dosis de esterilización</i>	55
<i>Uso rutinario de la dosis de esterilización</i>	55
<i>Auditoría de la dosis de esterilización</i>	56
Anexo II. Ejemplos prácticos de procedimientos para la validación del proceso de irradiación. Determinación de la dosis mínima de esterilización por el método A	59
Anexo III. Cuadros	67
Bibliografía	77

Prefacio

Este *Código de prácticas para la esterilización por irradiación de tejidos humanos para uso clínico: requisitos para la validación y control de rutina* es una versión en español revisada y actualizada del documento original en inglés *Radiation Sterilization of Tissue Allografts: Requirements for Validation and Routine Control, A Code of Practice, International Atomic Energy Agency, Vienna, 2007*.

Estas recomendaciones para la esterilización de aloinjertos de tejidos adoptan los principios que la Organización Internacional de Normalización (ISO) aplica a la esterilización con radiaciones ionizantes de productos para el cuidado de la salud. Se han tenido en cuenta las particularidades de los tejidos humanos y las características que los distinguen de los productos biomédicos fabricados industrialmente.

Se advierte que este Código de prácticas no es aplicable si se identifica alguna contaminación viral en el donante del tejido.

Se pone énfasis en que el tejido humano donado debe ser rigurosamente seleccionado, con base en criterios de historia clínica, comportamiento médico-social, examen físico, estudios serológicos, el tiempo transcurrido desde el paro cardiocirculatorio del donante hasta la ablación del tejido y el informe de la autopsia, cuando corresponda.

Además, en la elaboración de este Código se han tenido en cuenta las características específicas de los tejidos humanos de acuerdo con las particularidades de cada región de América Latina.

Se revisaron y actualizaron las prácticas del proceso de esterilización de acuerdo con la última versión de la norma ISO 11137:2006, Esterilización de productos para el cuidado de la salud – Radiación, Parte 1: Requerimientos para el desarrollo, validación y control de rutina de un proceso de esterilización de productos para el cuidado de la salud, y Parte 2: Establecimiento de la dosis de esterilización.

Asimismo, se revisó el método propuesto para la determinación de la dosis de esterilización, basado en aproximaciones estadísticas utilizadas en el Método 1 de la norma ISO 11137-2:2006 para la esterilización de productos para el cuidado de la salud, modificadas apropiadamente para lotes con un número bajo de unidades de tejidos procesados.

Esta adaptación de los métodos establecidos en la citada norma ISO puede aplicarse solamente a la esterilización de tejidos humanos obtenidos bajo Buenas Prácticas de Producción de Tejidos (BPPT), cuya esterilización final se realiza por irradiación.

Se espera que este Código de Prácticas sea de utilidad para operadores de bancos de tejidos, reguladores que supervisan la seguridad de los trasplantes y operadores de instalaciones de irradiación, así como para los miembros de organizaciones relacionadas con la actividad de los bancos de tejidos y la trasplantología de tejidos.

Esta publicación fue traducida, revisada y actualizada por expertos de la región provenientes de Argentina (Eulogia Kairiyama y Celina Horak), Cuba (Isabel Otero), México (María Esther Martínez), Perú (Emma Castro) y Uruguay (María del Carmen Saldías), en el marco del programa de actividades del Proyecto RLA 6062, ARCAL CVIII, bajo la coordinación de Eulogia Kairiyama, y aprobada por el Comité de Evaluación del Proyecto Regional (E. Kairiyama, M. Mathor, P. Aguirre e I. Álvarez). El responsable de esta publicación es Jan Wondergem, Oficial Técnico de la División Salud Humana del Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA).

Se agradece especialmente a Alba Zaretsky, de Argentina, por su valioso apoyo en la elaboración de los cuadros del Anexo II. Asimismo, se agradece a los anfitriones de las reuniones de expertos realizadas en Heredia, Costa Rica (mayo del 2010) y en Bogotá, Colombia (mayo del 2011), Miguel Rojas y Linda Guerrero, respectivamente.

Contribuyentes para la traducción, revisión y actualización

Aguirre Herrera, Paulina María Estela	Comisión Chilena de Energía Nuclear (CCHEN), Chile
Alcántara Díaz, David	Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ), México
Bof, Elba	Centro Atómico Ezeiza, Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA), Argentina
Castro Gamero, Emma L. M.	Instituto Peruano de Energía Nuclear (IPEN), Perú
Docters, Andrea	Centro Atómico Ezeiza, Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA), Argentina
González, María Elisa	Centro Atómico Ezeiza, Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA), Argentina
Horak, Celina Inés	Centro Atómico Ezeiza, Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA), Argentina
Kairiyama, Eulogia	Centro Atómico Ezeiza, Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA), Argentina
Martínez Pardo, María Esther	Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ), México

Otero Abreu, Isabel M.	Centro de Aplicaciones Tecnológicas y Desarrollo Nuclear (CEADEN), Agencia de Energía Nuclear y Tecnologías de Avanzada (AENTA)
Pachado, José	Centro Atómico Ezeiza, Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA), Argentina
Saldías Farinelli, María del Carmen	Instituto Nacional de Donación y Trasplantes, (INDT), Ministerio de Salud; Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Uruguay
Reyes Frías, M ^a de Lourdes	Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ), México
Spinosa, Mariana	Centro Atómico Ezeiza, Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA), Argentina
Wondergem, Jan	Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA), Viena, Austria
Zaretzky, Alba	Centro Atómico Ezeiza, Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA), Argentina

Presentación

Esta publicación es un aporte del Tecnológico de Costa Rica (TEC) al Proyecto ARCAL RLA/6/062, denominado *Consolidación de los Bancos de Tejidos en América Latina y Radioesterilización de Aloinjertos de Tejido*.

Por medio del Laboratorio de Ingeniería de Tejidos (LAINTEC), del Centro de Investigación en Biotecnología (CIB), el TEC es la contraparte costarricense de este proyecto en el cual participan doce países de América Latina. La participación en este esfuerzo regional ha sido posible gracias al apoyo de la Vicerrectoría de Investigación y Extensión del TEC, la Dirección de la Escuela de Biología y la Coordinación del CIB. Asimismo, con el cofinanciamiento del Organismo Internacional de Energía Atómica.

Mediante esta iniciativa regional, Costa Rica ha adquirido experiencia, capacitación y asesoría de un grupo latinoamericano muy experimentado, de alto nivel, capaz y sensible que trata de mejorar la calidad de vida de pacientes al crear las condiciones y facilidades para la obtención, procesamiento y distribución de células y tejidos.

Miguel Rojas Chaves, PhD
Coordinador del CIB

Introducción

El Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA) ha elaborado el Código de Prácticas para la esterilización con radiación ionizante de tejidos humanos para uso clínico y sus requisitos para la validación y control de rutina de este proceso, cuya primera versión es el *Radiation Sterilization of Tissue Allografts: Requirements for Validation and Routine Control, A Code of Practice, International Atomic Energy Agency, Vienna, 2007* [1]; la presente constituye una versión en español revisada y actualizada de la primera edición en inglés.

La inactivación de los microorganismos por métodos físicos y químicos sigue una función exponencial negativa, en consecuencia, es posible calcular la probabilidad de supervivencia de estos si se conoce la cantidad de microorganismos viables presentes en el producto y su resistencia al agente esterilizante.

El propósito del proceso de esterilización es la reducción de la carga microbiana a niveles aceptables, los cuales son definidos por el Nivel de Aseguramiento de Esterilidad (NAE).

En la actualidad, se cuenta con normas internacionales para la esterilización con radiaciones ionizantes de dispositivos médicos (ISO 11137-1; 2; y 3: 2006) [2] [3] [4]). Después de estudios intensivos sobre los efectos de las radiaciones ionizantes en sus propiedades químicas, físicas y biológicas, diversos injertos de tejidos se esterilizan por irradiación.

Este Código de prácticas establece los requerimientos para asegurar que el proceso de esterilización de tejidos por irradiación produzca tejidos estériles y seguros para uso clínico.

Aun cuando los principios adoptados en este Código de prácticas son similares a los que se utilizan para la esterilización de productos médicos, en la práctica existen diferencias sustanciales entre los tejidos de origen humano, debido a las particularidades de sus características físicas, químicas y biológicas.

El Anexo I describe los métodos para seleccionar la dosis de esterilización. El Anexo II proporciona ejemplos aplicando estos métodos extraídos de experiencias de la región. El Anexo III presenta una serie de cuadros de dosis de radiación (kGy) requeridas para alcanzar un determinado Nivel de Aseguramiento de Esterilidad (NAE) para diferentes cargas microbianas (ufc) que tienen una Distribución Estándar de Resistencias (DER). En la bibliografía se proporcionan referencias clave para la esterilización de los tejidos con radiación ionizante.

Los enfoques que se usan para establecer la dosis de radiación necesaria para alcanzar los valores de NAE requeridos en un proceso de esterilización de tejidos humanos para uso clínico, son:

- a) Determinar la dosis de esterilización específica como se describe en el Método 1 de la norma ISO 11137-2:2006 [1].
- b) Determinar la dosis de esterilización específica descrita en el método A propuesto en el *Radiation Sterilization of Tissue Allografts: Requirements for Validation and Routine Control, A Code of Practice, International Atomic Energy Agency* (Viena, 2007). Este nuevo método, que surgió a partir de la adaptación del Método 1 de la Norma ISO 11137 [3], es adecuado para lotes de producción con bajo número de unidades de producto, destacándose que se presenta un cuadro extendido de Valores de Dosis de Radiación requeridos para alcanzar un NAE desde 10^{-1} a 10^{-2} y para cargas microbianas desde 0,06 ufc, en $PNP=1$ o >1 .

En esta revisión se amplió la posibilidad de determinar la Dosis de Esterilización específica para un NAE de 10^{-6} para tejidos con carga microbiana total hasta 10 000 ufc por unidad de producto, entre ellas, se recomienda determinar la contribución de las bacterias Gram-negativas. Cabe mencionar que el control de endotoxinas en el tejido procesado es mandatorio en las normativas dictadas por los organismos de regulación y control nacionales [5], debido a la gran resistencia de las endotoxinas bacterianas a los métodos de esterilización, entre ellos, con radiaciones ionizantes [6].

- c) Convalidar una dosis de esterilización preseleccionada de 25 kGy o 15 kGy especificados en los Métodos VDmax de la Norma ISO 11137-2:2006 [1].

Estos métodos derivados de la inactivación de la población de microorganismos en su estado natural, se basan en un modelo probabilístico para la inactivación de poblaciones microbianas y en el conocimiento de la carga microbiana del tejido procesado antes de la irradiación. Se utiliza este último dato para establecer una dosis de verificación, asumiendo que se enmarca en la Distribución Estándar de Resistencias [3], [7], [8], [9].

Por otro lado, el Método 2 de la Norma ISO 11137-2:2006 [3], que se basa en las resistencias a la radiación de los microorganismos presentes en el propio producto, no se incluye en este Código de Prácticas, dado que se requiere un elevado número de muestras para realizar los ensayos y establecer la dosis de esterilización y, por lo tanto, es aplicable solamente en una producción con un número muy elevado de unidades de producto por lote.

