

# **DOCUMENTO I**

**INSTITUTO TECNOLÓGICO DE COSTA RICA  
ESCUELA DE BIOLOGÍA**

Centro de Investigación en Biotecnología  
Laboratorio de Ingeniería de Tejidos

**INFORME FINAL**

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

**Consolidación de un sistema de producción *in vitro* de  
piel humana para pacientes con diversas afecciones  
epidérmicas**

*Rojas M, Guerrero M, Alvarenga S, Sancho M, Siri C, Prada J, Hidalgo B, Reyna G,  
Venegas P, Rodríguez M, Recinos H, Fonseca G.*

Setiembre, 2009

## TABLA DE CONTENIDOS

	Pág.
<b>Lista de figuras</b> .....	4
<b>Título del proyecto</b> .....	5
<b>Autores y direcciones</b> .....	5
<b>Resumen</b> .....	9
<b>Palabras Clave</b> .....	9
<b>1. Introducción</b> .....	10
1.1. Cultivo Celular.....	10
1.2. Antecedentes.....	11
1.3. Planteamiento del Problema y Justificación.....	12
1.4. Objetivos.....	15
<b>2. Revisión de literatura</b> .....	16
<b>3. Materiales y métodos</b> .....	22
3.1. Lugar de ejecución.....	22
3.2. Período de Ejecución.....	22
3.3. Equipos disponibles en el Laboratorio de Ingeniería de Tejidos.....	22
3.4. Actividades.....	23
3.4.1. Validación de los protocolos de cultivo y producción de queratinocitos y fibroblastos.....	23
3.4.2. Optimización del protocolo de irradiación de fibroblastos.....	27
3.4.3. Establecer el protocolo de crioconservación de células epidérmicas <i>in vitro</i> .....	28
3.4.4. Validación del trasplante clínico de células epidérmicas en pacientes infantiles y adultos.....	28
<b>4. Resultados y discusión</b> .....	31
4.1. Validación de los protocolos de cultivo y producción de queratinocitos y fibroblastos.....	31
4.2. Optimización del protocolo de irradiación de fibroblastos.....	33
4.3. Establecer el protocolo de crioconservación de células epidérmicas <i>in vitro</i> .....	33
4.4. Validación del trasplante clínico de células epidérmicas en pacientes infantiles y adultos.....	34
<b>5. Conclusiones y recomendaciones</b> .....	39
5.1. Conclusiones.....	39
5.2. Recomendaciones.....	39
<b>6. Referencias</b> .....	41
<b>Anexos</b> .....	44
Anexo 1. Etiquetas de rotulación del laboratorio.....	44
Anexo 2. Manuales de operación de equipos.....	46
Anexo 3. Registros del laboratorio.....	92
Anexo 4. Inventario y catálogo de reactivos.....	98

Anexo 5. Etiquetas de reactivos.....	101
Anexo 6. Procedimientos hospitalarios.....	102
Anexo 7. Documentos entregados al CENDEISSS.....	133

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
Figura 1. Área de lavado del Laboratorio de Ingeniería de Tejidos 2.....	28
Figura 2. Paciente con úlcera en pierna izquierda.....	31
Figura 3. Preparación del gel en sala de operaciones, fibroblastos con plasma rico en plaqueta más trombina y gluconato de calcio.....	32
Figura 4. Gel preparado con los fibroblastos y aplicación a la paciente.....	32
Figura 5. Segunda curación de la paciente, se observa el borde menos negro y la herida no tan profunda como la primera vez.....	33
Figura 6. Finalización del trasplante y se procede a cubrir la úlcera con el protocolo establecido en el HSJD.....	33
Figura 7. El color de la úlcera es homogéneo, la profundidad es menor y aparece un borde de cicatrización.....	33
Figura 8. La aplicación del gel se sostiene con la gaza vaselinizada en excelentes condiciones.....	34
Figura 9. Úlcera con menor profundidad y menor área y borde bien conformado.....	34
Figura 10. Úlcera con menor profundidad, y se observa el vendaje utilizado de rutina en pacientes que presentan úlcera.....	34
Figura 11. Póster presentado durante la Feria de la Salud, ITCR, 2008.....	41

## TÍTULO DEL PROYECTO

# Consolidación de un sistema de producción *in vitro* de piel humana para pacientes con diversas afecciones epidérmicas

## AUTORES Y DIRECCIONES

<b>Coordinador del Proyecto:</b> <b>Miguel Rojas Chávez</b>	Grado académico: Doctorado
Número de cédula: 4-118-924	Número de investigaciones dirigidas: 8
Lugar de Trabajo: Instituto Tecnológico de Costa Rica, Escuela de Biología	
Dirección:	Santa Lucía, Barba de Heredia
Teléfono: 2550-2285, Fax: 2550-2479.	Correo electrónico: mirojas@itcr.ac.cr

<b>Investigador:</b> <b>Silvana Alvarenga Venutolo</b>	Grado académico: Maestría
Lugar de trabajo: Instituto Tecnológico de Costa Rica, Escuela de Biología	
Dirección:	Barrio Los Ángeles, Cartago
Teléfono: 2550-2285, Fax: 2550-2479.	Correo electrónico: salvarenga@itcr.ac.cr

<b>Investigador:</b> <b>Maritza Guerrero Barrantes</b>	Grado académico: Maestría
Lugar de trabajo: Instituto Tecnológico de Costa Rica, Escuela de Biología	
Dirección:	Guadalupe, San José
Teléfono: 2550-2285, Fax: 2550-2479.	Correo electrónico: mguerrero@itcr.ac.cr

<b>Investigador:</b> <b>Mario Sancho Torres</b>	Grado académico: Doctorado
Lugar de trabajo: Servicio de Dermatología, Hospital Nacional de Niños	
Dirección:	Paseo Colón, San José
Teléfono: 2222-0122 ext. 4477, Fax: 2256-3981	Correo electrónico: msanchot@hnn.sa.cr

<b>Investigador:</b> <b>Patricia Venegas Barrantes</b>		Grado académico: Especialista en Citogenética Humana
Lugar de trabajo: Laboratorio de Citogenética, Hospital Nacional de Niños		
Dirección:	Paseo Colón, San José	
Teléfono: 2222-0122 ext. 2422		Correo electrónico: bsfvenegas@hnn.sa.cr

<b>Investigador:</b> <b>Carlos Antonio Siri Adema</b>		Grado académico: Doctorado en medicina, cirujano pediatra
Lugar de trabajo: Unidad de Quemados, Hospital Nacional de Niños		
Dirección:	Paseo Colón, San José	
Teléfono: 2222-0122 exts. 4490 a 4493		Correo electrónico: siriadema@yahoo.com

<b>Investigador:</b> <b>Hugo Recinos Pineda</b>		Grado académico: Doctor en Medicina, especialista en Radio-oncología.
Lugar de trabajo: Servicio de radioterapia, Hospital San Juan de Dios		
Dirección:	Paseo Colón, San José	
Teléfono: 2257-6282 ext. 2488		Correo electrónico: hrecinos@racsa.co.cr

<b>Investigador:</b> <b>Marvin Rodríguez González</b>		Grado académico: Maestría en Ciencias (Físico-médico)
Lugar de trabajo: Servicio de radioterapia, Hospital San Juan de Dios		
Dirección:	Paseo Colón, San José	
Teléfono: 2257-6282 ext. 2488		Correo electrónico: marvinrodr@yahoo.com.mx

<b>Investigador:</b> <b>Yaneth Prada Castellanos</b>		Grado académico: Especialista Cirugía Plástica y Reconstructiva
Lugar de trabajo: Unidad de Quemados, Hospital San Juan de Dios		
Dirección:	Paseo Colón, San José	
Teléfono: 2257-6282 ext. 2591		Correo electrónico: praditacas@gmail.com

<b>Investigador:</b> <b>Gilberto Reyna Waldron</b>		Grado académico: Especialista Cirugía Plástica y Reconstructiva
Lugar de trabajo: Clínica Unidad Nacional de Quemados, Hospital San Juan de Dios		
Dirección:	Paseo Colón, San José	
Teléfono: 2257-6282 ext. 2591, Fax: 2256-3981		Correo electrónico: gilarey@hotmail.com

<b>Investigador:</b> <b>Benjamín Hidalgo-Matlock</b>		Grado académico: especialista en dermatología
Lugar de trabajo: Servicio de Dermatología y Alergología, Hospital México		
Dirección:	La Uruca, San José	
Teléfono: 2242-6918, Fax: 2224-0654		Correo electrónico: bhidalgo@gmail.com

<b>Investigador:</b> <b>Gisela Fonseca Portilla</b>		Grado académico: Especialista Cirugía Plástica y Reconstructiva
Lugar de trabajo: Unidad Nacional de Quemados, Hospital San Juan de Dios		
Dirección:	Paseo Colón, San José	
Teléfono: 2257-6282 ext. 2591		Correo electrónico: gisela_cr@yahoo.com



## RESUMEN

Durante los últimos, investigadores del Centro de Investigación en Biotecnología (CIB, ITCR) y personal médico de la CCSS, han colaborado para el desarrollo de tratamientos terapéuticos innovadores para mejorar la calidad de vida de pacientes con afecciones epidérmicas. A la fecha, no existe un tratamiento de reepitelización efectiva en Costa Rica. Alternativamente, el cultivo de células epidérmicas para el tratamiento de afecciones de la piel se realiza con éxito en otros países. Este procedimiento implica el cultivo *in vitro* de fibroblastos y queratinocitos humanos, donde las células obtenidas y amplificadas se re-injertan al paciente para tratar la zona afectada, posibilitando una recuperación más rápida y efectiva, lo que incidiría en mejorar su calidad de vida y en la disminución de costos hospitalarios.

Mediante esta estrategia, se ha iniciado en el Laboratorio de Ingeniería de Tejidos del CIB del ITCR el establecimiento de protocolos de cultivo de fibroblastos y queratinocitos humanos. Los protocolos de irradiación, criopreservación y descongelamiento han sido parcialmente implementados utilizando fibroblastos humanos y murinos. Sin embargo, no se han tratado pacientes con el material cultivado, pues se está a la espera de la aprobación del Comité de Bioética del CENDEISSS. No obstante, los protocolos de cultivo celular han sido adaptados a nuestro medio mediante los resultados de visitas científicas y capacitaciones.

Gracias a estas experiencias, el ITCR ha establecido funcional y físicamente dos Laboratorios de Ingeniería de Tejidos, que lo poseen como pionero en el cultivo *in vitro* de células epidérmicas con fines terapéuticos en Centro América y el Caribe.

## PALABRAS CLAVE

Fibroblastos, Queratinocitos, Feeder-layer, Irradiación sub-letal, Criopreservación.

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Cultivo Celular

El cultivo celular se puede definir como un procedimiento tecnológico de mantenimiento y estudio de células vivas en un medio artificial que procura reproducir las condiciones biológicas en las que las células se desarrollan en su lugar de origen (Cofán y Fernández, 1992) El objetivo del cultivo de tejidos es el mantenimiento de células individuales viables (cultivo de células) o de una unidad funcional de células (cultivo de órgano) afuera de su organismo multicelular normal (Martin, 1994).

Los cultivos celulares se pueden clasificar en diversas categorías. Según su estructura se puede tratar de cultivo de órgano, cultivo de tejido o cultivo de células. En los primeros dos casos, se mantiene la estructura y función del órgano entero o de una parte del mismo sin disociar sus células, tratándose así de una población heterogénea de células. En el tercer caso, se logra la supervivencia de células independientes capaces de dividirse y mantener sus funciones *in vitro*, se denomina también cultivo en monocapa o suspensión. Según su capacidad de mantenimiento en cultivo las células pueden ser terminales (sin capacidad de división celular) tal como las neuronas, poseer la capacidad de mantenerse en forma más prolongada en medio de cultivo como los fibroblastos, o constituir líneas celulares las cuales pueden mantenerse indefinidamente en medio de cultivo. Además, según su fuente de obtención, un cultivo puede ser primario si procede directamente del organismo vivo, o secundario cuando se obtiene de la resiembra de otro cultivo (Cofán y Fernández, 1992).

Dentro de un organismo vivo, las células se encuentran protegidas de patógenos, se les sule regularmente nutrientes y oxígeno, se remueven sus desechos y, en el caso de los mamíferos, se mantienen a temperatura constante y son sostenidas por el tejido y sistemas del organismo. En el cultivo de células se crea un ambiente artificial que reemplaza estas funciones y condiciones. Para esto se utilizan técnicas asépticas, reactivos y equipos estériles para reducir la invasión por patógenos; se provee a las células de un medio de cultivo que es reemplazado regularmente, tanto para proveer los nutrimentos necesarios como para remover los residuos celulares; además, se mantienen las células en un ambiente que mantiene la temperatura, humedad y nivel de gas apropiados para la sobrevivencia normal de las mismas (Martin, 1994). Se debe tener en cuenta que existen diferentes tipos de células, los cuales poseen requerimientos y condiciones de cultivo especializadas que garanticen su óptimo desarrollo. Esto ha llevado al diseño de diversos modelos de cultivo celular, como lo son los de células mesenquimatosas, células neuroepiteliales y parenquimatosas, células hematopoyéticas, células gonadales, hibridomas, y células tumorales (Davis, 2002).

El cultivo celular posee diversas aplicaciones, por ejemplo, en biología celular se pueden utilizar para estudios de potenciales de membranas, influencia hormonal e interacción celular; en microbiología para la detección de antígenos y diagnóstico

temprano de enfermedades infecciosas, obtención de vacunas; en farmacología y toxicología permiten obviar el modelo animal de estudio y trabajar directamente sobre células humanas para estudios de toxicidad, modo de acción de los fármacos, riesgo tóxico potencial de una nueva sustancia química (Cofán y Fernández, 1992) entre muchas otras aplicaciones. Como se observa el cultivo de tejidos no sólo se limita a las investigaciones en laboratorios, sino que es parte de nuestra economía, pues es parte de las industrias farmacéutica, alimenticia y biotecnológica (Martin, 1994).