Objetivo

El objetivo de este Código de Prácticas es proporcionar una guía para el uso de la radiación ionizante, como método de esterilización de tejidos humanos para un uso clínico seguro.

Alcance

Este Código de Prácticas especifica los requerimientos para la validación del proceso de esterilización final con radiaciones ionizantes y el control de rutina en el procesamiento de tejidos humanos para uso clínico, producidos bajo Buenas Prácticas de Producción de Tejidos (BPPT).

Este documento no es aplicable a tejidos que contengan virus, priones o endotoxinas bacterianas, porque no garantiza su inactivación, por lo que deberán aplicarse con rigor los criterios de selección y exclusión de los donantes.

Definiciones

Las siguientes definiciones son particularmente útiles para este Código de Prácticas:

Nota: la mayoría de los términos relacionados con el proceso de esterilización están dados en las referencias [1], [2], [3] y [4], así como también en las referencias [10] y [11].

Aloinjerto: tejido para trasplante entre individuos de la misma especie.

Banco de tejidos: establecimiento autorizado por los organismos reguladores pertinentes que provee o está implicado en uno o más servicios que involucran como producto final tejidos o células de individuos vivos o fallecidos, con propósitos de trasplante.

Nota: Estos servicios incluyen la evaluación de la idoneidad del donante, la procuración, el procesamiento, el rotulado/ etiquetado, la esterilización final (si corresponde), el almacenamiento, la liberación y la distribución del tejido.

Buenas Prácticas de Irradiación de Tejidos Humanos (BPI): actividades y procedimientos que deben seguirse en la instalación de la irradiación con el fin de asegurar que los tejidos reciban las dosis requeridas.

Nota: las BPI son parte del sistema de gestión de la calidad, de las BPPT y deben cumplir con las regulaciones emitidas por la autoridad competente en el área nuclear. Las BPI involucran al personal de la instalación de irradiación y del banco, ya que el proceso de irradiación es una etapa del procesamiento de tejidos.

Buenas Prácticas de Producción de Tejidos (BPPT): actividades enmarcadas en un Sistema de Gestión de la Calidad, que cumplen los estándares aceptados y emitidos por las entidades gubernamentales nacionales de regulación y control para la elaboración de tejidos para injertos de uso clínico seguro.

Calibración: conjunto de operaciones que establece, bajo condiciones específicas, la relación entre los valores indicados por un instrumento o sistema de medición, registro y control, o los valores representados por una medición del material, y los correspondientes valores conocidos de un patrón de referencia. Es preciso establecer los límites de aceptación de los resultados de las mediciones.

Calidad: grado en que un conjunto de características inherentes cumple con los requisitos de efectividad y seguridad para el uso al que está destinado, de acuerdo con los parámetros establecidos.

Calificación: Evaluación de las características de los elementos del proceso.

Calificación del Desempeño (CD): proceso de obtención y documentación de evidencia de que el equipo, instalado y operado de acuerdo con los procedimientos de operación, tiene un desempeño consistente con los criterios establecidos, dando como resultado productos que cumplen sus especificaciones.

Calificación de la Instalación (CI): proceso de obtención y documentación de evidencia de que el equipo ha sido provisto e instalado de acuerdo con sus especificaciones.

Calificación de la Operación (CO): proceso de obtención y documentación de evidencia de que el equipamiento y sistemas afines instalados operan conforme a las especificaciones de diseño de operación establecidas.

Carga microbiana: población de microorganismos viables en el producto.

Convalidación de la Dosis de Esterilización por Irradiación: proceso mediante el cual se confirma o revalida un valor seleccionado de dosis de esterilización.

Contenedor de Irradiación: caja o recipiente en el cual los tejidos procesados contenidos en un embalaje son dispuestos para su exposición a la fuente de radiación.

Dispositivos médicos: instrumento, aparato, implemento, máquina, artefacto, implante, reactivo o calibrador *in vitro*, *software*, material o cualquier otro artículo similar o relacionado que el fabricante busca que se utilice, solo o en combinación, para el cuidado de la salud en seres humanos.

Distribución: proceso que involucra el transporte y entrega de los aloinjertos para su uso.

Distribución Estándar de Resistencias (DER): distribución de las resistencias de los microorganismos en términos de valores de D10 y su probabilidad de ocurrencia.

Nota: se obtuvo experimentalmente y se utiliza para definir, con propósitos referenciales, las respuestas a la radiación de poblaciones de microorganismos con niveles conocidos de carga microbiana en un producto.

D10: dosis de radiación requerida para inactivar el 90% de la población homogénea de microorganismos, asumiendo que la muerte de éstos sigue una cinética de primer orden.

Dosimetría: técnica para la medición de la dosis absorbida.

Dosímetro: dispositivo que tiene una respuesta a la radiación medible y reproducible, y que se utiliza para medir la dosis absorbida en un material dado.

Dosímetro de rutina: dosímetro calibrado mediante un dosímetro estándar primario, de referencia o de transferencia, utilizado para mediciones de dosis de rutina.

Dosímetro estándar de referencia: dosímetro de alta calidad metrológica, usado como estándar para proveer mediciones trazables y consistentes con mediciones realizadas utilizando dosímetros estándares primarios.

Dosímetro estándar primario: dosímetro de alta calidad metrológica establecido y mantenido como un estándar de dosis absorbida por una organización nacional o internacional reconocida.

Dosis absorbida: cantidad de energía de la radiación absorbida por unidad de masa de materia.

Nota: en el Sistema Internacional de Unidades (SI), la unidad de dosis absorbida es el Gray (Gy), donde 1 Gray es equivalente a la absorción de 1 Joule por kilogramo (1Gy = 100 rad). 1 kGy=1 000 Gy.

Dosis de esterilización: dosis mínima absorbida requerida para alcanzar el Nivel de Aseguramiento de Esterilidad especificado.

Dosis de verificación: dosis de radiación determinada experimentalmente para un predeterminado NAE, a la cual se exponen los tejidos procesados o porciones de éstos. Se utiliza en el ensayo de la verificación de dosis, durante la determinación de la dosis de esterilización.

Eficiencia de recuperación: medida de la capacidad de una técnica específica para remover los microorganismos de un producto.

Electronvoltio (eV): energía que toma un electrón cuando es acelerado por una diferencia de potencial de 1 voltio.

Nota: mega electrovoltio (MeV). 1MeV= 10^6 eV.

Embalaje del tejido procesado: empaque colectivo con tejidos procesados y envasados.

Entidad operadora de la instalación de irradiación: compañía o institución responsable del servicio de irradiación de los tejidos procesados.

Envase/empaque del tejido procesado: sistema contenedor herméticamente cerrado.

Estéril: libre de microorganismos viables.

Esterilización: proceso físico o químico validado que permite inactivar o reducir los microorganismos al Nivel de Aseguramiento de Esterilidad (NAE) deseado.

Nota: en el proceso de esterilización, la inactivación microbiana es exponencial, de manera que la supervivencia de un microorganismo o un elemento individual puede expresarse en términos de probabilidad. La esterilidad se expresa en varias legislaciones nacionales y estándares internacionales como un NAE de 10^{-6} .

Irradiador: equipo o instalación que permite un proceso de esterilización confiable y seguro; básicamente incluye la fuente de radiación, la cámara o recinto de irradiación, el sistema de transporte y sistemas de seguridad y blindaje, entre otros.

Lote de irradiación: cantidad de tejidos procesados irradiados en un mismo ciclo, en un irradiador.

Lote de procesamiento/producción: cantidad definida de tejidos provenientes de un único donante, que se asume uniforme en naturaleza y calidad, el cual ha sido producido en un ciclo definido de procesamiento.

Lotes múltiples de producción: lotes del mismo tipo de tejido proveniente de un único o diferentes donantes procesados bajo un mismo procedimiento operativo estandarizado (POE), método de conservación y producidos con una frecuencia regular definida.

Nota: la carga microbiana de estos lotes debe ser menor al doble del valor promedio de un lote a otro. Estos límites deben mantenerse en al menos 10 lotes de producción consecutivos. La periodicidad de producción entre los lotes no deberá ser mayor de una semana. En caso de no cumplir esta condición, se considerará como lote único de producción.

Mapeo de dosis: ejercicio realizado dentro de un irradiador con el tejido procesado y empacado o con un material simulado, para determinar la distribución de la dosis en el embalaje del tejido procesado utilizando dosímetros.

Nivel de Aseguramiento de Esterilidad (NAE): probabilidad de que un microorganismo viable esté presente en un tejido procesado después de haber sido irradiado a una determinada dosis.

Patrón de carga: configuración de carga específica, para un volumen específico de producto, irradiado como entidad única.

Pieza acompañante: muestra que se obtiene del propio tejido en proceso, que haya seguido el mismo procedimiento operativo estandarizado y que no será destinada como parte de la unidad de tejido del lote producido.

Porción Normalizada de Producto (PNP): porción normalizada de la unidad de producto del lote que va a ser analizada.

Nota: el valor de la PNP se puede calcular tomando como base medidas de longitud, peso, volumen o superficie, dependiendo de la forma y naturaleza del aoinjerto.

Preservación/conservación: combinación apropiada de condiciones que mantienen la calidad de los tejidos durante los períodos especificados.

Procedimiento Operativo Estandarizado (POE): procedimiento propio de cada actividad, documentado y autorizado, que contiene instrucciones para realizar las operaciones.

Prueba de esterilidad: ensayo que se realiza para determinar la presencia o ausencia de microorganismos viables.

Prueba de esterilidad positiva: ensayo de esterilidad que muestra crecimiento microbiano perceptible después de la incubación de un producto en un medio de cultivo adecuado.

Recinto de Irradiación: lugar de la instalación de irradiación donde se expone el producto ante una fuente de radiación, equivalente a la cámara de irradiación de un irradiador autoblandado.

Sistema dosimétrico: sistema que se utiliza para determinar la dosis absorbida, compuesto por dosímetros, instrumentos de medición, estándares de referencia o de transferencia asociados y procedimientos operativos.

Nota: se debe utilizar un sistema dosimétrico reconocido y calibrado, que permita la trazabilidad por medio de una cadena ininterrumpida de intercomparaciones con un laboratorio primario; además debe cumplir con las normas nacionales o internacionales.

Esterilización de tejidos humanos para uso clínico

Generalidades

Un banco de tejidos procesa una gran variedad de tejidos humanos. Estos pueden contener diversos niveles de carga microbiana, por lo cual, al aplicar normas elaboradas para productos médicos, se requieren consideraciones especiales.

En la actualidad, los tejidos que se esterilizan o descontaminan incluyen hueso, cartílago, ligamentos, tendones, *fascia lata*, válvulas cardíacas, vasos, piel y amnios. La variabilidad de la carga microbiana en los tejidos es mucho mayor que la que se encuentra en los productos médicos, en los cuales los niveles de contaminación microbiana usualmente son bajos y uniformes.