## 1.2. Antecedentes

El cultivo celular es una técnica relativamente reciente. Harrison y Carrel describieron entre 1885 y 1900 las primeras técnicas de cultivo de tejidos al intentar mantener neuronas vivas fuera del organismo y delimitaron así sus principales normas de mantenimiento. En 1933, Gey consiguió el primer cultivo de células tumorales. Las técnicas de separación enzimática de tejido se iniciaron en 1952 cuando Moscona tripsinizó fragmentos de embrión de pollo y consiguió células aisladas capaces de crecer *in vitro* sobre placa de cultivo, técnica que, aunque mejorada, sigue aún usándose en nuestros días. En los últimos veinte años, y de forma exponencial, han surgido múltiples variantes técnicas y campos potenciales de aplicación de los cultivos celulares (Cofán y Fernández, 1992).

Las referencias iniciales para el cultivo de piel hacen alusión al cultivo celular en forma de explantes celulares. Aunque esta técnica no permitía una proliferación epitelial suficiente, se demostró que los cultivos celulares obtenidos eran válidos y transplantables a animales. Posteriormente, el rápido desarrollo de nuevas técnicas hizo posible realizar los cultivos a partir de células disgregadas, estableciéndose diversos modelos (Arvelo, 2007).

En el año 1950, Billingham logró la separación enzimática de la epidermis y la dermis utilizando tripsina sin destruir la viabilidad de las células epiteliales. A inicios de 1960, Karasek demostró que los queratinocitos pueden sobrevivir en cultivo de tejidos y en 1975 Rheinwald y Green publicaron un trabajo sobre el crecimiento y la proliferación de células cutáneas *in vitro*, a partir del cual lograron desarrollar un epitelio trasplantable (Brychta *et al.*, 1994).

En la actualidad, el paciente al cual se le realiza un injerto de piel experimenta una revolución en el contexto del proceso de cicatrización de sus heridas gracias a las técnicas de ingeniería de tejidos. Se han realizado muchos esfuerzos para desarrollar “sustitutos de piel” sin necesidad de donantes y que permitan aumentar la disponibilidad de piel para injertar en caso de emergencias (quemaduras masivas). Hasta ahora, la compleja estructura de la piel no se ha podido reconstruir, pero se han producido equivalentes monocapa o multicapa (técnica de sándwich). La monocapa más simple es equivalente a una hoja o a una suspensión de queratinocitos autólogos. Estas capas de queratinocitos cultivados *in vitro* permiten hoy en día que las heridas sanen mucho más rápido (Hierner *et al.*, 2005).

Los queratinocitos autólogos cultivados *in vitro* han sido utilizados exitosamente durante más de 30 años, aunque se necesitan tres semanas para producir el tejido de los pacientes. En todo caso, tiene la ventaja de que el tratamiento es más exitoso debido a que actúa como apósitos biológicamente activos, interactuando con las células en el lecho de la herida, promoviendo la liberación de factores de crecimiento y otras sustancias que aceleran el proceso de cicatrización; además, la reepitelización ocurre de una manera más natural (Hierner *et al.*, 2005; Svensjo *et al.*, 2001).

El cultivo de queratinocitos ha sido exitoso y se estableció utilizando cocultivos con células tales como los fibroblastos y en la actualidad se aplica el uso extensivo de una línea de fibroblastos murinos (células 3T3). Estos fibroblastos, que sirven como fuente de nutrientes al tiempo que favorecen la sobrevivencia de los queratinocitos, posibilitan el subcultivo, ya que proveen estímulos biológicos (factores de crecimiento) que permiten la expansión del tejido celular y promueven la proliferación basal así como la diferenciación celular (Rheinwald y Green, 1975). Además, al tener presentes tipos celulares proliferativos y diferenciales, disminuyen la contaminación por otras células (Barrandon y Green, 1985). Otra ventaja del uso de esta técnica es que favorece su aplicación, en el cultivo de otros epitelios, dado que estos cultivos también son injertables en seres humanos (Clancy *et al.*, 1988).

Estudios más recientes han llegado a establecer que los queratinocitos cultivados, pierden su capacidad antigénica, razón por la cual el posible fenómeno de rechazo no ocurre. El no rechazo se ha evidenciado por la pérdida casi o total de los complejos de histocompatibilidad de tipo II y I, apoyando la posibilidad de que las láminas y geles producidos en el laboratorio sean exitosamente aplicadas (García *et al.*, 2000).

### **1.3. Planteamiento del Problema y Justificación**

Los pacientes con afecciones de la piel como la epidermolisis bullosa, aplasia congénita, úlceras en la piel, así como pacientes con quemaduras extensas o de alto riesgo de dejar secuelas, pertenecen a grupos sociales y étnicos muy diversos. La resolución de sus problemas clínicos requiere de un alto nivel tecnológico y optimización de los tratamientos (Limat *et al.*, 1996).

Otros pacientes con diferentes patologías cutáneas, desde las neoplasias benignas, hasta los pacientes con lesiones cutáneas malignas y premalignas y una voluminosa población de pacientes con úlceras cutáneas y en especial los pacientes con úlceras de miembros inferiores, que constantemente requieren tratamientos específicos y costosos, representa una fuerte erogación en los centros hospitalarios (Limat *et al.*, 1996).

En Estados Unidos diversos tipos de heridas crónicas afectan a más de dos millones de personas, cuyo tratamiento asciende a un costo total de un billón de dólares anuales. Entre ellos cerca de 1500 pacientes requieren injertos extensivos debido a quemaduras de tercer grado, 40000 personas que son tratados por

quemaduras de segundo grado y más de 800000 personas sufren de úlceras en el pie por diabetes, que llevan a más de 80000 amputaciones al año (The Whitaker Foundation, 2005).

Durante los últimos veinte años se ha evolucionado en el tratamiento de los pacientes con problemas de piel, especialmente en el área de los apósitos para el tratamiento de los pacientes durante los procesos de cicatrización de sus heridas. Una de estas áreas es el uso de apósitos biológicamente activos, a base de queratinocitos cultivados, tomados del mismo paciente (autoinjertos) o de donadores (aloinjertos). Este recurso ha probado por sí solo, que es una herramienta útil y valiosa en el tratamiento de diferentes y muy variadas patologías, disminuyendo el tiempo de curación, mejorando los índices de sobrevivencia (especialmente en grandes quemados), así como disminuyendo los costos indirectos en el manejo de éstos pacientes (Loss *et al.*, 2000).

Los padecimientos epidérmicos en Costa Rica presentan también una alta incidencia. Según los datos del Departamento de Información Estadística de Servicios de Salud en la C.C.S.S, en el año 2001 el número de hospitalizaciones por diferentes patologías epidérmicas alcanzó un total de 3028 pacientes. Una parte importante de estos pacientes fueron niños quemados, para los cuales no se dispone de un tratamiento clínico que permita sustituir la epidermis dañada y que facilite su recuperación pronta y satisfactoria.

En el Hospital Nacional de Niños se han atendido 1193 niños y niñas en los años 2000 al 2004 (Barahona, 2002; Dpto. Estadísticas H.N.N., 2005). De estos pacientes, muy pocos han podido ser trasladados al Shriners Burns Hospital for Children en Galveston, Texas, centro médico especializado en la atención de pacientes con extensas quemaduras, pues cada traslado en un avión especializado a este hospital cuesta entre \$15.000 y \$ 20.000; este monto no cubre la estancia hospitalaria, que es gratuita. Por lo cual, muy pocos niños han podido ser tratados con un material biológico que permita una verdadera re-epitelización y una rehabilitación en menor tiempo. Asimismo, la importación de un biomaterial para trasplante epidérmico es bastante costoso, por lo que en Costa Rica se han hecho pocos trasplantes de este tipo (Ávalos, 2003).

En suma, muchos de los pacientes con afecciones epidérmicas podrían tratarse localmente, si existiese un programa para la producción y trasplante de células de la piel que posibilite una rehabilitación menos traumática y con menor tiempo de hospitalización.

De esta manera, todo este complejo panorama ha hecho evidente la necesidad de disponer de un tratamiento seguro, universal, aplicable, de menor costo y más efectivo que incida en una rápida recuperación del paciente y que acelere su reincorporación a las labores cotidianas. Una opción para resolver este problema es el cultivo *in vitro* de células epidérmicas, que se realiza exitosamente en otros centros de investigación y empresas biomédicas, a nivel de investigación y de producción comercial (Falanga y Sabolinsk 1999; Fraunhofer Institute, 2003). El procedimiento, explicado en forma breve, consiste en cultivar los queratinocitos,

que son las células más externas de la piel sobre una base de fibroblastos irradiados con Rayos Gamma que posteriormente se colocan al mismo paciente para permitir una cicatrización más rápida de la zona afectada. Los queratinocitos y fibroblastos del paciente se mezclan con trombina y gluconato de calcio formando un gel, que se aplica sobre la lesión, la cual evoluciona hacia una mejoría más rápidamente. Si se produce e injerta un cultivo celular de la piel humana a pacientes que sufren afecciones epidérmicas, su recuperación sería más rápida y efectiva, lo que incidiría en mejorar su calidad de vida y en la disminución de costos hospitalarios.

En Costa Rica y Centroamérica, el proyecto **Implementación de un sistema de producción de piel humana *in vitro* para mejorar la recuperación de pacientes con afecciones epidérmicas en Costa Rica**, ha iniciado la consolidación del liderazgo del ITCR en nuestro país en la Ingeniería de Tejidos, para resolver un problema de salud pública a través de la unión de esfuerzos dispersos de diferentes institucionales nacionales. Este proyecto (2005-2006) financiado por el OEIA, ha establecido las bases que consolidarían un sistema para la producción de piel para el tratamiento de pacientes con patologías epidérmicas en el país.

A la fecha, gracias al mencionado proyecto y al proyecto que se describe en este documento (**Consolidación de un sistema de producción *in vitro* de piel humana para pacientes con diversas lesiones cutáneas en Costa Rica**), se han iniciado el aislamiento y el cultivo de queratinocitos sobre una base de fibroblastos en el Laboratorio de Ingeniería de Tejidos del ITCR y se han irradiado fibroblastos humanos y de la línea celular 3T3 en el Servicio de Radioterapia del HSJD. También se ha iniciado el establecimiento de un protocolo de criopreservación y se ha practicado el procedimiento de descongelamiento. Además, se han tenido dos misiones de expertos a cargo de la Dra. Susan Boyce, del Banco de Piel de Sheffield, Inglaterra y la Dra. Alicia Lorenti, del Hospital Italiano de Buenos Aires, Argentina (Informe:AIEA-ITCR-02644).

A mediano plazo, el principal producto de estos proyectos será la mejora en la calidad de vida de los pacientes, gracias a un tratamiento médico más rápido y efectivo, así como una pronta recuperación psicológica. El mejoramiento en el tratamiento y convalecencia se reflejarán en una reducción en los costos de internamiento de los pacientes de la CCSS.

Además, este proyecto concuerda con el Plan Nacional de Desarrollo 2006-2010, en la acción estratégica denominada: "Plan de provisión de recursos de infraestructura humanos tecnológicos y financieros en salud con calidad, accesibilidad y seguridad" en el capítulo de Salud. Además es concordante con la Estrategia Siglo XXI, en las Acciones de Puesta al día (Apartado 6.2.1, recursos humanos). También concuerda con el Eje de Ciencia, Tecnología e Innovación del programa PLANES de las universidades estatales. Finalmente es coincidente con los Objetivos del Milenio, en la parte I, apartado 2 en el tema de contribución a la salud.

## 1.4. Objetivos

### *Objetivo General*

- Optimizar el protocolo de producción *in vitro* y trasplante autólogo de células epidérmicas para tratar a un mayor número de pacientes de diferentes edades.

### *Objetivos Específicos*

- Validar los protocolos de cultivo y producción de queratinocitos y fibroblastos
- Optimizar el protocolo de irradiación de fibroblastos.
- Establecer el protocolo de crioconservación de células epidérmicas *in vitro*
- Validar el trasplante clínico de células epidérmicas en pacientes infantiles y adultos

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

La piel es un órgano compuesto por múltiples tipos de tejidos, conformando uno de los órganos más grandes del organismo. Es un órgano biológicamente muy activo y cumple con una serie de funciones como termorregulación, órgano metabólico, órgano de barrera, función cosmética y principalmente es la barrera esencial de protección contra la deshidratación, las radiaciones y el daño mecánico, químico y biológico. La piel tiene dos capas de tejidos principales: la epidermis y la dermis. La primera capa está constituida principalmente por queratinocitos, los cuales forman un epitelio escamoso estratificado. La dermis está conformada principalmente por fibroblastos, constituyendo un tejido conectivo vascularizado. Como una tercera capa de la piel, la hipodermis o tejido subcutáneo consiste principalmente en células adiposas y tejido conectivo que permiten anclar la piel y almacenar grasa, aislando los órganos subyacentes (Light, 2004).

Podemos observar lo compleja y funcional que es la piel, y la ausencia de la misma en grandes extensiones del cuerpo, puede llevar a lo que se conoce como insuficiencia cutánea, así como ocurre con otros órganos, y esto pone en peligro la vida del paciente, algo similar ocurre en los pacientes con quemaduras extensas, pérdidas extensas de la continuidad de la piel (úlceras), enfermedades como la epidermolisis bullosa, donde estos pacientes pierden grandes extensiones de piel, por sus respectivas enfermedades y esto los puede llevar a exponerse a infecciones, cicatrices afuncionales y deformantes, o el simple hecho de tener que disminuir significativamente su calidad de vida por no contar con una piel adecuada (Amado, 1998).

El hombre a través de la historia ha tratado de acelerar su proceso de cicatrización o ha tratado de sustituirla aunque sea temporalmente, utilizando diversos métodos que incluían desde las técnicas de secado al aire o cauterizado de las heridas (método expuesto o abierto) hasta el uso de vendajes o apósitos (método con cura oclusiva). Esta última técnica demostró una serie de ventajas que incluyen la reducción de la deshidratación, de la pérdida de calor y del riesgo de contaminación.

Un vendaje o apósito es un sustituto del epitelio nativo que se pierde debido a un daño. Los vendajes cubren la herida pero no la cierran y la adherencia a la superficie de la piel y la protección del medio ambiente favorecen el sanado de la herida. Sin embargo, en ocasiones para cerrar la herida es necesario un injerto de piel o substitutos.

Desde tiempos antiguos, se han utilizado diversos mecanismos, como telas y pieles de animales, como apósitos para el vendaje de heridas (Majono, 1975). Sin embargo, oficialmente, los primeros apósitos fueron utilizados en 1867 por Lister que embebía gasa con fenol y lo aplicaba a las heridas. Ya a finales de la década de 1950 gracias a Odland, que observó que las ampollas sanaban mejor si no se decapitaban, apoyado también por Winter quien hizo estudios en cerdos, donde mostraba que las heridas cubiertas cicatrizaban en la mitad de tiempo que las



expuestas. En los humanos, fueron Hinman y Maibach quienes repitieron el estudio y evidenciaron un beneficio similar (Winter, 1962).

Estos pioneros en el ámbito de la cicatrización de heridas, fueron los que dieron pie a el advenimiento de los conceptos de la cura oclusiva en las heridas y posteriormente se empezaron a desarrollar un sinnúmero de apósitos para utilizar en los diferentes tipos de heridas, pero todos al fin lo que intentan hacer es realizar ese papel multifuncional de la piel.

El proceso de cicatrización de las heridas ocurre por etapas, por lo cual se puede requerir de diferentes tipos de apósitos durante las distintas etapas del proceso. El objetivo del apósito es proveer el ambiente óptimo para acelerar el proceso de cicatrización, al proteger la herida de trauma o daños subsecuentes, invasión bacteriana o exposición a sustancias cáusticas, que es primordial durante las primeras etapas del proceso. Un vendaje ideal sería aquel que sea capaz de:

- Adquirir la forma de la herida.
- Absorber el exudado sin aumentar la proliferación bacteriana o desecación excesiva.
- Proveer presión para hemostasia.
- Prevenir el derrame del exudado desde el vendaje.
- Aportar soporte a la herida y tejido circundante.
- Eliminar el dolor.
- Promover la reepitelización durante la fase de reparación de la herida.
- Ser fácilmente aplicable y removible de la herida sin dañar el tejido.
- Además debe cumplir otras características como:
- Estar compuesto por un material inerte que no ceda fibras que puedan causar reacción a cuerpo extraño o dermatitis de contacto irritativa o alérgica.
- Propiciar una baja oxigenación, ya que esto estimular a los fibroblastos, a la angiogénesis (nueva formación de vasos) y a la liberación de factores de crecimiento por los macrófagos (Knighton y Fiegel, 1989).

Existen numerosos tipos de vendajes, siendo algunos absorbentes, otros adherentes o no adherentes y otros oclusivos o semioclusivos. Entre los vendajes adhesivos se incluyen aquellos que actúan como substitutos temporales de la piel, y usualmente consisten de una capa interna de colágeno y fibrina que se adhieren a la herida seguidos por una capa externa que disminuye la evaporación del agua y son impermeables a las bacterias. La adherencia disminuye los exudados, mantiene una capa de humedad y aumenta el ambiente óptimo para el sanado.

Los vendajes tradicionales, son normalmente constituidos por gasas de algodón con acetato de celulosa agregado para mejorar la absorbancia; en algunos casos se les agrega petrolato o algún antiséptico tópico para disminuir el riesgo de infección. Las ventajas es que son materiales muy asequibles, de bajo costo y de fácil aplicación. Las desventajas de éstos apósitos tradicionales son que puede causar maceración del tejido si se deja por una cantidad excesiva de tiempo,

requieren gran frecuencia de recambio, lo cuál requiere mucho tiempo de los profesionales de la salud y esto puede ser costoso (Mathews, 1941).

Existen apósitos con materiales nuevos que se pueden clasificar como membranas (hechas de poliuretano), espumas (poliuretano bilaminado o silicón), hidrogeles (láminas de polímeros hidrofílicos, geles o apósitos impregnados), alginatos (polisacáridos complejos basados en algas con propiedades higroscópicas y hemostáticas), hidrocoloides (polímeros con almidones, plásticos, dextran, polietileno glicólicos y agua) y combinaciones de éstos, así como otros más nuevos que contienen iones de zinc para mejorar la cicatrización, o iones de plata como microbicida o con carbón para absorber olores o con colágeno para servir como matriz y acelerar la cicatrización y disminuir la contracción. El mercado actual es muy variado y extenso y una revisión completa de estos productos no es el fin del presente informe.

La duplicación de las propiedades de la piel requiere de estructuras bipolares, donde la capa externa ofrezca protección y la interna estimule el crecimiento del tejido. La utilización de vendajes con características similares a las de la piel incrementa el sanado de las quemaduras, se han utilizado las siguientes alternativas:

- Estructuras bipolares con propiedades de epidermis y dermis
- Substituto temporal de piel: bicapa con el propósito de proteger las heridas y optimizar el sanado.
- Sustituto temporal de piel: reemplazo de uno o ambas capas de la piel.

Los substitutos de piel restauran el ambiente biológico óptimo de una herida limpia y protegen la herida. Sin embargo, su uso ha sido relegado a heridas libres de tejido no viable y de infecciones. Los substitutos temporales de piel han sido utilizados desde hace siglos. Los primeros reportes ocurrieron en la India hace 3000 años, donde se utilizaban injertos tomados de la piel de los glúteos de los pacientes a los cuales se les había amputado la nariz por castigo por robo o infidelidad (Hauben *et al.*, 1982). Los reportes en la literatura del occidente no aparecieron sino hasta siglos más recientes, a mediados del siglo XIX (Hill, 1987) y los injertos han evolucionado de considerarse como un tratamiento de última línea a considerarse como un procedimiento de realización rutinaria.

Los substitutos temporales de piel ayudan a sanar las heridas o quemaduras y mantienen la superficie cerrada hasta que se reconstruye la piel. Su uso en el tratamiento de pacientes con problemas cutáneos ha incrementado recientemente. Los productos iniciales fueron usados a finales de la década de los setentas en úlceras o heridas residuales de quemados que no sanaban con otros métodos (Rue *et al.*, 1993). Inclusive en nuestro país los primeros injertos heterólogos utilizados en el tratamiento de pacientes con denudación extensa de la piel, fueron xenoinjertos porcinos (Jaramillo, 1998).

Actualmente se han desarrollado substitutos de piel permanentes y temporales biológicamente activos que reemplazan los alo-injertos y xeno-injertos, incluyendo los citados a continuación.

- *Tejido natural*: aloinjertos cutáneos, xenoinjertos cutáneos y membranas amnióticas.
- *Substitutos de piel*: bilaminato sintético, substitutos basados en colágeno (Biobrane, TransCyte e Integra).
- *Análogos dermales basados en colágeno*: aloinjerto libre de epidermis, Alloderm.
- *Tejido cultivado*: Apligraf, cultivo antólogo de queratinocitos y análogos dermales de fibroblastos plantados (membrana de colágeno-glicoaminoglucano).

Apligraf (Organogenesis Inc, Canton MA, USA) fue el primer substituto aprobado por la FDA que contiene células humanas vivas. Existen otros productos a base de componentes epidérmicos, dérmicos o compuestos bicapas que se clasifican según sus componentes, y se pueden subclasificar en temporales y permanentes, sintéticos o biosintéticos, alogénico, xenogénico y autogénico (Bello y Falabella, 2001). Sin embargo, el uso de estos materiales tiene su limitante en cuanto a la vida media de almacenaje y costo, ya que este va de cientos a miles de dólares por injerto.

Actualmente en el mercado existen productos que no se consideran substitutos de piel, sino facilitadores de la re-epitelización, que son análogos de matrices dérmicas que no intentan sustituir la piel, pero aceleran la cicatrización y son de origen porcino, de la submucosa intestinal y éstos sí poseen una vida media de almacenaje más prolongada, lo que los hace más versátiles.

Es importante distinguir los vendajes de los substitutos de piel. El papel de los vendajes es cubrir la herida pero no cerrar la misma. De hecho, se requieren cambios frecuentes para evitar la formación de costras a partir de los exudados, pero esto es poco frecuente gracias a nuevos y modernos apósitos que adsorben el exceso de exudado y mantienen en la mayoría de los casos una herida limpia.

## **Ingeniería de Tejidos**

Uno de los principales logros de la medicina moderna en los últimos 50 años ha sido el poder restituir la función de algunos tejidos y órganos con la cirugía de trasplante de órganos y tejidos provenientes de donantes. La ingeniería de tejidos es una disciplina relativamente nueva que viene a complementar o incluso sustituir las técnicas aplicadas hasta el momento. Su objetivo es fabricar u obtener nuevos tejidos a partir de fragmentos pequeños de tejido sano, haciendo uso de la técnica del cultivo celular, esto para restaurar la funcionalidad parcial o total de tejidos u órganos dañados por enfermedades, traumatismos u otras causas. Cuando una grande extensión de tejido ha sido dañada, se puede aislar, cultivar y amplificar un número suficiente de células sanas en el laboratorio y luego éstas

pueden ser transplantadas a las zona(s) afectada(s) para repararlas y regenerarlas (Arvelo, 2007). La regeneración y sustitución de tejidos no funcionales se da mediante técnicas que emplean como medio algún sistema polimérico, de origen natural o artificial, que funcione como un soporte para las células (San Román *et al.* 2000). En este campo se ha logrado un éxito importante en los cultivos de piel, músculo, hueso, córnea, cartílago, tejido nervioso y tejido glandular (Arvelo, 2007).

Durante los últimos veinte años se ha evolucionado en el tratamiento de los pacientes con problemas de piel, especialmente en el área de los apósitos para el tratamiento de los pacientes durante los procesos de cicatrización de sus heridas. Una de estas áreas es el uso de apósitos biológicamente activos, a base de queratinocitos cultivados, tomados del mismo paciente (autoinjertos) o de donadores (aloinjertos). Este recurso ha probado por sí solo, que es una herramienta útil y valiosa en el tratamiento de diferentes y muy variadas patologías, disminuyendo el tiempo de curación, mejorando los índices de supervivencia (especialmente en grandes quemados), así como disminuyendo los costos indirectos en el manejo de éstos pacientes (Loss *et al.*, 2000). Es pertinente señalar que los sistemas para cultivar y trasplantar queratinocitos autólogos (al mismo paciente), no requieren en Europa de las pruebas clínicas para medicamentos, pero si de pruebas de control de calidad (Fraunhofer Institute Systems and Innovation Research, 2003).

Los queratinocitos autólogos cultivados *in vitro* han sido utilizados exitosamente durante más de 30 años, aunque se necesitan tres semanas para producir el tejido de los pacientes. En todo caso, tiene la ventaja de que el tratamiento es más exitoso debido a que actúa como apósitos biológicamente activos, interactuando con las células en el lecho de la herida, promoviendo la liberación de citoquinas y factores mitogénicos que aceleran el proceso de cicatrización y la reepitelización ocurre de una manera más natural (Hierner *et al.*, 2005; Svensjo *et al.*, 2001).

El cultivo de queratinocitos ha sido exitoso y se estableció utilizando cocultivos con células tales como los fibroblastos y en la actualidad se aplica el uso extensivo de una línea de fibroblastos murinos (células 3T3). Estos fibroblastos, que sirven como fuente de nutrientes al tiempo que favorecen la supervivencia de los queratinocitos, posibilitan el subcultivo, ya que proveen estímulos biológicos (factores de crecimiento) que permiten la expansión del tejido celular y promueven la proliferación basal así como la diferenciación celular (Rheinwald y Green, 1975). Además, al tener presentes tipos celulares proliferativos y diferenciales, disminuyen la contaminación por otras células (Barrandon y Green, 1985). Otra ventaja del uso de esta técnica es que favorece su aplicación, en el cultivo de otros epitelios, dado que estos cultivos también son injertables en seres humanos (Clancy *et al.*, 1988).

Estudios más recientes han llegado a establecer que los queratinocitos cultivados, pierden su capacidad antigénica, razón por la cual el posible fenómeno de rechazo no ocurre. El no rechazo se ha evidenciado por la pérdida casi o total de los complejos de histocompatibilidad de tipo II y I, apoyando la posibilidad de que las

láminas y geles producidos en el laboratorio sean exitosamente aplicadas (García *et al.*, 2000). Varios investigadores, utilizando diferentes técnicas no han podido demostrar la sobrevivencia de los aloinjertos de queratinocitos en humanos (Brain *et al.*, 1989; Gielen *et al.*, 1983).

Se reconoce que la piel diseñada mediante ingeniería de tejidos es un evento reciente, que ha crecido rápidamente en importancia. Sin embargo, los productos hasta ahora diseñados deben mejorar su efectividad y reducir su costo para ser aceptados en el mercado (Lloyd-Evans y BioBridge 2002).