Sumado a lo anterior, los aloinjertos de tejidos no son productos obtenidos de procesos industriales que incluyen un número elevado de unidades de producto. Por ello, se debe prestar especial atención a:

- a) La uniformidad de las características físicas de las unidades de tejido procesado por lote de producción: tamaño, forma y densidad;
- b) La uniformidad de la carga microbiana en las unidades de tejido procesado por lote;
- c) El escaso número de unidades disponibles por lote de producción, para establecer la dosis de esterilización.

Consideraciones de los procesos de preesterilización

En el proceso de la esterilización de tejidos por irradiación, es importante hacer una selección rigurosa del donante para descartar contaminantes específicos. La procuración de los tejidos, el procesamiento y la preservación también son procesos que determinan las características de los aloinjertos.

Las características más importantes son aquellas relacionadas con la utilización de los tejidos como aloinjertos, es decir, sus propiedades físicas, químicas y biológicas.

Los bancos de tejidos deben cumplir con las normativas nacionales vigentes, con las Buenas Prácticas de Producción de Tejidos y considerar como documentos guía los estándares de las diferentes asociaciones de bancos de tejidos, así como el documento *International Standards for Tissue Banking* de la OIEA, 2005, y la *Guía para la Operación de Bancos de Tejidos* del ARCAL CVIII RLA 6/062, 2011.

En estos documentos se describen los procedimientos generales y específicos de las actividades de los bancos de tejidos, desde la selección del donante hasta la distribución de los tejidos producidos.

Cada banco de tejidos, además de cumplir con la normativa nacional vigente, deberá establecer y mantener un Sistema de Gestión de la Calidad para garantizar que los tejidos producidos sean seguros, eficaces y efectivos para el uso clínico pretendido.

La calidad microbiológica del lote de tejido procesado, previamente a la irradiación, debe caracterizarse por una carga microbiana baja y homogénea. Asimismo, debe evaluarse si el método de preservación es compatible con el proceso de esterilización por irradiación.

Las diferentes etapas de producción del aloinjerto deben estar validadas; esto incluye desde la calificación de las instalaciones del banco, la calificación de los donantes de los tejidos y la calificación del procesamiento y preservación hasta la certificación del procedimiento para revisar y aprobar las documentaciones generadas.

Los bancos de tejidos también deberán tener acceso a un laboratorio de microbiología calificado para determinar la carga microbiana en los tejidos procesados antes de la irradiación y los controles de esterilidad de los mismos; así como realizar controles de la calidad higiénica en las diferentes etapas de su procesamiento. Si se considera oportuno, se recomienda realizar estudios de identificación de los microorganismos presentes y sus resistencias a la radiación.

Proceso de esterilización con radiaciones ionizantes: requisitos para el desarrollo, validación y control de rutina

Generalidades

La guía que se describe en esta sección se basa en los procedimientos especificados en las partes 1, 2 y 3 de la Norma ISO 11137:2006 [2], [3] y [4] para la esterilización de productos médicos.

El proceso de esterilización de aloinjertos debe considerarse una etapa de la producción; por lo tanto, para garantizar el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Producción de Tejidos, el proceso de irradiación debe realizarse en instalaciones con un Sistema de Gestión de la Calidad implementado y en las cuales se cumplan a su vez las Buenas Prácticas de Irradiación.

Todas las acciones que se lleven a cabo estarán documentadas para demostrar que los procedimientos, procesos, equipamientos, materiales, actividades y sistemas involucrados en el proceso conducen a la esterilización efectiva de los tejidos.

Se deberán tomar en cuenta factores que influyen en la capacidad del proceso de esterilización, para demostrar que se puede alcanzar un NAE de 10^{-6} . Dichos factores son:

- a) Mayor variabilidad en el tipo y la cantidad de microorganismos que pueden encontrarse en los tejidos producidos con respecto a los encontrados en productos para el cuidado de la salud.

- b) Variación de la forma, densidad y tamaño de los tejidos para injertos, que puede afectar la precisión del mapeo de dosis del producto.
- c) Menor número de tejidos para aloinjertos por lote de producción.

Requisitos técnicos

Los requisitos técnicos mínimos son:

- a) Acceso a una fuente de radiación de los radionucleidos ^{60}Co o ^{137}Cs , acelerador de electrones (Energías <10 MeV) o generador de rayos X (Energías <5 MeV).
- b) Acceso a servicios calificados de dosimetría.
- c) Acceso a servicios de laboratorios de microbiología calificados.

Nota: Los equipos de radioterapia, con fuente de ^{60}Co o haces de electrones no son indicados para estos propósitos; tampoco los equipos de rayos X para diagnóstico por imagen.

Validación

La validación del proceso de esterilización debe incluir los siguientes elementos [2], [3], [4] y [12]:

- a) Calificación del tejido procesado y su envase o empaque
- b) Calificación de la instalación de irradiación
- c) Calificación de la operación
- d) Calificación del desempeño
- e) Revisión y aprobación de la documentación de la validación

Calificación del tejido procesado y su envase para su esterilización

Para la definición del proceso de esterilización de un tejido procesado, se deberá: a) seleccionar la dosis máxima tolerada por cada tipo de tejido y por el material de su envase o empaque, y b) determinar la dosis mínima de esterilización necesaria para alcanzar un valor de NAE de 10^{-6} . El sistema dosimétrico utilizado para monitorear estas dosis deberá ser lo suficientemente preciso como para garantizar una medición dentro de las tolerancias especificadas en la norma ISO 11137- 3 [4].

- a) Selección de la Dosis máxima (Dmax) tolerada por el tejido procesado y su empaque

Antes de la esterilización por irradiación, se deben considerar los efectos de las radiaciones ionizantes sobre cada tipo de tejido y su material de empaque, para un determinado método de preservación, condición ambiental de irradiación y condición de almacenamiento del tejido procesado.

Se debe seleccionar la dosis máxima tolerada por el tejido procesado, la que no debe modificar significativamente sus propiedades funcionales, así como las de su envase (ISO 11137:1995 – Annex A) [12], debiendo establecer la durabilidad del material irradiado a través del tiempo en las condiciones ambientales de almacenamiento del tejido.

- b) Determinación de la Dosis mínima (Dmin) de esterilización

Se deberá considerar el número y la resistencia a la radiación de los microorganismos presentes en el tejido procesado y usar esta información para determinar la dosis de esterilización.

En el Anexo I se detalla la metodología que se debe seguir para determinar la dosis mínima de esterilización del tejido procesado para alcanzar un NAE de 10^{-6} .

Calificación de la instalación de irradiación

La calificación de la instalación debe demostrar que el irradiador y los sistemas auxiliares operan de acuerdo con sus especificaciones.

La documentación de la calificación de la instalación debe incluir: descripción del irradiador, especificaciones técnicas, procedimientos y planes de operación, mantenimiento, calibración e inspecciones periódicas, entre otros.

Calificación de la operación

La calificación de la operación debe demostrar que el irradiador, tal como está instalado, es capaz de operar de acuerdo con sus procedimientos operativos y de entregar las dosis apropiadas dentro de criterios de aceptación definidos, como se indica en la norma ISO 11137- Part 1: 2006 (punto 9.2) [2].

Antes de la calificación de la operación, se debe verificar la calibración de todos los instrumentos, incluyendo los utilizados en los ensayos de monitoreo, control y registro.

La caracterización del irradiador, en lo que respecta a la magnitud, distribución y reproducibilidad de la dosis entregada, se realiza mediante el mapeo de dosis del recinto o cámara de irradiación sin carga de producto (irradiación en aire) o con producto simulado (material homogéneo representativo de características similares a los productos reales), a diferentes tasas de dosis en condiciones reales de irradiación [4].

Se deben definir los parámetros críticos del proceso, como son la velocidad del sistema de transporte, temporizadores y mediciones de dosis.

Para plantas de irradiación gamma, se tendrá en cuenta fundamentalmente el tiempo de exposición y tiempo por posición de irradiación dependiendo del sistema de transporte de la instalación.

En máquinas aceleradoras de electrones y de rayos X convertibles, se deberán determinar los parámetros de operación de dichos equipos, tales como energía del haz de electrones o rayos X, corriente, ancho de la ventana por donde emerge el haz, entre otros.

Calificación del desempeño

La calificación del desempeño debe demostrar que el resultado del proceso aplicado al tejido procesado en su empaque final cumple con los requisitos especificados.

Para realizar este paso en un tejido procesado es necesario conocer previamente sus características, tipo de tejido y método de conservación, y el rango de dosis (D_{max} y D_{min}) especificado por el cliente (banco de tejidos) de acuerdo con los resultados de la Calificación del Producto.

El mapeo de dosis se debe llevar a cabo con el producto cargado en el contenedor de irradiación de acuerdo con el patrón de carga especificado, con el fin de localizar y conocer las magnitudes de la dosis mínima y máxima, así como determinar la relación entre ellas y sus ubicaciones.

- a) Determinación del patrón de carga del tejido procesado en su empaque final

Se debe especificar la forma de distribución de los tejidos procesados en su embalaje para su esterilización, teniendo en cuenta sus dimensiones, cantidad, densidad del producto, temperatura de irradiación requerida por el tejido de acuerdo a su método de conservación (congelado, refrigerado o temperatura ambiente).

También se debe especificar la orientación del embalaje en el contenedor de irradiación. Asimismo, se debe describir la ubicación del contenedor de irradiación en el recinto de irradiación, especificando el sistema de irradiación usado, continuo o estático. Se deben seguir los criterios indicados en la norma ISO 11137- Part 1: 2006 (punto 9.3) [2].

Se colocarán dosímetros para controlar la dosis de radiación absorbida; esta actividad deberá ser realizada en acuerdo con un laboratorio de dosimetría calificado.

b) Mapeo de dosis del tejido procesado en su embalaje

El mapeo de dosis tiene el objetivo de identificar la localización y magnitud de la D_{max} y la D_{min} en el tejido procesado contenido en un embalaje, de acuerdo con el patrón de carga determinado. Algunos tejidos procesados pueden ser heterogéneos en la distribución (forma, densidad o tamaño), requiriendo en tal caso un número suficiente de dosímetros para el ejercicio de mapeo de la dosis. Estos factores deben tomarse en cuenta para asegurar la precisión en la entrega de una dosis a un tejido particular, en la irradiación de rutina.

En caso necesario, la transferencia de una dosis máxima aceptable, una dosis de verificación o una dosis de esterilización, entre dos irradiadores, se debe llevar a cabo de acuerdo con los procedimientos que se indican en la norma ISO 11137- Part 1: 2006 (inciso 8.4) [2].

Revisión y aprobación de la validación

Se deben verificar, registrar y aprobar los documentos generados a través de todas las etapas de la validación para su aplicación en el proceso rutinario de irradiación del tejido procesado.