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Lugar de ejecución

- **Laboratorio de Ingeniería de Tejidos, Centro de Investigación en Biotecnología, Instituto Tecnológico de Costa Rica.**
- Laboratorio de Citogenética, Hospital Nacional de Niños.
- Laboratorio Clínico, Hospital Nacional de Niños.
- Unidad de Quemados, Hospital Nacional de Niños
- Departamento de Dermatología, Hospital Nacional de Niños.
- Unidad de Quemados, Hospital San Juan de Dios
- Departamento de Dermatología, Hospital San Juan de Dios
- Departamento de Dermatología, Hospital México

#### 3.2. Período de Ejecución

- Enero 2007- Diciembre 2008

#### 3.3. Equipos disponibles en el Laboratorio de Ingeniería de Tejidos

**Cuadro 1.** Equipos disponibles en el Laboratorio de Ingeniería de Tejidos, CIB, ITCR (Diciembre, 2008).

Equipo	Estado	Eventos	Acciones Tomadas
Incubadora de CO <sub>2</sub> (P/N 90400016, Binder)	Funcionamiento 0% Descompuesto	Desperfección del sensor de CO <sub>2</sub>	Se está tramitando la compra del sensor.
Cabina de flujo laminar, flujo vertical, bioseguridad clase II (BIO-II-AG, Telstar).	Funcionamiento 100% Buen estado	Desperfección eléctrica	Compra e instalación de repuestos. Reparado.
Incubadora de CO <sub>2</sub> (Barnstead International)	Funcionamiento 100% Buen estado	Ninguno	Mantenimiento de rutina
Centrífuga de uso general (AccuSpin1/1R, Fisher Scientific)	Funcionamiento 100% Buen estado	Ninguno	Mantenimiento de rutina
Baño María (CZ-14575-00, Cole Parmer)	Funcionamiento 100% Buen estado	Ninguno	Mantenimiento de rutina
Peachímetro (Inolab, WTW)	Funcionamiento 100% Buen estado	Ninguno	Mantenimiento de rutina
Balanza (Ohaus)	Funcionamiento 100% Buen estado	Ninguno	Mantenimiento de rutina
Microscopio Invertido (Hund Wetzlar)	Funcionamiento 100% Buen estado	Suciedad de los lentes	Limpieza de lentes
Agitador calentador (CL56795420, Cole Parmer)	Funcionamiento 100% Buen estado	Ninguno	Mantenimiento de rutina
Microondas	Funcionamiento 0% Descompuesto	Desperfección eléctrica	Reparación pendiente, se está tramitando la compra de uno nuevo
Refrigerador 4°C (LG)	Funcionamiento 100% Buen estado	Ninguno	Mantenimiento de rutina
Refrigerador 4°C (Atlas)	Funcionamiento 100% Buen estado	Ninguno	Mantenimiento de rutina
Refrigerador 4°C (Fisher Scientific)	Funcionamiento 100% Buen estado	Ninguno	Mantenimiento de rutina
Congelador -70°C (Revco)	Funcionamiento 0% Descompuesto	Desperfección eléctrica	Visita técnica programada
Congelador -20°C (Fisher Scientific)	Funcionamiento 100% Buen estado	Ninguno	Mantenimiento de rutina

Autoclave (Sterilmatic-C-Dry 75, Raypa)	Funcionamiento 0% Descompuesto	Desperfecto eléctrico	Se está tramitando la compra e instalación de repuestos.
Estufa (Memmert)	Funcionamiento 100% Buen estado	Problemas de conexión eléctrica	Se está tramitando la instalación eléctrica
Cámara limpia (Labconco)	Funcionamiento 100% Buen estado	Ninguno	Mantenimiento de rutina
Bomba de vacío (25228 01, Welch Dry)	Funcionamiento 100% Buen estado	Ninguno	Mantenimiento de rutina
Manómetro (Z14,671-4, SIGMA)	Funcionamiento 100% Buen estado	Ninguno	Mantenimiento de rutina
Juego de micropipetas (P8d94-1EA, Finnpiptette Techpette)	Funcionamiento 100% Buen estado	Ninguno	Mantenimiento de rutina
Pipeteador (Pipet-Aid, Drummond)	Funcionamiento 100% Buen estado	Ninguno	Mantenimiento de rutina
Tanque para criopreservación (Locator 6 Plus, CY50995-70, Thermolyne)	Funcionamiento 100% Buen estado	Ninguno	Mantenimiento de rutina
Tanque portátil suplidor de nitrógeno líquido (Thermo 5, TY509X1, Banstead/Thermolyne)	Funcionamiento 100% Buen estado	Ninguno	Mantenimiento de rutina
Selladora para papel de grado médico	Funcionamiento 100% Buen estado	Ninguno	Mantenimiento de rutina
Microscopio trinocular, contraste de fases	Funcionamiento 100% Buen estado	Suciedad de los lentes	Limpieza de lentes

### 3.4. Actividades

Para el desarrollo del presente proyecto se ejecutaron diversas actividades descritas a continuación de acuerdo a su relación con los objetivos específicos.

- A. Validación de los protocolos de cultivo y producción de queratinocitos y fibroblastos.**
- B. Optimización del protocolo de irradiación de fibroblastos**
- C. Establecer el protocolo de criopreservación de células epidérmicas *in vitro*.**
- D. Validación del trasplante clínico de células epidérmicas en pacientes infantiles y adultos.**

#### 3.4.1. Validación de los protocolos de cultivo y producción de queratinocitos y fibroblastos

##### *Equipamiento del Laboratorio de Ingeniería en Tejidos (LAINTEC)*

Se construyó y acondicionó una nueva sección de laboratorio dividida en dos áreas, siendo un sector exclusivo para el lavado de cristalería, preparación de medios, almacenamiento y refrigeración, así como un área limpia para cultivo celular. Este laboratorio cuenta además con una bodega para el almacenamiento de materiales. A todo este laboratorio se le realizó una limpieza a profundidad, donde se aplicó desinfectantes clínicos y etanol al 70% a los muebles, paredes y techo. Posteriormente, se colocó hipoclorito de sodio al 4% y alcohol al 70%. A partir de este momento se hizo estrictamente necesario el uso de mocasines,

guantes y cofia para ingresar al área limpia del laboratorio, mientras que el área de lavado es un área de libre acceso pero que se mantiene limpia. Además, la bodega fue organizada en secciones según el tipo de material y todo fue almacenado en bolsas y cajas debidamente cerradas. Este laboratorio (ubicado al lado del invernadero de investigación del CIB) fue denominado Laboratorio de Ingeniería de Tejidos 2, mientras que el área previamente construida en las instalaciones del CIB se denominó Laboratorio de Ingeniería de Tejidos 1. Para ambos laboratorios se compraron organizadores plásticos para ordenar todos los materiales y reactivos, y todos los muebles y cajas fueron rotulados según sus contenidos (Anexo 1).

Se continuó con el equipamiento del LAINTEC gracias a que se recibieron nuevos equipos donados por la OIEA y comprados por el ITCR, siendo los siguientes: un peachímetro, una balanza, un agitador calentador, un microscopio invertido, una refrigeradora, un congelador de -20°C, una estufa, una cámara limpia, una bomba de vacío, un juego de micropipetas, un pipeteador automático, un tanque para criopreservación, un tanque portátil suplidor de nitrógeno líquido, una selladora de papel de grado médico y un microscopio de contraste de fases. A todos los equipos del laboratorio se les asignó un número y se redactaron los protocolos de funcionamiento y de procedimientos de los equipos nuevos (Anexo 2). Además, los equipos con partes en movimientos fueron etiquetados con una etiqueta de precaución basada en pictogramas, mientras que los refrigeradores y espacios que contienen reactivos químicos fueron también etiquetados con una etiqueta de precaución basada en pictogramas.

Se elaboraron registros de monitoreo para los equipos que lo requieren, registros de mantenimiento y limpieza para todos los equipos y registros de operación (uso diario) de las instalaciones y de todos los equipos (Anexo 3). También se actualizó la codificación para todos estos registros y los registros preestablecidos, citándose todos a continuación.

### Códigos de Equipos

01: Cámara de Flujo Laminar Bio II A/G. Marca: Telstar	11: Refrigeradora 2. Marca: Atlas
02: Incubadora CO2. Marca: Binder	12: Autoclave AE-75-DRY. Marca: Drypa
03: Centrífuga. Marca: AccuSpin 1/1R	13: Estufa. Marca: Memmert
04: Baño María. Marca: Cole Palmer	14: Congelador -70°C. Marca Revco
05: pHmetro. Marca: Inolab WTW	15: Congelador -20°C. Marca Fisher Scientific
06: Balanza. Marca: Ohaus	16: Refrigeradora 3. Marca: Fisher
07: Microscopio Invertido	17: Incubadora CO <sub>2</sub> . Marca: Barnstead International
08: Agitador Calentador. Marca: Cole Parmer	18: Cámara Limpia. Marca: LABCONCO
09: Microondas. Marca: LG	19. Bomba de Aspiración. Marca: Welch
10: Refrigeradora 1. Marca: LG	



## Códigos de Registros

RG-ML-(X) Registro de Mantenimiento y Limpieza - (Número de equipo) <i>Mantenimiento técnico y limpieza según calendario</i>	IB-EQ-(X) Instrucciones Básicas de Uso de Equipo - Número Equipo
RG-MON-(X) Registro de Monitoreo - (Número de equipo) <i>Control T°, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>L</i>	MO-EQ-(X) Manual de Operación de Equipo - Número Equipo
RG-OP-(X): Registro de Operación - (Número de equipo) <i>Uso Diario</i>	IN-EPQ-01: Instructivo de Empaque de Cristalería IN-LV-(X) Instructivo de lavado
RG-OP-G1: Registro de Operación General Lab.1 <i>Uso Diario</i>	IN-LV-01 Instructivo de lavado de Filtro
RG-OP-G2: Registro de Operación General Lab. 2 <i>Uso Diario</i>	RG-IQ-01 Registro Ingreso de Pacientes Quemados
RG-CU-(X) Registro de Cultivos - (Número de equipo) ó <i>(Tipo de tejido)</i> <i>Uso Diario</i>	RG-IU-01 Registro Ingreso Pacientes Ulcerados
RG-CA-(X) Registro de Contaminación Ambiental - (Número Laboratorio)	RG-TQ-01 Registro Tratamiento Pacientes Quemados
	RG-TU-01 Registro Tratamiento Pacientes Ulcerados

En la sección de resultados se indican cuáles de estos registros fueron elaborados o actualizados para cuáles equipos, materiales o procedimientos, y en el Anexo 3 se muestran estos registros.

### *Aseo del laboratorio*

Se elaboró un horario rotativo entre los asistentes para la limpieza de ambos laboratorios, realizando una limpieza general todos los días a primera hora a cargo de la primera persona en ingresar al laboratorio, así como una limpieza meticulosa los días lunes y viernes de cada semana. El aseo incluye limpiar con alcohol 70% todas las superficies expuestas, aseo del piso y limpieza de basureros y gavetas.

### *Revisión de protocolos de lavado y empaque de materiales e instrumentos.*

Se revisó el sistema de lavado y empaque de materiales, acordando utilizar los protocolos previamente establecidos. Se estableció el Laboratorio 2 como sitio único para el lavado y empaque de material, de manera que todo material sucio del Laboratorio 1 es transportado en una bandeja cubierta al Laboratorio 2, donde se lleva a cabo todo el proceso de lavado y empaque. El proceso de autoclavado del material se realiza en las instalaciones del CIB mientras se tramita la

reparación de la autoclave que se encuentra fuera de servicio debido a un desperfecto eléctrico. El material plástico es enviado a esterilizar mediante esterilización en frío al Hospital Nacional de Niños. Además, se mejoró la técnica aséptica, el orden y el aseo en general del laboratorio.

#### *Catálogo de reactivos*

Se inventarió el total de reactivos del laboratorio, y se elaboró un catálogo (Anexo 4) de los mismos, según ubicación en el laboratorio. A cada reactivo se le asignó un código según el catálogo. El catálogo fue impreso y adosado en un folder para tal propósito en el Laboratorio 1; además, se mantiene una copia digital del mismo para continua actualización. El catálogo indica el código asignado a cada reactivo junto a su nombre e información adicional incluyendo: fórmula química, existencias (cuántos frascos o botellas hay de cada reactivo), cantidad (cantidad en litros o gramos de cada reactivo según indicado en el envase individual), lote, marca, número de catálogo según marca, fecha de vencimiento, condiciones de almacenamiento, observaciones adicionales, e información de riesgo y de manejo. Cada reactivo puede repetirse en el catálogo bajo el mismo código si existen varios frascos del mismo reactivo pero de diferente lote y/o marca.

A cada reactivo se le puso una etiqueta (Anexo 5) que indica el código correspondiente junto con la información de riesgo y de seguridad basado en pictogramas. Además, para facilitar la ubicación, a cada reactivo se le puso una etiqueta en la tapa con el código correspondiente y de diferentes colores (blanco y anaranjado), donde las etiquetas anaranjadas indican que el reactivo es particularmente tóxico o peligroso (la toxina colérica, por ejemplo). Cada refrigerador y gaveta indican en la puerta cuáles reactivos están ubicados dentro según su código. Los reactivos peligrosos de almacenamiento a temperatura ambiente se ubicaron en una bandeja de acero inoxidable separados de los reactivos de manejo seguro. Además, refrigeradores, congeladores y gaveta fueron etiquetados como sitios de almacenamiento de material de riesgo químico con una etiqueta basada en pictogramas. Finalmente, las mismas etiquetas de cada reactivo fueron incluidas en un fichero organizado en orden alfabético, incluyendo la información anterior junto con indicaciones específicas de su ubicación en el laboratorio para facilitar su búsqueda.