Como resultado de lo anterior, se elaborará una especificación del proceso rutinario de irradiación que deberá incluir:

- a) Descripción del producto en su embalaje: dimensiones, densidad y orientación.
- b) Patrón de carga del tejido procesado dentro del contenedor de irradiación.
- c) Condiciones ambientales de la irradiación.
- d) Ubicación del contenedor de irradiación en el recinto de irradiación especificando el sistema de irradiación usado, continuo o estático.

- e) Dmax aceptable.
- f) Dmin de esterilización.
- g) Ubicación de los dosímetros de rutina en las posiciones definidas en el ejercicio de mapeo de dosis.

Irradiación de rutina y control del proceso

Para la irradiación de rutina, el embalaje puede contener uno o más lotes de producción del mismo tipo de tejido procesado, que requieran un mismo rango de dosis, previamente determinado. El embalaje deberá respetar el tejido procesado previamente establecida en la calificación del desempeño.

Se recomienda colocar indicadores visuales sensibles a la radiación en el envase o empaque correspondiente a cada unidad de producto o en el embalaje con los tejidos procesados. Estos indicadores muestran únicamente que los tejidos procesados han sido expuestos a un campo de radiación ionizante.

Los dosímetros deberán ser ubicados en las posiciones de dosis mínimas y máximas establecidas en el mapeo dosimétrico.

La trazabilidad se mantendrá durante el proceso de irradiación, mediante los registros que se generen durante la aplicación de las Buenas Prácticas de Irradiación.

Si ocurre una interrupción o no conformidad del proceso de irradiación, estas serán registradas y analizadas junto con cualquier medida que se tome. Este proceso lo deben realizar en forma conjunta los responsables del irradiador y del banco de tejidos.

Liberación del tejido procesado irradiado

La entidad responsable de la instalación de irradiación emitirá un certificado de irradiación, el cual deberá contener como mínimo la siguiente información:

- a) Fecha de irradiación
- b) Número del lote de irradiación
- c) Tipo y número del lote de producción de los tejidos procesados e irradiados

- d) Cantidad de embalajes con los tejidos procesados remitidos
- e) Condiciones ambientales de irradiación
- f) Las dosis mínima y máxima absorbidas por los tejidos procesados.

Mantenimiento de la efectividad del proceso

La efectividad del proceso se demuestra a través de la efectividad de la dosis de esterilización, la verificación de la calibración, el mantenimiento preventivo y la recalificación del equipamiento.

Periódicamente se deberán realizar revalidaciones y cada vez que se produzcan modificaciones en la instalación de irradiación, sistemas o procesos, así como ante cualquier modificación en el proceso de producción del tejido. Norma ISO 11137-Part 1: 2006, (punto 12) [2].

Determinación de la dosis de esterilización

Alcance

Este anexo describe las prácticas y procedimientos para la determinación de la dosis mínima de radiación necesaria para alcanzar un NAE de 10^{-6} . Incluye los métodos de determinación de la carga microbiana del tejido procesado, y la aplicación de esta información para establecer la dosis de esterilización por irradiación.

Selección de muestras de tejidos procesados

Los aloinjertos se pueden preparar a partir de una amplia variedad de tejidos, como piel, amnios, hueso, cartílago, *fascia lata*, pericardio, tendones y ligamentos.

Si a partir de estos tejidos procesados se preparan muestras que sean razonablemente reproducibles en forma, tamaño y composición, y también en número suficiente para fines estadísticos, entonces se aplican los procedimientos usuales de selección de muestras, tal como se indica en la Norma ISO 11137- Part 2: 2006 [3].

Sin embargo, si las unidades de tejidos de un mismo lote de procesamiento son menos de diez y no se pueden considerar productos idénticos, es necesario tomar múltiples PNP <1 , tanto para los ensayos de determinación de la carga microbiana, previos a la esterilización, como para los ensayos de la dosis de verificación.

Es importante conocer la distribución de los microorganismos en la muestra para tomar las PNP de las zonas con mayor carga microbiana. Esto se puede obtener mediante el monitoreo periódico de la producción de tales tejidos.

Porción normalizada de producto (PNP)

La Porción Normalizada de Producto (PNP) es la muestra que se utilizará para la estimación de la carga microbiana y los ensayos de verificación de dosis. Cuando no sea posible usar el producto entero de la unidad del tejido procesado, ya sea por su tamaño o por el escaso número de unidades del lote, se puede sustituir con una porción normalizada de esta.

Estas porciones deben ser homogéneas, no solo en forma, tamaño y composición sino también representativas en la carga microbiana del lote de tejido evaluado.

El valor de la PNP se puede calcular tomando como base medidas de longitud, peso, volumen o superficie, dependiendo de la forma y naturaleza del tejido producido.

Determinación de la carga microbiana

La determinación de la carga microbiana de las muestras del tejido seleccionado podría incluir el recuento de bacterias aerobias, esporas, Gram-negativas, levaduras, hongos y bacterias anaerobias.

Muchos factores determinan la elección de las pruebas más adecuadas para el tejido producido.

Como mínimo se debe realizar una prueba de recuento de bacterias aerobias y hongos. Dependiendo del tipo de tejido y del lote producido, se podrá realizar además el recuento de bacterias anaerobias y bacterias Gram-negativas, entre otros.

Los objetivos de la determinación de la carga microbiana son:

- a) Determinar el número total de microorganismos viables en un tejido procesado en su empaque primario, después de haber completado todas las etapas del procesamiento antes de la esterilización.
- b) Calcular la dosis necesaria para una esterilización por irradiación.
- c) Actuar como un control del proceso de producción del tejido y como sistema de advertencia.

La validación de la estimación de la carga microbiana requiere la determinación de la efectividad y la reproducibilidad del método de ensayo. Se debe calcular el factor de corrección para estimar el valor de la carga microbiana que se utilizará para la determinación de la dosis (ISO 11737- Part 1: 2006 [13]).

Las etapas para estimar la carga microbiana se muestran en la figura I-1.

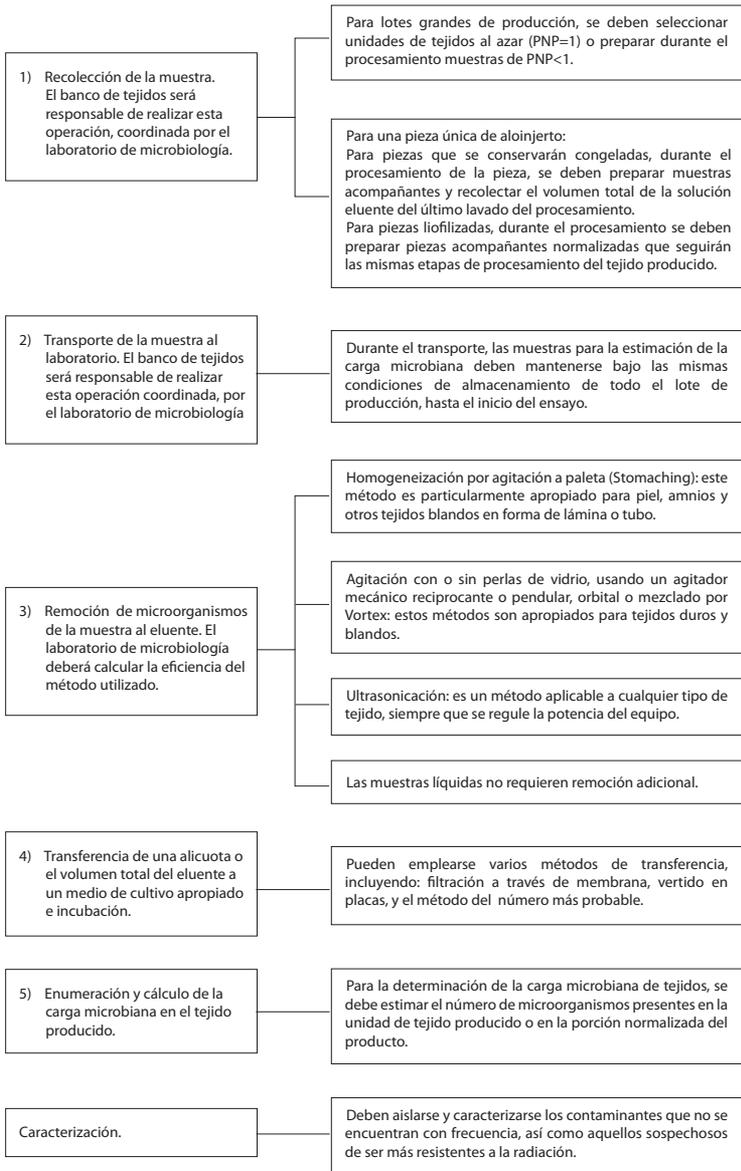


Figura. I-1. Etapas para la estimación de la carga microbiana

Selección del método para determinar la dosis de esterilización

El laboratorio de microbiología, conjuntamente con el banco de tejidos, seleccionará el método para determinar la dosis de esterilización.

Los métodos que aquí se proponen para el establecimiento de una Dosis de Esterilización se basan en métodos estadísticos utilizados para la esterilización de productos para el cuidado de la salud [3], así como un método adaptado apropiadamente para un número generalmente bajo de muestras disponibles de tejidos.

En la figura I-2 se muestran los métodos disponibles.

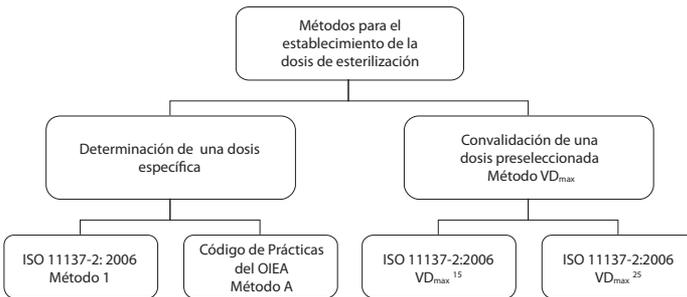


Figura I-2. Métodos para el establecimiento de la dosis de esterilización

Los bancos de tejidos podrán seleccionar entre los siguientes:

Los métodos: 1, VD_{max}^{15} y VD_{max}^{25} , descritos en la norma ISO 11137-2:2006 (punto 7) [3], requieren de la determinación de la carga microbiana y de la verificación experimental de que la resistencia a la radiación de la carga microbiana del tejido procesado es igual o menor a la resistencia de una población microbiana que se comporta de acuerdo a la Distribución Estándar de Resistencias (DER) [7], [8].

El método A es una adaptación del Método 1 de la norma ISO 11137-2: 2006 [1], aplicable para determinar una dosis específica de esterilización con un bajo número de muestras. Requiere de la determinación de la carga microbiana de las muestras (PNP=1 o PNP<1), o del eluente del último lavado del tejido, siempre y cuando la solución y el tejido tengan los mismos tratamientos posteriores.

La Dosis de Verificación puede calcularse para un NAE de entre 10^{-1} a 10^{-2} para valores de carga microbiana desde 0,06 hasta 1 000 ufc (cuadro III-2 al 7).

El ensayo de la Dosis de Verificación se debe realizar, como mínimo, con otras 10 muestras representativas y se puede determinar la Dosis de Esterilización para cargas microbianas de la unidad del tejido producido con valores desde 0,06 hasta 10 000 ufc (cuadro III-8). Este método también se basa en que la resistencia de la carga microbiana del tejido procesado sea igual o menor a la resistencia de una población microbiana que se comporta de acuerdo a la Distribución Estándar de Resistencias (DER).

En el siguiente cuadro se resumen los requerimientos mínimos de las muestras de tejidos necesarias para realizar los ensayos correspondientes para la determinación de la dosis de esterilización y algunas características de los métodos propuestos.

Cuadro I-1. Requerimientos y características de los ensayos para la determinación de la dosis de esterilización

Requerimientos y características	Métodos				Método A
	Método 1 ISO 11137-2: 2006	VD max ¹⁵ ISO 11137-2: 2006	VD max ²⁵ ISO 11137-2: 2006		
Número de muestras para la determinación de carga microbiana	10	10	10		10 o líquido de lavado
Número de muestras para ensayo de verificación de dosis	100 (para NAE 10 ⁻²)	10 (para NAE 10 ⁻¹)	10 (para NAE 10 ⁻¹)		10 a 100 (para NAE de 10 ⁻¹ a 10 ⁻²)
Recuento mínimo y máximo por unidad de producto (ufc)	0,1 - 1 000 000	<ó=1,5	<ó= 1 000		0,06 - 10 000
Tamaño del PNP	1 / < 1	1	1 / < 1		1 / < 1
Dosis de esterilización (NAE 10 ⁻⁶)	Específica según carga microbiana de la unidad de producto	Dosis preseleccionada de 15 kGy	Dosis preseleccionada de 25 kGy		Específica según carga microbiana de la unidad de producto
Aplicable a lotes	Únicos o múltiples	Únicos o múltiples	Únicos o múltiples		Únicos o múltiples

Procedimiento del método A

Lote único de producción

Obtención de la muestra

Esta etapa deberá realizarse entre el banco de tejidos y el laboratorio de microbiología, de acuerdo con un instructivo previamente concertado. En el mismo se deberá definir si la muestra será la unidad del tejido procesado ($PNP = 1$), una porción de ella ($PNP < 1$) o el eluente perteneciente al último lavado del tejido procesado con piezas acompañantes.

Las muestras se deben preparar a partir del mismo tejido en proceso y deberán seguir todos los pasos del procesamiento hasta su envasado y la misma condición de almacenamiento de la unidad o unidades del lote correspondiente al tejido procesado. Las muestras deben conservarse y transportarse en estas condiciones hasta el momento de realizarse los ensayos de determinación de la carga microbiana y durante la irradiación con la dosis de verificación.

Se requerirán como mínimo 20 muestras acondicionadas de igual manera que el lote del tejido procesado que se va a esterilizar.

Para determinar la carga microbiana de piezas óseas masivas o estructuradas congeladas, donde no es posible obtener muestras, se podrá utilizar el eluente del último lavado del tejido previo a su empaque. Debe indicarse el volumen del eluente y su correspondencia con el volumen total utilizado en el último líquido de lavado.

Los ensayos de control de esterilidad se podrán realizar con piezas acompañantes después de haber sido irradiadas, en estado congelado, con la dosis de verificación. Si el eluente se mantiene refrigerado, se debe realizar el ensayo de determinación de la carga microbiana antes de transcurridos 15 minutos desde la finalización del lavado de la pieza de tejido procesado; en caso contrario, el eluente se debe congelar a la misma temperatura en que se conservará la pieza del tejido.

En el caso de piezas óseas masivas o estructuradas liofilizadas, las muestras para realizar los ensayos para determinar la dosis de esterilización podrán consistir de piezas acompañantes preparadas a partir del propio tejido en proceso y que hayan seguido el mismo Procedimiento Operativo Estandarizado (POE) del tejido producido.

Determinación de la carga microbiana

Este paso se llevará a cabo de acuerdo con la Norma 11737-1:2006 [13], en la cual se describen distintas metodologías de ensayos (que se resumen en la Figura I-1). En dicha norma, también se detalla la forma de validación de la técnica de determinación de la carga microbiana, para calcular el factor de corrección de la eficiencia del método de recuperación microbiana.

La carga de microorganismos aerobios mesofílicos se deberá determinar sobre 10 muestras individuales como mínimo. Cuando el resultado de la misma sea igual o menor a 10 ufc por muestra y con valores que no superen el 100% de variabilidad, se podrá considerar agrupar las muestras para su ensayo. En el caso de que se utilice eluente, se expresará el resultado en función de la pieza del tejido procesado.

Cuando corresponda, se tomarán muestras adicionales para la determinación de otros microorganismos, tales como bacterias anaerobias, bacterias Gram-negativas, hongos y levaduras, entre otros.

Selección de la dosis de verificación (DV)

Se obtendrá la dosis de verificación a partir del cuadro III-2, 3, 4, 5, 6 y 7, utilizando:

- a) El resultado de la carga microbiana promedio de las diez muestras analizadas, de acuerdo al NAE seleccionado; en el caso de $PNP < 1$, se utilizará la carga microbiana de este para obtener la dosis de verificación.

- b) El resultado de la carga microbiana obtenido del ensayo de cuantificación del eluente, expresado en función de la dimensión (peso, volumen) de la pieza.

Acondicionamiento de las muestras para la irradiación con la DV

Las muestras obtenidas para el ensayo de verificación de la dosis se deben acondicionar de manera tal que durante el traslado y la irradiación se mantenga la misma condición de conservación del tejido procesado (por ejemplo, para muestras congeladas se colocará hielo seco en el embalaje, junto con ellas).

Irradiación de las muestras para el ensayo de la DV

Las muestras acondicionadas en su embalaje serán irradiadas con la DV calculada. Previamente, el irradiador habrá colocado dosímetros en las ubicaciones de dosis máxima y mínima localizadas por mapeo dosimétrico. Se verifica la dosis absorbida, donde la dosis más alta recibida por las muestras no deberá ser mayor del 10% y la media aritmética de la dosis más alta y la más baja deberá ser mayor al 90% de la DV, Si no se cumplen estos rangos de dosis, se debe repetir el ensayo de verificación de dosis.

Ensayo de verificación de la resistencia de los microorganismos a la radiación

Las muestras irradiadas con la DV serán sometidas individualmente a un ensayo de esterilidad, de acuerdo con la ISO 11737-2:2009 [14]. En caso de que se determinen otros microorganismos, deben considerarse muestras adicionales (10 muestras por tipo de microorganismo).

Interpretación de los resultados

El ensayo de la dosis de verificación realizado con hasta 30 muestras (PNP 1 o <1), acepta la verificación estadística si no se observa más de un ensayo de esterilidad positivo. Para 30 a

100 muestras (PNP 1 o <1), se acepta la verificación estadística si no se observan más de dos ensayos de esterilidad positivos. Cabe señalar que el grado de protección al aceptar estos límites varía según el tamaño de la muestra tomada [15].

No se aceptará la verificación si los controles de esterilidad positivos superan los valores indicados. Si estos resultados se atribuyen a procedimientos incorrectos de determinación de la carga microbiana, o del ensayo de esterilidad o la entrega incorrecta de la dosis de verificación, se debe proceder a una acción correctiva.

Cálculo de la dosis de esterilización

La dosis de esterilización se obtendrá del cuadro III-8 a partir de la carga microbiana determinada por unidad del tejido procesado.

Cuando se use la unidad de tejido procesado para los ensayos (PNP =1), se obtendrá la dosis de esterilización utilizando el valor de carga microbiana promedio.

Si se utiliza un PNP <1 , se debe calcular la carga microbiana promedio de la unidad de tejido procesado de mayor magnitud.

Lotes múltiples de producción

Obtención de la muestra

En esta etapa se procederá de igual manera que para el lote único de producción, pero los ensayos para determinar la dosis de esterilización se realizarán sobre muestras provenientes de tres lotes consecutivos de producción de tejidos del mismo tipo y producidos bajo un mismo POE. Como mínimo se requerirán 20 muestras por lote y serán conservadas de igual manera que el lote del tejido procesado, hasta el momento de su ensayo.

Determinación de la carga microbiana

En esta etapa se procede de la misma manera que para un lote único. La carga microbiana se deberá determinar como

mínimo sobre diez muestras individuales de cada uno de los tres lotes producidos en forma consecutiva.

Cuando corresponda, se tomarán muestras adicionales de cada lote de producción para determinar otros microorganismos, tales como bacterias anaerobias, bacterias Gram-negativas, hongos y levaduras.

Cuando el resultado de la carga microbiana promedio por lote sea igual o menor a 10 ufc por muestra y con valores que no superen el 100% de variabilidad, se podrá considerar agrupar las muestras pertenecientes a cada lote para su ensayo.

Selección de la dosis de verificación (DV)

La dosis de verificación se obtendrá a partir del cuadro III-2, 3, 4, 5, 6 y 7, utilizando el resultado de la carga microbiana promedio del lote del tejido procesado más contaminado que se haya encontrado, ya sea $PNP = 1$, $PNP < 1$ o eluente.

Acondicionamiento de las muestras para la irradiación con la DV

Las muestras del lote más contaminado obtenidas para la verificación de dosis serán acondicionadas en el contenedor de irradiación de muestras, de tal manera que mantengan las mismas características de conservación durante su irradiación con la DV, que la irradiación de la totalidad del tejido producido con la dosis de esterilización determinada (por ejemplo, para tejidos procesados que se conservan congelados, las muestras deberán estar congeladas durante el transporte y la irradiación).

Irradiación de las muestras con la dosis de verificación para el ensayo de comprobación de la resistencia de los microorganismos a la radiación

Las muestras acondicionadas y embaladas se irradiarán con la DV calculada. Se colocarán dosímetros en el embalaje de las muestras para controlar la dosis de radiación absorbida; esta actividad debe efectuarse en coordinación con un laboratorio de dosimetría calificado.

Si la dosis más alta que reciben las muestras excede el 10% de la DV solicitada, o si la media aritmética entre la dosis más alta y la más baja entregada al producto es inferior al 90% de la DV, el ensayo de la DV se repetirá.

Ensayo de verificación de la resistencia de los microorganismos a la radiación

Cada muestra irradiada con la DV será sometida a un ensayo de esterilidad de acuerdo con la norma ISO 11737-2: 2009 [14]. En caso de determinarse otros microorganismos, se deben considerar muestras adicionales (10 muestras por tipo de microorganismo).

Se aceptará la verificación si no hay más de 1 ensayo de esterilidad positivo para un NAE entre 1/10 y 1/90, y en caso de un NAE de 1/100 se aceptarán hasta dos ensayos de esterilidad positivos.

Cálculo de la dosis de esterilización

La dosis de esterilización se obtendrá del cuadro III-8.