#### *Preparación de soluciones madre y medios de cultivo*

Para validar los protocolos de cultivo y producción de fibroblastos autólogos, se prepararon diversas soluciones madre y medios de cultivo siguiendo los métodos ya establecidos (Informe Final 2005-2006). Se prepararon las siguientes soluciones madre, listas para ser utilizadas en el momento que se presente un paciente. Estas son: Transferrina, Triiodotironina, Adenina, Insulina, Toxina colérica, Hidrocortisona, Factor de Crecimiento Epidemal, Penicilina-Streptomina, EDTA 2%, Tripsina 0.25%, Tripsina, 0.05%-EDTA 0.02%, Tripsina 0.25%-EDTA 0.02%, Glutamina, Suero Fetal Bovino, Dispasa II, Piruvato de Sodio, Hapes, Sulfoestreptomina, Bencilpenicilina sódica, PBS (con Ca<sup>2+</sup> y Mg<sup>2+</sup>), PBS (sin Ca<sup>2+</sup> y Mg<sup>2+</sup>).

También se prepararon los medios de cultivo de fibroblastos y queratinocitos para su aplicación a paciente. Estos son: medio de transporte de la biopsia, medio de cultivo KGMc – TC (sin toxina colérica), medio de cultivo KGMc-rh-EGT (sin factor de crecimiento), medio de cultivo para fibroblastos DMEMc, medio para congelamiento de fibroblastos y medio para congelamiento de queratinocitos.

#### *Cultivo de fibroblastos y queratinocitos*

Los protocolos de cultivo de las células 3T3, fibroblastos autólogos y queratinocitos autólogos fueron revisados y se mantienen según los métodos ya establecidos (Informe Final 2005-2006).

##### Cultivo de fibroblastos 3T3

El ITCR recibió otro vial de una línea celular de fibroblastos 3T3 (murina) de la ATCC. La línea fue descongelada y amplificada siguiendo el protocolo ya establecido (Informe Final VIE 2005-2006). Una parte de las células fueron irradiadas para utilizarse como base para crecer los queratinocitos humanos, el resto se criopreservó en nitrógeno líquido, para mantener un “stock” de células a utilizarse en el momento en que sean requeridas.

##### Recuento de células y determinación de la viabilidad

Se normaron los procedimientos de ampliación de crecimiento de fibroblastos autólogos (Informe Final VIE 2005-2006), practicando el cultivo primario y secundario de fibroblastos obtenidos de biopsias humanas. Se realizó un estimado por frasco del número celular para conocer cuántos frascos se deben tener en estado de amplificación con células inmaduras antes de un trasplante.

##### Recepción de la biopsia y cultivo de queratinocitos

El laboratorio de Ingeniería de Tejidos recibió varias biopsias de pacientes del HNN para la estandarización de los procedimientos así como de los protocolos aplicados. Aún no ha sido posible cultivar la epidermis pues para cultivar los queratinocitos es necesario realizar un cocultivo con los fibroblastos 3T3 irradiados. Estos no se pueden irradiar ya que se necesita el permiso de CENDEISSS, documento que se encuentra en trámite. Sin embargo, se cultivaron los queratinocitos en medio AmnioMax que crecen sin fibroblastos 3T3.

##### Cultivo de fibroblastos autólogos

A partir de la dermis de las biopsias recibidas se han realizado cultivos primarios y secundarios de fibroblastos autólogos con gran éxito en su evolución y desarrollo.

##### Plasma Rico en Plaquetas

Se practicó la preparación del plasma rico en plaquetas y del gel para el trasplante de células tal como se describe más adelante, en un caso de trasplante y siguiendo los procedimientos ya normados (Informe Final VIE 2005-2006).

### **3.4.2. Optimización del protocolo de irradiación de fibroblastos**

Durante el 2007 se practicó el protocolo de irradiación utilizando células de la línea murina 3T3 así como de cultivos secundarios de fibroblastos de pacientes, siguiendo el procedimiento ya establecido (Informe Final VIE 2005-2006). Sin embargo, durante este año el CENDEISSS prohibió la irradiación de células hasta no aprobar los procedimientos de este proyecto, lo que detuvo estos ensayos hasta nuevo aviso. Además, a inicios del 2008 un desperfecto eléctrico dejó fuera

de funcionamiento la cámara de flujo laminar, indispensable para el cultivo celular. Este equipo no pudo ser reparado hasta finales del 2008 debido a la necesidad de importar los repuestos desde Europa.

### **3.4.3. Establecer el protocolo de crioconservación de células epidérmicas *in vitro*.**

#### *Estandarización de Cultivo y Crioconservación de Fibroblastos 3T3*

Se practicó el congelamiento y descongelamiento de fibroblastos de la línea celular 3T3 según los procedimientos ya establecidos. Sin embargo, dado que durante todo el 2008 no se contó con la cámara de flujo laminar, estos ensayos fueron suspendidos durante este período. Sin embargo, se lograron almacenar 73 crioviales con células 3T3 criopreservadas con un promedio de 6-8 millones de células por criovial con un costo aproximado de \$400 cada criovial. Además, durante noviembre y diciembre del 2008, luego de la reparación de la cámara de flujo laminar, se realizaron pruebas de descongelamiento de 10 de estos crioviales con células 3T3. Estas pruebas se realizaron siguiendo un protocolo distinto al preestablecido (Informe Final 2005-2006) según se describe a continuación. En cada prueba de descongelamiento se sacó un criovial del nitrógeno líquido rápidamente para evitar descongelamiento de las otras células. El vial inmediatamente se colocó en un recipiente con hielo picado para trasladarlo al laboratorio, donde se sumergió durante alrededor de un minuto en baño de agua a 37°C hasta descongelar completamente. Una vez descongelado el criovial se agitó suavemente para homogenizar y se transfirió el contenido completo (1 ml) a una botella de cultivo T25cm<sup>2</sup> con 9 ml de medio para fibroblastos (DMEM completo) precalentado a 37°C. Los frascos fueron incubados a 37°C en una atmósfera húmeda con 5% de CO<sub>2</sub> realizando cambio de medio cada 3-4 días y hasta obtener un 70% de confluencia, momento en el que se realizaron pasajes según los protocolos ya normados (Informe Final 2005-2006) o se descartaron si luego de dos semanas no se observó adhesión y crecimiento celular.

También se realizaron pruebas de crioconservación de fibroblastos autólogos, para lo cual se utilizaron células de una biopsia obtenida de una paciente que padece de Lupus. Se almacenaron 10 crioviales con 1 millón de fibroblastos cada uno, los cuales fueron luego de 6 meses descongelados para evaluar la recuperación celular

### **3.4.4. Validación del trasplante clínico de células epidérmicas en pacientes infantiles y adultos**

A través de la Dra. Yaneth Prada, una de sus pacientes solicitó al ITCR y a la CCSS la aplicación de los protocolos del LAINTEC en una úlcera crónica debido a su condición de Lupus. Esta solicitud se basó en razones humanitarias, ya que la paciente ha padecido su condición por largo tiempo y su herida es incapacitante y dolorosa. Así, aunque aún no se cuenta con el permiso del CENDEISSS para

aplicar los procedimientos del LAINTEC en humanos, se obtuvo un permiso extraoficial para este caso por recomendación del médico y solicitud directa del paciente.

Mediante los formularios de “Registro de Ingreso de Pacientes Ulcerados” y por medio de la información incluida en el expediente médico se registró en forma privada los datos de la paciente que se encontraba en el HSJD. Al paciente se le registraron todos los datos personales, se llenó una ficha que fue diseñada para cada paciente trasplantado en el proyecto. Los médicos realizaron pruebas específicas recomendadas por el personal médico que trabaja dentro de proyecto.

En el LAINTEC se estableció un cultivo primario de fibroblastos a partir de una muestra de piel de la paciente según los procedimientos mencionados previamente. Una vez que se amplificaran los fibroblastos en por lo menos unos 20 millones de células se procedió a coordinar con el HSJD para realizar el trasplante en la sala de operaciones. A la paciente se le curó la úlcera durante quince días antes y se le quitaron los antibióticos una semana antes del trasplante. Un día antes a la paciente se le colocó un suero (goteo) para lavar la herida antes de la aplicación de los fibroblastos.

Los fibroblastos de la paciente se resuspendieron durante la mañana en el Laboratorio de Ing. de Tejidos del ITCR. Se procedió a contar los fibroblastos para saber las cantidades que se iban a aplicar a al paciente. Se colocaron dos millones de fibroblastos con suero pobre en plasma de la paciente en tubos cónicos con un volumen total de 1 ml. Esto se empacó y se rotuló la hielera de transporte con su respectivo protocolo de procedimiento establecido en el Laboratorio de Ingeniería de Tejidos del ITCR. Se coordinó estrictamente los tiempos de espera de la paciente y el tiempo que se duraría en transportar las células, este proceso debe ser muy cuidadoso, no se puede retardar la espera de la paciente ni de las células.

Una vez en sala de operaciones se procedió a preparar la paciente en condiciones estériles dejando solo la herida expuesta. Mientras tanto, a cada vial de células se le agrega 9 mililitros de plasma rico en plaquetas de la paciente donde fue preparado por el Laboratorio de Hematología del Hospital. A estos se le agregaron 0.6 ml de gluconato de calcio y posteriormente 0.4 ml de trombina (protocolo establecido en el ITCR). Cada gel aplicado al paciente se sostuvo con gasa vaselinizada y se continuó con los protocolos de vendaje establecido del HSJD.

A la paciente se le midió la úlcera largo y ancho y se trató de caracterizar la condición de la úlcera. Se procedió a la aplicación del gel en conjunto con los asistentes en medicina y los médicos del proyecto (Dra. Yaneth Prada). Posteriormente se procedió a colocar los vendajes de rutina para una úlcera. Este proceso se llevó a cabo cuatro veces más (18 de diciembre, 27 de diciembre, 2 de enero y 18 de enero del 2007-2008) con la misma y única paciente tratada al momento.

### *Procedimientos Hospitalarios*

En conjunto con los médicos de cada uno de los hospitales se procedió a redactar o afinar los documentos de los procedimientos que se aplicarán a los pacientes que ingresen con quemaduras, úlceras o traumas (Anexo 6). En múltiples reuniones con los médicos del Hospital San Juan de Dios y el Hospital México se logró conformar un documento que no existía. El HNN sí contaba con un documento; sin embargo, se revisó exhaustivamente y se logró afinar.

### *Cálculo de costos por paciente*

Se procedió a realizar los cálculos de gastos por paciente tratado en cada uno de los centros hospitalarios. Se tomó como muestra a un paciente con 30 % de quemadura en el Hospital Nacional de Niños, a un paciente adulto con quemaduras de un 30 % del Hospital San Juan de Dios y por último a un paciente con úlcera crónica que al menos llevara de tratamiento hospitalario 3 años. Por otro lado se realizó un cálculo de los costos que implicar cultivar piel dentro de las instalaciones del ITCR. Esta información fue requerida para elaborar el documento del CENDEISSS y está incluida dentro de los formularios AP-IV y AP-V (Anexo 7). Para ejecutar esta acción se realizaron múltiples reuniones con los especialistas médicos. De esta manera se logró cuantificar todos y cada uno de los gastos requeridos para atender a los pacientes, entre ellos están: enfermería, medicamentos, comida, estancia, instrumentos desechables, salas de operación y curaciones, médicos (tiempo) etc. cálculos de gastos por paciente tratado en cada uno de los centros hospitalarios.

### *Documentos de CENDEISSS*

Se terminó de completar los documentos que se presentaron al Comité de Bioética de la CCSS. La documentación completa (Anexo 7) se entregó al CENDEISSS para revisión al finalizar el mes de Octubre del 2008 y para Diciembre de este año aún no se ha recibido noticia de los resultados en términos de la aprobación de los protocolos o de necesidad de correcciones.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Validación de los protocolos de cultivo y producción de queratinocitos y fibroblastos

#### *Equipamiento del Laboratorio de Ingeniería en Tejidos (LAINTEC)*

Se cuenta con tres áreas de laboratorio equipadas que incluyen dos áreas para cultivo celular y un área común para lavado y empaque de cristalería y plásticos, así como para ubicación del equipo de refrigeración. También se cuenta con una bodega para almacenamiento de materiales en general. Las tres áreas de laboratorio han sido acondicionadas para el cultivo celular, se mantienen bajo estrictas condiciones de limpieza y todas las gavetas, cajas, muebles y equipos han sido rotulados. Se mantiene un registro permanente de ingresos a los laboratorios.



**Figura 1. Área de lavado del Laboratorio de Ingeniería de Tejidos 2.**

Los equipos de laboratorio se encuentran la mayoría en perfecto estado y funcionamiento, excepto la cámara de flujo laminar (desde enero 2008 hasta finales de noviembre del 2008), el autoclave (octubre 2007-actualidad) y la incubadora de CO<sub>2</sub> Binder (setiembre 2008-actualidad). Estos equipos presentan desperfectos eléctricos que impiden su funcionamiento debido a una sobrecarga eléctrica en el sistema del CIB. A todos los equipos se les realizó el mantenimiento preventivo y se mantienen registros al día de su uso y mantenimiento general o técnico.

#### *Preparación de soluciones madre y medios de cultivo*

Todos los reactivos se encuentran etiquetados, catalogados y se mantiene un registro periódico de su uso y conservación. Se han preparado todas las soluciones y medios de cultivo necesarios para el cultivo de células de piel.

#### *Sistematización de Recuento de Células y Determinación de la Viabilidad*

Los procedimientos de ampliación de crecimiento de fibroblastos autólogos se realizaron con éxito para una de las biopsias recibidas (paciente con Lupus), lográndose amplificar las células en promedio 15 días después de recibir la biopsia. Esto representó un resultado muy positivo debido a que la paciente de origen de la biopsia padece Lupus, y por tanto es una condición negativa para

obtener fibroblastos en tan poco tiempo; sin embargo, se logró contar con 25 cajas T 125 con 8 millones de células cada una. Esto permitió realizar el primer trasplante 15 días después de recibir la biopsia. Se corroboraron cada de los procedimientos ejecutados y desde el recibimiento de la biopsia hasta llevar el cultivo al hospital. No se detectaron problemas de contaminación ni de deformidades de los fibroblastos autólogos.

También se trabajó con una muestra de un paciente del Hospital México con 75 años, fumador, con problemas de glicemia e hipertensión. En este caso, se tuvo problemas en la amplificación de sus fibroblastos. Estos se amplificaron lentamente, deformes y en un número muy deficiente no llegando a alcanzar ni siquiera un millón de células por frasco T 125.

### *Cultivo de fibroblastos autólogos*

Se recibieron varias muestras de piel de pacientes de la Unidad de Quemados del Hospital San Juan de Dios y del Hospital México, así como del Departamento de Dermatología del Hospital Nacional de Niños. La obtención de la muestra se ejecutó mediante un procedimiento quirúrgico como la toma de una biopsia de piel con bisturí cilíndrico (punch) bajo anestesia local. Luego de la escisión quirúrgica se colocó la muestra en un recipiente estéril con medio DMEM con penicilina y estreptomycinina y se guardó a 4° C, para ser trasladado a las instalaciones del ITCR, donde se establecieron cultivos primarios de fibroblastos a partir de las muestras.

En las instalaciones del ITCR, se limpiaron las muestras con PBS y antibiótico, se le quitó la sangre, los vellos y la grasa. Posteriormente se procedió a ejecutar la separación de capas con los protocolos ya normados (procedimiento ya establecido). Una vez adheridos los trocitos de piel en los frascos se cultivaron a una atmósfera al 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C y en un medio DMEM para fibroblastos suplementado suero fetal bovino, L glutamina y antibióticos. Se realizaron subcultivos cada 4 días hasta alcanzar una confluencia 70 % y así evitar que estos lleguen a estados maduros. A los cultivos se les cambió el medio dos veces por semana. Para amplificar cada uno de los frascos, se les extrajo primero el medio de cultivo y posteriormente se lavaron con PBS, luego se le quitó el PBS para agregar 3-4 ml de tripsina. Esta se dejó durante 3 a 4 minutos dentro de la incubadora. Un vez que los fibroblastos se resuspendieron se neutralizó la tripsina con medio DMEM y suero fetal bovino. Se volvió agregar DMEM y se llevó a la centrifuga a 1200 rpm durante 10 minutos. Se le quitó el sobrenadante y se procedió a contar las células vivas mediante tinción con Azul de Tripán para proceder a separar la muestra en los diferentes frascos con un total de por lo menos  $1 \times 10^6$  células.

A cada caja con las células inmaduras se le agregó de nuevo DMEM con suero fetal bovino y antibiótico, se colocaron en la incubadora a 5 % de CO<sub>2</sub> y a 37°C. Las muestras de células se mantuvieron en cultivo hasta observar senescencia o cambios morfológicos. Estos procedimientos fueron realizados para practicar los



protocolos de cultivo de fibroblastos y para esta biopsia se logró realizar el trasplante de fibroblastos, tal como se describe más adelante.

#### **4.2. Optimización del protocolo de irradiación de fibroblastos**

Durante el 2007 se practicó el protocolo de irradiación utilizando células de la línea murina 3T3 así como de cultivos secundarios de fibroblastos de pacientes, siguiendo el procedimiento ya establecido (Informe Final VIE 2005-2006). Los fibroblastos de muestras de biopsias de pacientes humanos fueron irradiados en el Servicio de Radioterapia del Hospital San Juan de Dios, a donde se trasladaron muestras de 15-50ml con una concentración de al menos un millón de células por mililitro de fibroblastos en suspensión en medio de cultivo DMEM completo. Los encargados de radioterapia calcularon el tiempo, intensidad y distancia de irradiación según el grosor del recipiente contenedor (tubos Falcon de 15 o 50ml) hasta irradiar la muestra con una dosis subletal. Las muestras fueron transportadas de vuelta al ITCR, donde se cultivaron en frascos T25cm<sup>2</sup> y se evaluó su viabilidad y proliferación. Al igual que en experiencias previas, se observó que las células permanecen vivas en cultivo alrededor de 15 días en promedio. Dado que el CENDEISSS prohibió la irradiación de células hasta no aprobar los procedimientos de este proyecto y además debido al desperfecto de la cámara de flujo laminar, se detuvo estos ensayos hasta nuevo aviso.

#### **4.3. Establecer el protocolo de crioconservación de células epidérmicas *in vitro***

El Laboratorio de Ingeniería de Tejidos cuenta con un almacenaje de 73 crioviales con células 3T3 criopreservadas con un promedio de 6-8 millones de células por criovial con un costo aproximado de \$400 cada criovial. Los procedimientos de criopreservación de los fibroblastos 3T3 se encuentran sistematizados y han permitido practicar y dominar las técnicas de recuento de células y determinación de la viabilidad celular. Sin embargo, el protocolo de descongelamiento deberá ser practicado y aún estandarizado, ya que de los 10 crioviales que fueron descongelados durante este proyecto, sólo uno de ellos permitió el cultivo celular secundario exitoso de las células, mientras que todos los otros viales tuvieron que ser descartados por falta o ausencia total de adhesión y proliferación. Esto podría deberse a que algunos de los crioviales fueron (por falta de recipientes) almacenados en altas concentraciones superiores a las recomendadas, lo cual puede haber dificultado que el criopreservante haya efectivamente protegido del daño por formación de cristales de hielo a todas las células en el criovial, lo que implica que muchas de las células pudieron ser destruidas durante el congelamiento.

Además, en las pruebas de descongelamiento de fibroblastos autólogos ninguno de los crioviales permitió establecer el cultivo secundario de fibroblastos, siendo que en ningún caso se obtuvo adhesión celular. En este caso, se debe tener en cuenta que las células proceden de una paciente que padece de Lupus, condición

que podría causar resultados negativos como este y que excluyen el caso para la discusión de resultados.

#### **4.4. Validación del trasplante clínico de células epidérmicas en pacientes infantiles y adultos**

El expediente de la paciente permanece en el HSJD con los datos del trasplante. La paciente padece la enfermedad Lupus y una de las consecuencias mayoritarias de esta condición es la presencia de una úlcera en la pierna izquierda desde hace doce años con dolores intensos. La paciente se trataba con morfina para los dolores causados por la úlcera. La paciente no podía ser tratada con queratinocitos ya que la úlcera era muy profunda, lo que se pretendió era tratar de estabilizar y de reducir la profundidad de la misma.

##### *Primer trasplante*

Las dimensiones de la úlcera eran inicialmente de 17 x 18 cm con una profundidad aproximada de un centímetro en el centro y los bordes se observaron levantados. La coloración mostrada por la úlcera era roja sin características de infección ni áreas necrosadas. En total la paciente recibió 10 millones de células en el área afectada, las aplicaciones se realizaron por partes para retener el gel con la gasa vaselinizada, de esta manera quedó retenida si perder fibroblastos. Las células se dividieron en cuatro tractos para ser aplicadas individualmente dispersando el gel por toda la superficie. La aplicación no causa dolor al paciente, sin embargo se debe tener cuidado de no tocar la úlcera para evitar dolor (Fig. 2, 3 y 4).



**Figura. 2: Paciente con úlcera en pierna izquierda, su longitud es de 18 cm y 17 cm de ancho.**

Una semana después se reportó que la paciente no tenía dolor en la úlcera después de doce años de padecerla, este es un de los resultados mas valiosos del tratamiento porque no se puede calcular el valor o costo de tratamiento en estos términos. A partir de este momento la paciente se incorpora a las actividades sociales y presentando una mejor calidad de vida.



**Figura 3. Preparación del gel en sala de operaciones, fibroblastos con plasma rico en plaqueta mas trombina y gluconato de calcio.**



**Figura 4. Gel preparado con los fibroblastos y aplicación a la paciente.**

### *Segundo Trasplante*

En la segunda aplicación se colocaron 15 millones de fibroblastos, los cuales fueron repartidos en cinco aplicaciones. Se trabajó con plasma rico en plaquetas en mayor concentración, esto con el fin de obtener mayor gelificación del plasma y este pudiera retenerse con mayor facilidad (Fig. 5 y 6). Sin embargo, no se recomienda debido a que no se distribuye en forma homogénea en la úlcera y su aplicación se complica ya que tiende a formar grumos. Después de la primera aplicación la úlcera se observa menos profunda y la coloración negra a su alrededor ha desaparecido, se reduce el tamaño de 16 cm x 17 cm. No existe dolor en la paciente.



**Figura 5. Segunda curación de la paciente, se observa el borde menos negro y la herida no tan profunda como la primera vez.**



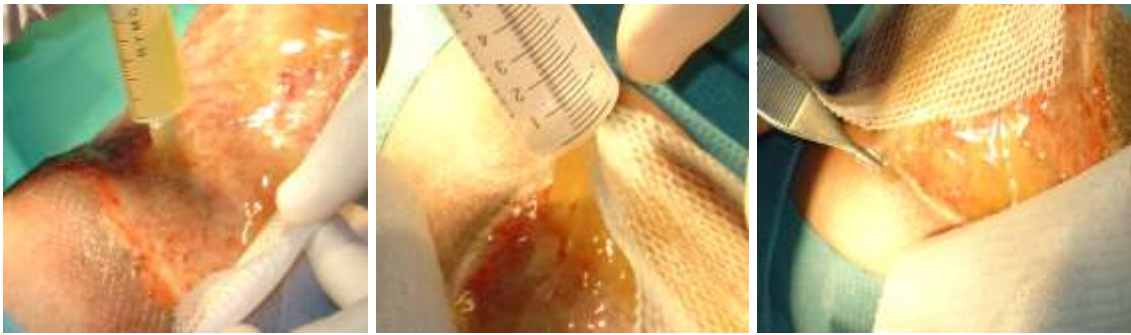
**Figura 6. Finalización del trasplante y se procede a cubrir la úlcera con el protocolo establecido en el HSJD.**

### *Tercer trasplante*

En el tercer trasplante se colocan 20 millones de fibroblastos, los cuales fueron repartidos en cinco aplicaciones. Las células se prepararon con plasma rico en plaquetas con la concentración normal. La úlcera presenta un avance significativo, para este momento se observa claramente el borde de la úlcera bien formado. El color es bastante homogéneo, lo que da un aspecto de recuperación excelente y la profundidad se reduce notablemente. Se denota la formación de una membrana blancuzca de dermis bastante pareja (Fig. 7 y 8). La paciente continúa sin dolor y continúa incorporada a actividades sociales. El área de la úlcera, se reduce 14 cm x 16 cm.



**Figura 7. El color de la úlcera es homogéneo, la profundidad es menor y aparece un borde de cicatrización.**



**Figura 8.** La aplicación del gel se sostiene con la gaza vaselinizada en excelentes condiciones

#### *Cuarto Trasplante*

La paciente presenta un borde el la úlcera bastante claro y desaparición la coloración negra alrededor de la úlcera significativamente. Se puede notar que se redujo la profundidad y el gel se sostiene mejor (Fig. 9 y 10). La coloración es blanca con formación de membranas abarcando mayor área que en la tercera aplicación. El área de la úlcera alcanza 14 cm x 16cm.



**Figura 9.** Úlcera con menor profundidad y menor área y borde bien conformado.



**Figura 10.** Úlcera con menor profundidad, y se observa el vendaje utilizado de rutina en pacientes que presentan úlcera.

La paciente no se pudo seguir trasplantando debido a que presentó una crisis de Lupus y por orden de los especialistas se suspendió todos los tratamientos debido a la administración de antibióticos y otros medicamentos que no favorecían con el avance del trasplante. Un mes después, se reportó que la paciente perdió todo el tratamiento y que lamentablemente todavía se encontraba internada.

## *Documentación*

Se calcularon los gastos por paciente tratado en cada uno de los centros hospitalarios y el cálculo de los costos para cultivar piel dentro de las instalaciones del ITCR (documento del CENDEISSS, formularios AP-IV y AP-V, Anexo 7) . También se completó la documentación para presentar el proyecto para aprobación del Comité de Bioética de la CCSS. La documentación completa (Anexo 7) se entregó al CENDEISSS para revisión al finalizar el mes de Octubre del 2008 y para Diciembre de este año aún no se ha recibido noticia de los resultados en términos de la aprobación de los protocolos o de necesidad de correcciones.

## **5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

### **5.1. Conclusiones**

Mediante el presente proyecto se logró alcanzar los siguientes puntos:

- Se establecieron y optimizaron dos áreas de cultivo celular, un área de lavado, empaçado y preparación de medios y soluciones y una bodega, en dos laboratorios con condiciones especiales para cultivo celular en el Centro de Investigación en Biotecnología del Instituto Tecnológico de Costa Rica, constituyéndose como el único laboratorio en la región centroamericana con capacidad para suministrar material celular producido mediante ingeniería de tejidos para el tratamiento de pacientes humanos con lesiones en la piel.
- Se optimizó el protocolo de cultivo primario y secundario de fibroblastos humanos, así como el cultivo secundario de fibroblastos murinos 3T3.
- Se practicó el cultivo de queratinocitos utilizando medios definidos.
- Se practicó el protocolo de irradiación de fibroblastos murinos
- Se estableció y optimizó el protocolo de crioconservación de células 3T3.
- Se continuó con el fortalecimiento del equipo de trabajo interdisciplinario e interinstitucional participante, incluyendo médicos, personal de enfermería, microbiólogos, biólogos y biotecnólogos.
- Se trató un único paciente bajo un permiso extraordinario de la CCSS con los protocolos del ITCR, obteniéndose un éxito parcial. En este caso, se logró cultivar células de la piel del paciente, expandirlas en el laboratorio con éxito y transplantar fibroblastos autólogos de vuelta al paciente en una úlcera profunda en una pierna. Estas células mejoraron la condición de la herida al punto que el paciente indicó que por primera vez en 12 años dejó de sentir dolor y se pudo reincorporar a su vida cotidiana. Sin embargo, dado que este paciente padece de Lupus, se debió suspender el tratamiento por una crisis de esta enfermedad.
- Se completó y se presentó al CENDEISSS la documentación necesaria para obtener la aprobación de la CCSS para el tratamiento de pacientes humanos con los protocolos del ITCR.