Cuando se use la unidad de tejido procesado para los ensayos (PNP =1), la dosis de esterilización se obtendrá utilizando el valor de carga microbiana promedio del lote más contaminado que se haya encontrado. Si se utiliza un PNP <1, se debe calcular la carga microbiana promedio de la unidad de tejido procesado de mayor magnitud del lote más contaminado.

Uso rutinario de la dosis de esterilización

Para que la dosis de esterilización determinada siga siendo válida, el tejido seleccionado tiene que producirse bajo condiciones controladas, es decir bajo el mismo POE, que produzca en los sucesivos lotes una carga microbiana estable en términos de número y tipos de microorganismos.

Para demostrar la continuidad de la validez de la dosis de esterilización, se deben realizar auditorías de la dosis de esterilización a intervalos regulares previamente especificados.

Estos intervalos de tiempo máximos especificados se basan en:

- a) La experiencia adquirida en la aplicación de métodos de establecimiento de la dosis.
- b) La necesidad de detectar modificaciones en los procesos y materiales de producción, y el consenso del grado de riesgo aceptado asociado con la frecuencia de la búsqueda de tales modificaciones.
- c) La posibilidad de modificaciones estacionales, de condiciones de procuración u otras variaciones en la calidad microbiológica de los materiales y el ambiente de procesamiento.

Se recomienda realizar una determinación de la carga microbiana para cada lote de producción.

Auditoría de la dosis de esterilización

Para demostrar que la carga microbiana de los lotes sucesivos es consistente con la dosis de esterilización calculada, se deben realizar auditorías periódicas para reconfirmar la dosis de esterilización.

Procedimiento:

- a) Se determina la carga microbiana con 10 muestras de un lote de producción, utilizando la misma PNP y método de ensayo, como se usó para determinar la dosis de esterilización.
- b) Se irradia el mismo número de unidades de producto (PNP=1) o fracciones de la misma (PNP<1) utilizadas al determinar la dosis de esterilización (n : 10, 20, ... o 100) a la dosis de verificación calculada anteriormente y en las mismas condiciones de irradiación.
- c) Se realizan ensayos de esterilidad individuales de las muestras irradiadas y luego de la incubación correspondiente se determina el número de ensayos positivos. El procedimiento para la interpretación de los resultados se realiza como el utilizado en el ensayo de la dosis de verificación.

- d) Si hay hasta un ensayo de esterilidad positivo, no se requiere acción alguna y se confirma que la dosis de esterilización establecida sigue siendo válida.
- e) Si hay dos resultados positivos, si éste es atribuido a un incorrecto ensayo de esterilidad o entrega incorrecta de la dosis de verificación, se deberá repetir la irradiación de las muestras y los correspondientes ensayos de esterilidad, y si éste no es atribuido a un incorrecto ensayo de esterilidad o entrega incorrecta de la dosis de verificación, se deberá proceder a restablecer la dosis de esterilización.
- f) Si hay más de tres ensayos positivos y no muestran un incremento de la carga microbiana, puede haber cambiado la radio-resistencia de los microorganismos, en consecuencia, se invalida el uso de la DER asumida. En este caso, no puede aumentarse la dosis de esterilización originalmente establecida y se debe establecer una nueva dosis de esterilización por otro método.

Anexo II

Ejemplos prácticos de procedimientos para la validación del proceso de irradiación. Determinación de la dosis mínima de esterilización por el método A

Cuadro II-1. Lote único de tejido óseo molido congelado o liofilizado

Etapa	Valor	Comentario
1.		
Tamaño del lote de producción	70	Unidad de producto de hueso molido congelado o liofilizado: 1 cm ³ o g
2.		
Muestras requeridas	20	Todas las muestras se mantuvieron congeladas hasta el momento del ensayo o a temperatura ambiente en el caso de tejidos liofilizados.
PNP	1	Se usa la unidad de producto.
3.		
Número de muestras para la determinación de la carga microbiana	10	Muestras de hueso molido de 1 cm ³ o 1 g cada una (PNP = 1).
Número de muestras para el ensayo de la verificación de dosis	10	Dosis de verificación para alcanzar un NAE de 1/10.

Continúa...

Continuación

4.		
Determinación de la carga microbiana	3, 4, 3, 2, 6, 2, 4, 3, 2 y 1 ufc/ muestra de tejido procesado. Promedio: 3 ufc	Los ensayos se realizaron por el método de filtración por membrana.
5.		
Cálculo de la DV	2,0 kGy	Se utilizó el cuadro III-3.
Irradiación con la DV: de las muestras congeladas mantenidas en este estado durante la irradiación o a temperatura ambiente cuando el tejido se conserva liofilizado	2,1 kGy (dosis absorbida)	Se acepta la irradiación porque la dosis absorbida se encuentra en el rango $\pm 10\%$ de DV.
Ensayo de verificación de la radio-resistencia de los microorganismos e interpretación de resultados	Cero ensayos de esterilidad positivos de diez muestras.	Los controles de esterilidad se realizaron por inmersión directa en medio de cultivo. El ensayo de verificación fue satisfactorio.
6.		
Dosis de esterilización	15,8 kGy	Para la obtención de la dosis de esterilización se utilizó el cuadro III-8 y el valor promedio de la carga microbiana de la unidad de producto: 3 ufc.

Cuadro II-2. Lotes múltiples de hueso molido liofilizado

Etapa	Valor	Comentario
1.		
Cantidad de lotes	3	Producidos sucesivamente bajo el mismo POE.
Tamaño de cada lote de producción	150	150 unidades de producto de hueso molido liofilizado de 1 g, para cada lote de producción.
2.		
PNP	0,5	Se seleccionó ½ porción de la unidad de producto. Muestras de 0,5 g (PNP=1/2).
Muestras requeridas	60	20 PNP de cada lote de producción.
3.		
Número de muestras para la determinación de la carga microbiana	30	10 PNP por cada lote
Número de muestras para el ensayo de la verificación de dosis	30	Se usarán solo las 10 PNP del lote más contaminado.
4.		
Promedio de la carga microbiana de las PNP del lote 1	3, 4, 3, 2, 6, 2, 4, 3, 2 y 1 Promedio: 3 ufc	Los ensayos se realizaron por el método de filtración por membrana y los hizo el mismo analista.
Promedio de la carga microbiana de las PNP del lote 2	5, 6, 4, 5, 4, 5, 3, 4, 4 y 6. Promedio: 4,6 ufc	
Promedio de la carga microbiana de las PNP del lote 3	2, 3, 3, 4, 2, 3, 2, 2, 4 y 3 Promedio: 2,8 ufc	

Continúa...

Continuación

Etapa	Valor	Comentario
5.		
Cálculo de la DV	2,4 kGy	Se utilizó el cuadro III-4, teniendo en cuenta la carga microbiana del lote 2, debido a que resultó el de mayor carga microbiana. En dicho cuadro no se encuentra el valor de 4,6 ufc, por lo que se seleccionó el valor inmediato superior (5 ufc).
6.		
Irradiación de las muestras liofilizadas con la DV	2,3 kGy (dosis absorbida)	Se acepta la irradiación porque la dosis absorbida se encuentra en el rango de $\pm 10\%$ de la DV calculada.
7.		
Ensayo de verificación de la resistencia de los microorganismos	Cero ensayos de esterilidad positivos de diez muestras	Los controles de esterilidad se realizaron por inmersión directa en medio de cultivo líquido. El ensayo de verificación fue satisfactorio.
8.		
Cálculo de la carga microbiana de la unidad del tejido procesado	9,2 ufc	Carga microbiana para la unidad de producto: $4,6 \text{ ufc} / 0,5 = 9,2 \text{ ufc}$.
Dosis de esterilización	17,6 kGy	Para la obtención de la dosis de esterilización se utilizó el cuadro III-8 y el valor promedio de la carga microbiana (9,2 ufc). En ese cuadro no se encuentra el valor de 9,2 ufc, por lo que se seleccionó el valor inmediato superior (10 ufc).

Cuadro III-3. Pieza única de hueso congelado

Etapa	Valor	Comentario
1.		
Tamaño del lote de producción	1	Diáfisis de 48 cm ³ de hueso congelado.
2.		
Muestras requeridas	500 cm ³ de eluente 10 muestras acompañantes de 1 cm ³ cada una	Todas las muestras se mantuvieron congeladas hasta realizar el ensayo.
3.		
Muestra para la determinación de la carga microbiana	500 cm ³	El líquido del último lavado representa la unidad de producto (PNP =1).
Número de muestras para el ensayo de la verificación de dosis	10	La porción de 1 cm ³ corresponde a un PNP de 0,02 (1/48).
4.		
Promedio de la carga microbiana del eluente	300 ufc	Corresponde a los 500 cm ³ de líquido o 48 cm ³ de hueso.
Estimación de la carga microbiana de las muestras acompañantes para los ensayos de DV	6 ufc	Corresponde a 1 cm ³ de muestra (300 ufc x 0,02).
5.		
Cálculo de la DV	2,5 kGy	Se utilizó el cuadro III-4.

Continúa...

Continuación

Etapa	Valor	Comentario
6.		
Irradiación de las muestras acompañantes congeladas con la DV	2,6kGy (dosis absorbida)	Se acepta la irradiación porque la dosis absorbida se encuentra en el rango de $\pm 10\%$ de la DV.
7.		
Ensayo de verificación de la resistencia de los microorganismos	Cero ensayos de esterilidad positivos de diez muestras	Los controles de esterilidad se realizaron por inmersión directa en medio de cultivo. El ensayo de verificación fue satisfactorio.
8.		
Dosis de esterilización	22,9 kGy	Se utilizó el cuadro III-8, teniendo en cuenta el valor de carga microbiana de la pieza única (300 ufc).

Cuadro III-4. Lote de piel congelada

Este ejemplo es aplicable a otros tejidos laminares.

Etapa	Valor	Comentario
1.		
Tamaño del lote de producción	2500 cm ² de piel congelada	25 unidades de producto, de 100 cm ² cada una.
Muestras requeridas	20	Muestras de 1 cm ² cada una. Todas las muestras se mantuvieron congeladas hasta realizar el ensayo.
PNP	0,01	1 cm ² / 100 cm ²
2.		
Número de muestras para la determinación de la carga microbiana	10	
Número de muestras para el ensayo de verificación de la dosis	10	
3.		
Promedio de la carga microbiana para PNP=0,01	45, 43, 50, 51, 51, 44, 50, 51, 50 y 47 Promedio 48,2 ufc/ cm ²	Los ensayos se realizaron por el método de filtración por membrana.
4.		
Cálculo de la DV	4,5 kGy	Se utilizó el cuadro III-5. En ese cuadro no se encuentra el valor de 48,2 ufc, por lo que se seleccionó el valor inmediato superior (50 ufc).
5.		
Irradiación de las muestras manteniéndose las mismas condiciones de conservación del tejido con la DV	4,6 kGy (dosis absorbida)	Se acepta la irradiación porque la dosis absorbida se encuentra en el rango de $\pm 10\%$ de la DV calculada.