### **5.2. Recomendaciones**

- Contratación de más personal capacitado en el área de cultivo de tejidos para suplir las necesidades de los laboratorios del ITCR.

- Compra de nuevos equipos, especialmente otra cámara de flujo laminar, y otros, que permitan amortiguar tanto la carga de trabajo esperada como la eventualidad de desperfectos en los equipos actuales.
- Contemplar a mediano plazo la posibilidad de ofrecer los protocolos del LAINTEC a hospitales privados para el tratamiento de pacientes con afecciones de la piel y a centros de cirugía reconstructiva.
- Ampliar el área logística de investigación y docencia en cultivo celular e ingeniería de tejidos para sustentar académicamente el LAINTEC.



## 6. REFERENCIAS

1. Amado, S. 1998. Principios sobre la Piel en: Lecciones de Dermatología. Editorial Mexicana. Pp 600.
2. Arvelo, F. Ingeniería de tejidos y producción de piel humana in vitro. 2007. Investigación Clínica Vol. 48 (3): 367-375.
3. Avalos A. 2003. Piel de niñas se regenera tras injerto exitoso. La Nación. San José, Costa Rica. Junio, 4
4. Barahona M. 2002. Informe Anual: Oficina Pro-niño quemado. Hospital Nacional de Niños. San José Costa Rica.
5. Barrandon, Y. y Green, H. 1985. Cell size as a determinant of the clone-forming ability of human keratinocytes. Proc Natl Acad Sci USA 82: 5390–5394
6. Bello, Y.M. y Falabella, A.F. 2001. Use of skin substitutes in dermatology. Dermatol Clin 19:555-561.
7. Brain A, Purkis P, Coates P, Hackett M, Navsaria H, Leigh I. 1989. Survival of cultured allogenic keratinocytes transplanted to deep thermal bed assessed with probe specific for Y chromosome. BMJ, 298: 917-919.
8. Brychta, R; Adler, J; Rihovd, V y Komdrkovd, J. 1994. Cultured Skin cells for treatment of Burns. Ann. Medit. Burns Club 71(4): 206-208.
9. C.C.S.S. 2002. Dpto. Información Estadística de Servicios de Salud.
10. Clancy, J.M; Shehade, S.A; Blight, A; Young. K.E y Levick, P.L. 1988. Treatment of leg ulcers with cultured epithelial grafts. J Am Acad Dermatol 18: 1356-1357
11. Cofán, M. y J. Fernández-Solá. 1992. Cultivos celulares: utilidad en investigación biomédica. Medicina Clínica. Barcelona. 98: 782-789.
12. Davis, J.M. 2002. Basic Cell Culture. Segunda edición. Impresa por Oxford University Press, Inc. Estados Unidos de América. Pags. 227-262.
13. Falanga V y Sabolinski MA. 1999. A bilayered living skin construct (Apligraf) accelerates complete closure of hard-to-heal venous ulcers. Wound Repair and Regeneration 7:201-207.

14. Fraunhofer Institute Systems and Innovation Research. 2003. Human Tissue Engineered products-Today' s Markets and Future Prospects. B. Hüsing, B. Bührlen and S. Gaisser. Editors. April 28. 57 pp.
15. García, F.E; Maruri. N; Arrieta, A y Ririon. M. 2000. Analysis of proliferation/differentiation and immunogenicity of cultured human keratinocytes and normal human epidermis. *Ann Burns Fire Disasters* 13(3): 148-154
16. Gielen V, Faure M, Maudit G, Thivolet J. 1987. Progressive replacement of human cultured epithelial allografts by recipient cells as evidenced by HLA class I antigens expression. *Dermatologica* 175:166-70
17. Hauben, D.J; Baruchin. A y Mahler, A. 1982. On the history of the free skin grafo. *Ann Plast Surg* 9:242-245.
18. Hierner, R; Degreef, H; Vranckx, J; Garmyn, M; Massage, P y van Brusse, P. 2005. Skin grafting and wound healing - the dermato-plastic team approach. Department of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery, Hand- and Microsurgery, Burn Center, University Hospital Campus Gasthuisberg. Catholic University of Leuven. Department of Dermatology, University Hospital Campus St. Raphael, Leuven, Belgium. *Clinics in Dermatology* 23, 343-352
19. Hill, T.G. 1987. The evolution of skin graft reconstruction. *J Dermatol Surg Oncol* 13: 834-835.
20. H.N.N. 2005. Dpto. Información Estadística.
21. Jaramillo, O. 1998. Programa de Postgrado en Dermatología. UCR, SEP, CENDEISS. p15.
22. Knighton, D.R. y Fiegel, V.D. 1989. Macrophage-derived growth factors in wound healing. Regulation of growth factor production by oxygen microenvironment. *Ann Rev Respir Dis* 140:1108-11.
23. Light, D. 2004. *Your Body – How it Works – Cells, Tissues and Skin.* Chelsea house Publishers. Estados Unidos. Pp: 155.
24. Limat, A; Mauri, D y Hunziker, T. 1996. Successful treatment of chronic leg ulcers with epidermal equivalents generated from cultured autologous outer root sheath cells. *J Invest Dermatol* 107:128-135.

25. Lloyd-Evans y BioBridge. 2002. Development of Biodegradable Scaffold for Dermo-Epidermal Skin Grafts. Reino Unido. <<http://www.biomateria.com>> Visitado: 08-06-2005.
26. Loss, M; Wedler, V; Kunzi, W; Meuli-simmen, C y Meyer, V.E. 2000. Artificial skin, split-thickness autograft and cultured autologous keratinocytes combined to treat a severe burn injury of 93% of TBSA. *Burns* 26:644-652.
27. Majono, G. 1975. The healing hand: man and wound healing in the ancient World. Cambridge, MA:Harvard University Press.
28. Martin, B.M. 1994. Tissue Culture Techniques: An Introduction. Editorial Birkhauser Boston. Impresa por Braun-Brumfield, Inc. Estados Unidos de América. Pags. 1-3
29. Mathews, D.N. 1941. Dressing of open wounds and burns with tulle gras. *Lancet* (abstract) 1:43.
30. Rheinwald, J y Green, H. 1975. Serial Cultivation of Strain of human epidermal keratinocytes: the formation of keratinizing colonies from single cells. *Cell* 6: 331-344
31. Rue, L.W. IIIrd; Cioffi, W.G.; McManus, W.F. y Pruitt, B.A. Jr. 1993. Wound closure and outcome in extensively burned patients treated with cultured autologous keratinocytes. *J Trauma* 34:662-667.
32. San Román, J.; A. Gallardo; B. Vázquez, A. López Bravo. 2000. Ingeniería de tejidos: contribución de los polímeros al desarrollo de los procesos de regeneración tisular. *Anales de la Real Sociedad Española de Química. Segunda Época. Enero-Marzo.*
33. Svensjo T, Yao F, Pomahac B, Eriksson E. 2001. Autologous keratinocytes suspensions accelerate epidermal wound healing in pigs. *J Surg Res* 99:211-221.
34. The Whitaker Foundation. 2005. Bioengineered skin <<http://www.whitaker.org>> Visitado :29-05-2005.
35. Winter, G.D. 1962. Formation of scab and the rate of epithelialization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig. *Nature* 193:293-294.

# ANEXOS

## ANEXO 1 ETIQUETAS DE ROTULACIÓN DEL LABORATORIO


<p>CONGELADOR 1 REFRIGERADOR 1 (4°C) CONGELADOR 2 REFRIGERADOR 2 (4°C) REFRIGERADOR 3 (4°C) INCUBADORA DE CO<sub>2</sub> 1</p>	<p>INCUBADORA DE CO<sub>2</sub> 2 CÁMARA DE FLUJO LAMINAR 1 CÁMARA DE FLUJO LAMINAR 2 AUTOCLAVE</p>	<p>CRISTALERIA CRISTALERIA AUTOCLAVADA REACTIVOS A REACTIVOS B AGITADOR-CALENTADOR</p> <p>BITACORAS PARA BAJO MANTENIMIENTO Y REPARACIÓN EQUIPOS MANUALES EQUIPOS</p>
<p>REACTIVOS C REACTIVOS D REACTIVOS E REACTIVOS F CENTRIFUGA</p> <p>CRISTALERIA</p>	<p>MICROONDAS PIPETAS PLASTICAS TUBOS FALCON 50ml TUBOS FALCON 15ml REACTIVOS C DE RESERVA →</p> <p>CONTROL REACTIVOS EQUIPAMIENTO CULTIVOS</p>	<p>BOTELLAS CULTIVO BOTELLAS CULTIVO GRANDES (T175) BOTELLAS CULTIVO PEQUEÑAS Y MEDIANAS (T125) CONGELADOR -20°C</p> <p>FIBRA/FILTRACION MEDIOS</p>
<p>MICROPIPETAS Y PUNTAS PIPETAS DESCARTE CONGELADOR -70°C EQUIPO FILTRACION ERLENMEYERS GRANDES HEMATOCITOMETRO</p>	<p>FRASCOS DE DESCARTE TUBOS DE ENSAYO BOTELLAS PYREX PLATOS PETRI MATERIAL DE LAVADO</p> <p>POSIFOROS CONTROL AIRE PILAS LLAVES EQUIPO PULVER LAPICEROS MARCADORES TIJERAS CUBIERTA BROCHAS</p>	<p>AGITADOR-CALENTADOR MATERIAL DE RESERVA → MICROPIPETAS Y PUNTAS PIPETAS TUBOS FALCON BOTELLAS CULTIVO BOTELLAS PLASTICAS HEMATOCITOMETRO</p> <p>BALANZA ANALITICA PINZAS</p>
<p>MATERIAL DE RESERVA BITACORAS Y REGISTROS MANUALES DE EQUIPO CATALOGOS Y LIBROS MATERIAL DE EMPAQUE BANDEJAS PLASTICAS BOLSAS PLASTICAS GRADILLAS CAJAS CRIOVIALES</p> <p>PLANTILLA ELECTRICA</p>	<p>pHMETRO PIPETEADOR LIGAS MASKING TAPE PAPEL ALUMINIO PLASTICO ADHESIVO PAPEL GRADO MEDICO MATERIAL PARA AUTOCLAVAR CARGADOR DEL PIPETEADOR</p> <p>MICROSCOPIO INVERTIDO</p>	<p>MATERIAL PLÁSTICO PARA ESTERILIZAR HNN MATERIAL PLASTICO PARA ESTERILIZAR HNN EQUIPAMIENTO CULTIVOS</p> <p>CONTROL REACTIVOS BIOPRODUCCIONES</p>

<p>CHUNCHITOS</p> <p>MATERIAL PARA EMPACAR</p> <p>MATERIAL PARA LAVAR</p> <p>MATERIAL PARA AUTOCLAVAR</p> <p>MATERIAL STEPHANIE</p> <p>MATERIAL SILVIA</p>	<p>PAPEL GRADO MEDICO RECYCLADO</p> <p>AGUA DESTILADA</p> <p>MATERIAL DE LIMPIEZA Y LAVADO</p> <p>CHUNCHITOS</p> <p>CHUNCHITOS</p> <p>PROBETAS</p>	<p>MATERIAL EMPAQUE</p> <p>BATAS Y UNIFORMES MEDICOS</p> <p>MATERIAL EMPAQUE</p> <p>EBUQUETAS PAPEL A DIBUJAR POSTIT PAPEL MICROSCOPIO</p> <p>TUBOS FALCON</p> <p>PRENSAS FILTRO</p> <p>PIPETAS VIDRIO</p>
<p>FILTROS</p> <p>BOTELLAS PLÁSTICAS</p> <p>PIPETAS 1ml</p> <p>PIPETAS 5ml</p> <p>PIPETAS 10ml</p> <p>REPUESTOS</p> <p>CLORO</p> <p>ALCOHOL 70% pH 3</p> <p>DESINFECTANTE</p>	<p>PIPETAS 25ml</p> <p>TIJERAS</p> <p>BISTURI</p> <p>ESPÁTULAS</p> <p>PINZAS</p> <p>PASTILLAS MAGNÉTICAS</p> <p>BALANZAS PARA PESAR</p> <p>HOJAS BISTURI</p> <p>ERLENMEYERS</p> <p>TIJERAS BISTURI</p> <p>PROBETAS REB</p> <p>GUANTES</p> <p>JERINGAS</p> <p>KITASATOS</p> <p>BEAKER</p> <p>EMBUDOS</p>	<p>ESPÁTULAS</p> <p>GOTEROS</p> <p>PIPETAS PASTEUR</p> <p>JERINGAS</p> <p>BAÑO MARIA</p> <p>PAPEL TOALLA</p> <p>REPUESTOS</p> <p>PARLANTES</p> <p>OTROS EQUIPOS</p> <p>MASCARILLAS GASAS</p> <p>GUANTES</p> <p>MASCARILLAS GASAS</p> <p>GUANTES ALGODÓN</p> <p>COFIAS</p> <p>BALONES</p>

## ANEXO 2 MANUALES DE OPERACIÓN DE EQUIPOS

### MO-EQ-(X). Manual de Operación de Equipo - Número Equipo

Los manuales de operación ML-EQ-01 (Cámara de Flujo Laminar Telstar), ML-EQ-02 (Incubadora de CO<sub>2</sub> BINDER), ML-EQ-03 (Centrífuga Accuspin) y ML-EQ-12 (Autoclave) se mantuvieron iguales que en la previa realización (Informe Final 2005-2006), pero se les asignaron nuevos códigos de rotulación según los números de códigos de equipos. El resto de los manuales elaborados durante el presente proyecto se incluyen a continuación.