Continúa

Continuación

Etapa	Valor	Comentario
6.		
Ensayo de verificación de la resistencia de los microorganismos	Cero ensayos de esterilidad positivos de diez muestras	Los controles de esterilidad se realizaron por inmersión directa en el medio de cultivo. El ensayo de verificación fue satisfactorio.
7.		
Cálculo de la carga microbiana de la unidad del tejido procesado	4 820 ufc	48,2 ufc x 100 cm ²
8.		
Dosis de esterilización	27,4 kGy	Para la obtención de la dosis de esterilización se utilizó el cuadro III-8, teniendo en cuenta el valor de carga microbiana de la unidad del tejido procesado (4 820 ufc).

Anexo III

Cuadros

El cuadro III-1 corresponde a la distribución estándar de resistencias (DER) de una población microbiana expresada en términos de valores de D10 y la probabilidad de incidencia en la población total [7].

Los cuadros III-2, III-3, III-4, III-5, III-6 y III-7 fueron calculados específicamente, para el Método A presentado en este Código de Prácticas, para cargas microbianas entre 0,06 ufc y 1 000 ufc y las dosis necesarias para valores de NAE entre 10-1 y 10-2, para poder realizar ensayos con bajo número de muestras para la verificación de resistencias de una población de microorganismos de los tejidos producidos por los bancos.

El cuadro III-8 corresponde a la Dosis de Radiación (kGy) requerida para alcanzar un nivel de aseguramiento de esterilidad (NAE) de 10-6 para cargas microbianas de 0,06 a 10 000 ufc que tienen una Distribución Estándar de Resistencias. Cuyos valores corresponden a las tablas 5 y 6 de la norma ISO 11137-2: 2006 [3] y completadas para los valores de cargas microbianas de 006 a 0,1 sobre la base de DER [3], [12].

Cuadro III-1. Distribución Estándar de Resistencias (DER) usada en el Método A (Whitby and Gelda, 1979) [1].

D ₁₀ kGy	1,0	1,5	2,0	2,5	2,8	3,1	3,4	3,7	4,0	4,2
Probabilidad (%)	65,487	22,493	6,302	3,179	1,213	0,786	0,350	0,111	0,072	0,007

Cuadro III-2. Dosis de radiación (kGy) requerida para alcanzar un determinado nivel de aseguramiento de esterilidad para diferentes cargas microbianas (ufc) que tienen una distribución estándar de resistencias

Tamaño de muestra (n*)	NAE (1/n)	Carga microbiana																
		0.06	0.08	0.09	0.1	0.12	0.14	0.17	0.19	0.22	0.26	0.29	0.34	0.39	0.44	0.5	0.57	
10	1/10																	
15	1/15										0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0	1.1
20	1/20				0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	1.7
25	1/25		0.4	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	1.7	1.8
30	1/30		0.5	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	1.7	1.8	1.9
35	1/35	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	1.7	1.8	1.9	2.0
40	1/40	0.5	0.6	0.7	0.7	0.8	0.9	1.0	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	1.7	1.8	1.9	2.0
45	1/45	0.5	0.7	0.7	0.8	0.9	1.0	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	1.7	1.8	1.9	2.0	2.1
50	1/50	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0	1.1	1.2	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	1.7	1.8	1.9	2.0	2.1
60	1/60	0.7	0.9	0.9	1.0	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	1.6	1.7	1.8	1.9	2.0	2.1	2.2
70	1/70	0.8	0.93	1.0	1.1	1.2	1.3	1.4	1.4	1.5	1.7	1.7	1.9	2.0	2.1	2.2	2.3	2.4
80	1/80	0.8	1.0	1.1	1.1	1.2	1.3	1.5	1.5	1.6	1.7	1.8	1.9	2.0	2.1	2.2	2.3	2.4
90	1/90	0.9	1.1	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	1.7	1.8	1.9	2.0	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5
100	1/100	1.0	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	1.7	1.8	1.9	2.0	2.1	2.1	2.3	2.4	2.5	2.5

*n: Número de muestras para el ensayo de verificación de dosis.

Cuadro III-3. Dosis de radiación (kGy) requerida para alcanzar un determinado nivel de aseguramiento de esterilidad para diferentes cargas microbianas (ufc) que tienen una distribución estándar de resistencias.

Tamaño de muestra (n*)	NAE (1/n)	Carga microbiana															
		0.65	0.73	0.83	0.93	1.0	1.2	1.4	1.6	1.8	2.0	2.2	2.6	3.0	3.2	4.0	4.4
10	1/10	1.0	1.1	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	1.7	1.7	1.8	1.9	2.0	2.1	2.2	2.3
15	1/15	1.3	1.3	1.4	1.5	1.5	1.7	1.8	1.9	1.9	2.0	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	2.6
20	1/20	1.4	1.5	1.6	1.7	1.7	1.9	2.0	2.1	2.2	2.2	2.3	2.4	2.5	2.6	2.8	2.9
25	1/25	1.6	1.7	1.7	1.8	1.9	2.0	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	2.6	2.7	2.8	3.0	3.0
30	1/30	1.7	1.8	1.9	2.0	2.1	2.1	2.3	2.4	2.5	2.5	2.6	2.7	2.9	2.9	3.1	3.2
35	1/35	1.8	1.9	2.0	2.1	2.1	2.3	2.4	2.5	2.6	2.7	2.8	2.9	3.0	3.1	3.3	3.4
40	1/40	1.9	2.0	2.1	2.2	2.2	2.4	2.5	2.6	2.7	2.8	2.9	3.0	3.1	3.2	3.4	3.5
45	1/45	2.0	2.1	2.2	2.3	2.3	2.5	2.6	2.7	2.8	2.9	3.0	3.1	3.2	3.3	3.5	3.6
50	1/50	2.1	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	2.7	2.8	2.9	3.0	3.0	3.2	3.3	3.4	3.6	3.7
60	1/60	2.2	2.3	2.4	2.5	2.5	2.7	2.8	2.9	3.0	3.1	3.2	3.4	3.5	3.5	3.8	3.9
70	1/70	2.3	2.4	2.5	2.6	2.7	2.8	2.9	3.0	3.2	3.3	3.3	3.5	3.6	3.7	3.9	4.0
80	1/80	2.4	2.5	2.6	2.7	2.8	2.9	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5	3.6	3.8	3.8	4.0	4.1
90	1/90	2.5	2.6	2.7	2.8	2.9	3.0	3.2	3.3	3.4	3.5	3.6	3.7	3.9	3.9	4.1	4.2
100	1/100	2.6	2.7	2.8	2.9	3.0	3.1	3.2	3.4	3.5	3.6	3.7	3.8	4.0	4.0	4.2	4.3

*n: Número de muestras para el ensayo de verificación de dosis.

Cuadro III-4. Dosis de radiación (kGy) requerida para alcanzar un determinado nivel de aseguramiento de esterilidad para diferentes cargas microbianas (ufc) que tienen una distribución estándar de resistencias

Tamaño de muestra (n*)	NAE (1/n)	Carga microbiana															
		5.0	5.4	6.0	7.0	8.0	9.0	10	11	12	13	14	15	16	17		
10	1/10	2.4	2.5	2.5	2.7	2.8	2.9	3.0	3.0	3.1	3.2	3.3	3.3	3.4	3.4		
15	1/15	2.7	2.8	2.9	3.0	3.1	3.2	3.4	3.5	3.6	3.7	3.7	3.8	3.8	3.9		
20	1/20	3.0	3.0	3.1	3.3	3.4	3.5	3.6	3.7	3.7	3.8	3.9	4.0	4.0	4.1		
25	1/25	3.2	3.2	3.3	3.5	3.6	3.7	3.8	3.9	4.0	4.0	4.1	4.2	4.2	4.3		
30	1/30	3.3	3.4	3.5	3.6	3.8	3.9	4.1	4.1	4.2	4.3	4.4	4.4	4.5	4.6		
35	1/35	3.5	3.6	3.6	3.8	3.9	4.0	4.1	4.2	4.3	4.4	4.4	4.5	4.6	4.6		
40	1/40	3.6	3.7	3.8	3.9	4.0	4.2	4.3	4.4	4.4	4.5	4.6	4.7	4.7	4.8		
45	1/45	3.7	3.8	3.9	4.0	4.2	4.3	4.4	4.5	4.6	4.7	4.7	4.8	4.9	4.9		
50	1/50	3.8	3.9	4.0	4.1	4.3	4.4	4.4	4.5	4.6	4.7	4.8	4.9	4.9	5.0		
60	1/60	4.0	4.1	4.2	4.3	4.4	4.6	4.7	4.8	4.9	5.0	5.0	5.1	5.2	5.3		
70	1/70	4.1	4.2	4.3	4.5	4.6	4.7	4.8	4.9	5.0	5.1	5.2	5.3	5.3	5.4		
80	1/80	4.2	4.3	4.4	4.6	4.7	4.9	5.0	5.1	5.2	5.3	5.3	5.4	5.5	5.6		
90	1/90	4.4	4.5	4.6	4.7	4.8	5.0	5.1	5.2	5.3	5.4	5.5	5.6	5.6	5.7		
100	1/100	4.5	4.6	4.7	4.8	5.0	5.1	5.2	5.3	5.4	5.5	5.6	5.7	5.7	5.8		

*n: Número de muestras para el ensayo de verificación de dosis.

Cuadro III-5. Dosis de radiación (kGy) requerida para alcanzar un determinado nivel de aseguramiento de esterilidad para diferentes cargas microbianas (ufc) que tienen una distribución estándar de resistencias

Tamaño de muestra (n*)	NAE (1/m)	Carga microbiana														
		18	19	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80
10	1/10	3.5	3.5	3.6	3.8	4.0	4.1	4.3	4.4	4.5	4.6	4.7	4.8	4.8	4.9	5.0
15	1/15	4.0	4.0	4.1	4.3	4.5	4.6	4.8	4.9	5.0	5.1	5.2	5.3	5.4	5.4	5.5
20	1/20	4.1	4.2	4.2	4.5	4.6	4.8	5.0	5.1	5.2	5.3	5.4	5.5	5.6	5.6	5.7
25	1/25	4.3	4.4	4.5	4.7	4.9	5.0	5.2	5.3	5.4	5.5	5.6	5.7	5.8	5.9	5.9
30	1/30	4.6	4.7	4.7	5.0	5.2	5.3	5.5	5.6	5.7	5.8	5.9	6.0	6.1	6.2	6.2
35	1/35	4.7	4.7	4.8	5.0	5.2	5.4	5.6	5.7	5.9	6.0	6.1	6.2	6.2	6.3	6.4
40	1/40	4.9	4.9	5.0	5.2	5.4	5.6	5.7	5.9	6.0	6.1	6.2	6.3	6.4	6.5	6.6
45	1/45	5.0	5.1	5.1	5.4	5.6	5.7	5.9	6.0	6.1	6.3	6.4	6.4	6.5	6.6	6.7
50	1/50	5.0	5.1	5.1	5.4	5.6	5.7	5.9	6.0	6.1	6.2	6.3	6.4	6.5	6.6	6.7
60	1/60	5.3	5.4	5.4	5.7	5.9	6.1	6.2	6.4	6.5	6.6	6.7	6.8	6.9	7.0	7.0
70	1/70	5.5	5.5	5.6	5.9	6.1	6.2	6.4	6.5	6.7	6.8	6.9	7.0	7.1	7.2	7.2
80	1/80	5.6	5.7	5.7	6.0	6.2	6.4	6.6	6.7	6.8	6.9	7.0	7.1	7.2	7.3	7.4
90	1/90	5.8	5.8	5.9	6.1	6.3	6.5	6.7	6.8	7.0	7.1	7.2	7.3	7.4	7.5	7.5
100	1/100	5.9	5.9	6.0	6.3	6.5	6.6	6.8	7.0	7.1	7.2	7.3	7.4	7.5	7.6	7.7

*n: Número de muestras para el ensayo de verificación de dosis.

Cuadro III-6. Dosis de radiación (kGy) requerida para alcanzar un determinado nivel de aseguramiento de esterilidad para diferentes cargas microbianas (ufc) que tienen una distribución estándar de resistencias

Tamaño de muestra (n*)	NAE (1/n)	Carga microbiana											
		85	90	95	100	150	200	250	300	350	400	450	500
10	1/10	5.0	5.1	5.2	5.2	5.7	6.0	6.2	6.5	6.6	6.7	6.9	7.1
15	1/15	5.6	5.6	5.7	5.8	6.2	6.6	6.8	7.0	7.2	7.4	7.5	7.7
20	1/20	5.8	5.8	5.9	5.9	6.4	6.8	7.0	7.2	7.4	7.6	7.7	7.8
25	1/25	6.0	6.1	6.1	6.2	6.7	7.0	7.3	7.5	7.7	7.9	8.0	8.1
30	1/30	6.3	6.4	6.4	6.5	7.0	7.3	7.6	7.8	8.0	8.2	8.3	8.5
35	1/35	6.5	6.5	6.6	6.7	7.1	7.5	7.8	8.0	8.2	8.4	8.5	8.7
40	1/40	6.6	6.7	6.8	6.8	7.3	7.7	7.9	8.2	8.4	8.5	8.7	8.8
45	1/45	6.8	6.8	6.9	7.0	7.5	7.8	8.1	8.3	8.5	8.7	8.9	9.0
50	1/50	6.9	7.0	7.0	7.1	7.6	7.9	8.2	8.5	8.7	8.8	9.0	9.1
60	1/60	7.1	7.2	7.3	7.3	7.8	8.2	8.5	8.7	8.9	9.1	9.2	9.4
70	1/70	7.3	7.4	7.4	7.5	8.0	8.4	8.7	8.9	9.1	9.3	9.4	9.6
80	1/80	7.5	7.5	7.6	7.7	8.2	8.5	8.8	9.1	9.3	9.4	9.6	9.7
90	1/90	7.6	7.7	7.8	7.8	8.3	8.7	9.0	9.2	9.4	9.6	9.8	9.9
100	1/100	7.7	7.8	7.9	7.9	8.5	8.8	9.1	9.4	9.5	9.7	9.9	10.0

*n: Número de muestras para el ensayo de verificación de dosis.

Cuadro III-7. Dosis de radiación (kGy) requerida para alcanzar un determinado nivel de aseguramiento de esterilidad para diferentes cargas microbianas (ufc) que tienen una distribución estándar de resistencias

Tamaño de muestra (n*)	NAE (1/n)	Carga microbiana									
		550	600	650	700	750	800	850	900	950	1000
10	1/10	7.2	7.3	7.4	7.5	7.6	7.6	7.7	7.8	7.9	7.9
15	1/15	7.8	7.9	8.0	8.1	8.2	8.2	8.3	8.4	8.5	8.5
20	1/20	8.0	8.1	8.2	8.3	8.4	8.5	8.5	8.6	8.7	8.7
25	1/25	8.2	8.4	8.5	8.5	8.6	8.7	8.8	8.9	8.9	9.0
30	1/30	8.6	8.7	8.8	8.9	9.0	9.0	9.1	9.2	9.3	9.3
35	1/35	8.8	8.9	9.0	9.1	9.2	9.3	9.3	9.4	9.5	9.6
40	1/40	9.0	9.1	9.2	9.3	9.4	9.4	9.5	9.6	9.7	9.7
45	1/45	9.1	9.2	9.3	9.4	9.5	9.6	9.7	9.8	9.8	9.9
50	1/50	9.2	9.3	9.5	9.6	9.7	9.7	9.8	9.9	10.0	10.0
60	1/60	9.5	9.6	9.7	9.8	9.9	10.0	10.1	10.1	10.2	10.3
70	1/70	9.7	9.8	9.9	10.0	10.1	10.2	10.3	10.3	10.4	10.5
80	1/80	9.9	10.0	10.1	10.2	10.3	10.4	10.4	10.5	10.6	10.7
90	1/90	10.0	10.1	10.2	10.3	10.4	10.5	10.6	10.7	10.8	10.8
100	1/100	10.2	10.3	10.4	10.5	10.6	10.6	10.7	10.8	10.9	11.0

*n: Número de muestras para el ensayo de verificación de dosis.

Cuadro III-8. Dosis de Radiación (kGy) requerida para alcanzar un nivel de aseguramiento de esterilidad (NAE) de 10^{-6} para diferentes cargas microbianas (ufc) que tienen una Distribución Estándar de Resistencias

Carga microbiana	Dosis	Carga microbiana	Dosis	Carga microbiana	Dosis
0.06	10.4	14	18.1	1 550	25,6
0.08	10.6	15	18.2	1 600	25,6
0.09	10.8	16	18.3	1 650	25,7
0.10	11.0	17	18.4	1 700	25,7
0.12	11.3	18	18.5	1 750	25,8
0.14	11.5	19	18.6	1 800	25,8
0.17	11.7	20	18.7	1 850	25,9
0.19	11.9	30	19.3	1 900	25,9
0.22	12.1	40	19.7	1 950	25,9
0.26	12.3	50	20.1	2000	26,0
0.29	12.5	60	20.3	2100	26,1
0.34	12.7	70	20.6	2200	26,1
0.39	12.9	80	20.8	2300	26,2
0.44	13.1	90	21.0	2400	26,3

Continuación

Continúa

Carga microbiana	Dosis	Carga microbiana	Dosis	Carga microbiana	Dosis
0.50	13.3	100	21.1	2500	26,4
0.57	13.5	150	21.8	2600	26,4
0.65	13.6	200	22.2	2700	26,5
0.73	13.8	250	22.6	2800	26,5
0.83	14.0	300	22.9	2900	26,6
0.93	14.2	350	23.1	3000	26,6
1.0	14.2	400	23.3	3200	26,8
1.2	14.3	450	23.5	3400	26,9
1.4	14.6	500	23.7	3600	26,9
1.6	14.8	550	23.8	3800	27,0
1.8	14.9	600	24.0	4000	27,1
2.0	15.2	650	24.1	4200	27,2
2.2	15.3	700	24.2	4400	27,3
2.6	15.5	750	24.3	4600	27,3
3.0	15.8	800	24.4	4800	27,4

Continúa

Continuación

Carga microbiana	Dosis	Carga microbiana	Dosis	Carga microbiana	Dosis
3.2	16.0	850	24.5	5000	27,5
4.0	16.2	900	24.6	5300	27,6
4.4	16.3	950	24.7	5600	27,7
5.0	16.5	1000	24.8	5900	27,8
5.4	16.6	1050	24.9	6200	27,8
6.0	16.8	1100	25.0	6500	27,9
7.0	17.0	1150	25.1	6800	28,0
8.0	17.2	1200	25.2	7100	28,1
8.8	17.3	1250	25.2	7400	28,1
9.0	17.4	1300	25.3	7700	28,2
10	17.6	1350	25.3	8000	28,3
11	17.7	1400	25.4	8500	28,4
12	17.9	1450	25.5	9000	28,5
13	18.0	1500	25.5	9500	28,5
				10000	28,6

Bibliografía

- [1] *Radiation Sterilization of Tissue Allografts: Requirements for Validation and Routine Control, A Code of Practice.* International Atomic Energy Agency. Vienna, 2007.
- [2] ISO 11137-1: 2006. *Sterilization of health care products, Radiation. Part 1: Requirements for development, validation and routine control of a sterilization process for medical devices.*
- [3] ISO 11137-2: 2006. *Sterilization of health care products, Radiation. Part 2: Establishing the sterilization dose.*
- [4] ISO 11137-3: 2006. *Sterilization of health care products, Radiation. Part 3: Guidance on dosimetric aspects.*
- [5] Resolución INCUCAI, N° 118/09.
- [6] Guyomard., S; Goury, V & Darbord, J.C. (1988). *Effects of Ionizing Radiations on Bacterial Endotoxins: Comparison Between Gamma Radiations and Accelerated Electrons.* Radiat. Phys. Chem. 31, 4-6, 679-684.
- [7] Whitby, J.L. & Gelda, A.K. (1979). *Use of incremental doses of Cobalt 60 radiation as a means to determine radiation sterilization dose.* J. Parent. Drug Assoc. 33: 144-55.
- [8] Whitby, K.W; Strawderman, W.E. & Whitby, J.L. (1984). *The rationale and a computer evaluation of a gamma irradiation sterilization dose determination method for medical devices using a substerilization incremental dose sterility test protocol.* J. Appl. Bacteriol. 57: 31-50.
- [9] Kowalski, J.B. & Tallentire, A. (1999). *A Substantiation of 25kGy as a sterilization dose: A rational approach to establishing verification dose.* Radiat. Phys. Chem. 54: 55-64.

- [10] ASTM E170-05. *Standard Terminology Relating to Radiation Measurements and Dosimetry.*
- [11] NOM-059-SSA1-2006. *Buenas Prácticas de Fabricación para establecimientos de la industria químico-farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos.* DOF 22/12/2008.
- [12] ISO 11137:1995. *Sterilization of Health Care Products. Requirements for Validation and Routine Control. Radiation Sterilization.*
- [13] ISO 11737-1: 2006. *Sterilization of medical devices. Microbiological methods. Part 1: Determination of the population of microorganisms on products.*
- [14] ISO 11737- 2: 2009. *Sterilization of medical devices. Microbiological methods. Part 2: Test of sterility performed in the validation of a sterilization process.*
- [15] Taylor, W.A. & Hansens, J.M. (1999). *Alternative sample sizes for verification dose experiments and dose audits.* Radiat. Phys. Chem. 54: 65-75.

La edición de esta obra fue
aprobada por el Consejo Editorial de la
Editorial Tecnológica de Costa Rica

Dirigió la edición: Ana Ruth Vílchez Rodríguez
Edición técnica: Mariela Romero Zúñiga
Revisión filológica: Diana Ávila Solera
Diagramación: Asesorías Gráficas en Ediciones
Diseño de cubierta: Felipe Abarca Fedullo
Impreso en: Litografía e Imprenta LIL