	Código: ML – EQ – 04	Fecha Emisión: Nov/08
	“Baño María <u>Cole-Parmer</u> ”	Próxima Revisión: Nov/09
		Nº de Revisión: 1

#### 1. Objetivo

Establecer los lineamientos a seguir en cuanto a instrucciones de instalación e ingreso de datos del Baño María Cole-Parmer.

#### 2. Alcance

Este documento rige para el Laboratorio de Ingeniería de Tejidos del Instituto Tecnológico de Costa Rica, del Centro de Investigación en Biotecnología.

#### 3. Responsables

Es responsabilidad del coordinador del laboratorio velar porque este manual operativo sea aplicado de la forma correcta y que esté al alcance de todas las personas que laboran en el laboratorio.

#### 4. Localización

Situar el aparato en un mesa estable que esté nivelada en un área libre de humedad, polvo y variaciones de temperatura ambientales, mantenerla alejada de fuentes de calor y aire acondicionado.

#### 5. Llenado de líquidos

Llenar el baño hasta una pulgada del borde superior del mismo luego de que las muestras sean colocadas en el baño. Para asegurar de una lectura correcta de la temperatura, no debe ser menor de dos pulgadas del fondo del baño. El uso del baño sin algún fluido no la va a dañar, pero puede causar decoloración del tanque y no va a brindar información correcta temperatura. El uso de agua destilada es preferencial, sin embargo una variedad de fluidos pueden ser utilizados dependiendo de la aplicación. El fluido tiene que ser compatible con series de acero inoxidable 300. Si se utilizara agua, se le pueden añadir unas cuantas gotas de Lab Algicide para evitar la formación de algas.

Los siguientes fluidos no se recomiendan:


- Flamables
- Agua demonizada
- Cloro
- Anticongelantes automovilísticos con aditivos
- Soluciones fotográficas
- Soluciones concentradas de ácidos o bases
- Ningun ácido con la más mínima concentración de: cloruro, fluoruro, sulfuro o sales de cromo
- **Nota:** vapores de soluciones ácidas pueden causar corrosión al tanque

## 6. Operación

1. Llene el tanque con el nivel del fluido apropiado (no más de una pulgada del borde superior y no menos de 2 pulgadas del fondo del tanque)
2. Presione el botón de poder del panel de control. Se observará una pequeña luz en el set. Después de 10 segundos, la temperatura actual se observará en la pantalla

### 6.1. Notas de operación

Para óptimos resultados mantener el nivel del fluido estable durante el periodo de operación, adicionando fluido como sea necesario. Adicionar el fluido a una temperatura similar a la que se encuentra en el baño. Use la tapa del baño y/o balones plásticos huecos flotantes para ayudar a prevenir la pérdida de calor y vapor. Esta unidad es diseñada solo para uso bajo techo, con una temperatura ambiente entre 4 °C a 35 °C (95 °F), y una humedad relativa no superior a 75%.

	Código: ML – EQ – 05	Fecha Emisión: Nov/08
	"pHmetro inoLab pH 730 WTW"	Próxima Revisión: Nov/09
		Nº de Revisión: 1

### 1. Objetivo

Estableces los lineamientos a seguir en cuanto a instrucciones de instalación y uso del medidor de pH inoLab pH 730, WTW.

### 2. Alcance

Este documento rige para el Laboratorio de Ingeniería de Tejidos Del Instituto Tecnológico de Costa Rica, del Centro de Investigación en Biotecnología.

### 3. Responsables

Es responsabilidad del coordinador del laboratorio velar porque este manual operativo sea aplicado de la forma correcta y que esté al alcance de de todas las personas que laboran en el laboratorio

### 4. Información Técnica de Operación

Aspectos	Especificación	
Condiciones Ambientales	Para uso en interiores.	
	Humedad relativa máxima: < 75%	
Temperatura Ambiental Permitida	De 0 °C a 55 °C	
Rangos y mediciones de pH	pH	-2,000 a +19,999 -2,00 a +19,99
	U (mV)	-999,9 a +999,9 -1999 a +1999
	T [°C]	-5,0 a +105,0
Exactitud (± 1 dígito)	pH (± 2 unidades pH alrededor del punto de calibración)	± 0,005 a 15°C - 35°C ± 0,01
	U [mV]	± 0,3 a 15°C - 35°C ± 0,1
	T [°C]	NTC 30: ± 0,1 PT 1000: ± 0,5 a 0°C - 15°C ± 0,1 a 15°C - 35°C ± 1 a 35°C - 55°C

<b>Conexiones eléctricas</b>	Voltaje	100 - 240 V
	Frecuencia	50 - 60 Hz
	Energía de salida	1,5 A
	Corriente Nominal	400 mA

## 5. Precauciones

- Si se cambia la ubicación del aparato de un ambiente cálido a un ambiente frío, pueden producirse desperfectos por condensación de la humedad del aire. En estos casos, esperar que la temperatura del aparato se iguale a la nueva temperatura ambiental.

## 6. Operación

### 6.1. Ajustar hora y fecha.

1. Presionar la tecla M y mantenerla oprimida.
2. Presionar la tecla STO. En el visor aparece el test del visor.
3. Presionar RUN ENTER hasta que la fecha en el visor parpadee intermitentemente.
4. Mediante ▼▲ ajustar la fecha del día.
5. Confirmar con RUN ENTER. En el visor parpadea la fecha (mes).
6. Mediante ▲▼ ajustar el mes.
7. Confirmar con RUN ENTER. En el visor parpadea la fecha (año).
8. Mediante ▲▼ ajustar el año.
9. Confirmar con RUN ENTER. En el visor parpadea la hora.
10. Mediante ▲▼ ajustar la hora.
11. Confirmar con RUN ENTER. En el visor parpadea el minuto.
12. Mediante ▲▼ ajustar el minuto.
13. Confirmar con RUN ENTER. El aparato cambia automáticamente al modo de medición de pH.

### 6.2. Actividades preparativas

Antes de comenzar las mediciones:

- Conectar la sonda al medidor.
- Temperar la solución tamponada o la solución de la muestra, o medir la temperatura ambiental si la medición se va a hacer sin sensor térmico.
- Calibrar el medidor con la sonda o verificarlo.
- Seleccionar el modo de medición con M.

### 6.3. Sensor de temperatura

- La medición se puede hacer con o sin sensor térmico. En el display aparece TP cuando hay conectado un sensor de temperatura.
- El medidor de pH reconoce automáticamente el tipo del sensor térmico.
- Para obtener mediciones reproducibles del valor de pH, la medición de la temperatura es obligatoria.
- Si la medición es efectuada sin sensor térmico determinar la temperatura ambiental sin un termómetro y ajustar el valor medido con ▲▼.
- Si se calibra sin sensor térmico, asignar igualmente por medio de ▼▲ la temperatura de la solución tamponada.

### 6.4. Medir el valor de pH

- Llevar a cabo las actividades preparativas.
- Sumergir la sonda en el medio a ser medido.



- Presionar la tecla M hasta que en la indicación del estado actual aparezca pH. En el display aparece brevemente el valor de pH

### **6.5. AutoRead AR**

Esta función verifica la estabilidad de la señal de medición.

1. Activar el modo de medición pH con M.
2. Activar la función AR con RUN ENTER. En el display parpadea la indicación AR hasta que el valor medido se estabiliza. El valor es transferido a la impresora/interfase.
3. En caso dado, iniciar la siguiente medición con AR mediante RUN ENTER.
4. Terminar la función AR con M.

La función AR puede ser interrumpida en todo momento con RUN ENTER, registrando el valor actual.

### **6.6. Calibración**

Se debe calibrar el equipo a intervalos regulares, particularmente después de acoplar otra sonda o cuando parpadee el símbolo del sensor cuando ya ha transcurrido el intervalo de calibración o cuando ha habido una interrupción de la corriente eléctrica.

La calibración puede ser realizada con 1-3 soluciones tamponadas (calibración de un punto, de punto doble o de punto triple). Para la calibración de punto triple son determinados dos valores independientes para la asimetría y la pendiente (ASY1/S1 y ASY2/Y2), en los dos rangos entre los tres tampones seleccionados. En la medición son empleados los valores de calibración correspondientes a cada rango.

#### **6.6.1. Calibración AutoCal TEC**

Es una calibración de punto doble o triple completamente automática, adecuada para las soluciones tamponadas de la WTW. El medidor reconoce automáticamente las soluciones tamponadas.

#### **6.6.2. Calibración AutoCal DIN**

Es una calibración de punto doble o triple completamente automática, adecuada para las soluciones tamponadas programadas con valores fijos establecidas según la norma DIN 19266. El medidor reconoce automáticamente las soluciones tamponadas.

#### **6.6.3 Calibración del ConCal**

Es la calibración del punto doble, convencional calibración del punto doble, para dos soluciones tamponadas libremente o bien, es la calibración de un punto como método rápido.

#### **6.6.4. Calibración del AutoRead**

Al calibrar con AutoCal TEC y AutoCal DIN la función AutoRead es activada automáticamente. La medición con AutoRead puede ser interrumpida con todo momento (siendo registrado el valor actual), mediante el botón (RUN/ENTER).

#### **6.6.5 Registro cronológico de la calibración**

Contiene los datos de la calibración actual y estos se pueden extraer e imprimir. Para ello conecte la impresora antes de iniciar la calibración (el diodo luminoso Print verde se enciende)\*. El registro es impreso si la calibración ha resultado válida.

#### **6.6.6. Evaluación de calibración**

Después de la calibración, el medidor evalúa automáticamente el estado actual. La asimetría y la pendiente son evaluadas por separado. El valor más malo de cada evaluación es indicado en el display.

### 6.6.7. Actividades preparativas

- 1- conectar el medidor
- 2- conecta la sonda al medidor de pH
- 3- tener a disposición las soluciones tamponadas
- 4- temperar la soluciones y medir la temperatura actual si no se va usar el sensor térmico

### 6.6.8. Intervalo de calibración

El símbolo parpadeante del sensor recuerda que se debe calibrar regularmente el sistema cuando transcurre tiempo asignado al intervalo de calibración (Int 3) el sensor comienza a parpadear para mantener la exactitud del sistema calibrarlo cada vez que transcurra el intervalo de calibración (Ajustado 7 días).

Para ajustar el intervalo de calibración:

- 1- Desconectar el medidor
- 2- Presionar M y mantenerlo oprimido
- 3- Presionar tecla de encendido y aparece el test del display.
- 4- Presionar la tecla (RUN/ENTER) hasta que aparezca Int3,
- 5- Con ▲▼ asignar el tiempo de lapso deseado hasta la proxima calibración.
- 6- Confirmar con (RUN/ENTER)
- 7- Con (M) cambiar al modo de medición

### 6.6.9. AutoCal TEC

En este procedimiento emplee 2 o 3 soluciones tamponadas técnicas de las WTW, en orden ascendente o descendente (pH 2.00; 4.01; 7.00 o 10.01). La calibración con un pH de 10.01 ha sido optimizada técnicas de la WTW TEP 10 Trace y TPL 10 Trace. Otras soluciones tamponadas pueden llevar una calibración incorrecta. **Nota:** si se emplea sensor térmico, no hacer los pasos 2, 6 y 13.

- 1- Presionar la tecla (Cal) repetidas veces hasta que el display indique la función AutoCal TEC.
- 2- En caso dado, asignar la temperatura de la solución tamponada con ▲▼.
- 3- Sumergir la sonda de pH en la primera solución tamponada.
- 4- Presionar la tecla RUN/ENTER. En el display parpadea la indicación AR. En el display aparece la tensión de la sonda (mV). En el momento en que el medidor reconoce un valor estable, aparece Ct2.
- 5- Enjuagar nescrupulosamente la sonda con agua destilada.
- 6- En caso dado, asignar la temperatura de la segunda solución tamponada con ▲▼.
- 7- Sumergir la sonda de pH en la segunda solución tamponada.
- 8- Presionar la tecla RUN/ENTER. En el display parpadea la indicación AR. En el display aparece la tensión de la sonda (mV). En el momento en que el medidor reconoce un valor estable, se apaga la indicación AR. El símbolo del sensor indica la valoración de la sonda después de la calibración de punto doble. En el display aparece el valor de la pendiente (mV/pH).

**Nota:** cuando la pendiente (SLO) es indicada en el display, se puede modificar la unidad de la misma por medio de ▲▼.

- 9- Presionar la tecla RUN/ENTER. En el display aparece el valor de la simetría (mV/pH).
- 10- Volver al modo de medición: presionar la tecla M o continuar con la calibración en el punto triple.
- 11- Presionar la tecla RUN/ENTER. En el display aparece Ct3.
- 12- Enjuagar la sonda con suficiente agua destilada.
- 13- En caso dado, asignar la temperatura de la tercera solución tamponada con ▲▼.

- 14- Sumergir la sonda de pH en la tercera solución tamponada.
- 15- Presionar la tecla RUN/ENTER. En el display parpadea la indicación AR. En el display aparece la tensión de la sonda (mV). En el momento en el que el medidor reconoce un valor estable, se apaga la indicación AR. El símbolo del sensor indica la valoración de la sonda después de la calibración del punto triple. En el display aparece el valor de la pendiente (mV/pH).
- 16- Presionar la tecla RUN/ENTER. En el display aparece el valor de la asimetría (mV/pH).
- 17- Volver al modo de medición: presionar la tecla M.

**Nota:** se puede interrumpir prematuramente la calibración de punto triple con M. los valores de la calibración de punto doble para la pendiente y la asimetría son archivados en la memoria

#### 6.6.10. AutoCal DIN

Emplee 2 o 3 soluciones tamponadas diferentes según la norma DIN, en cualquier orden ascendente o descendente. **Nota:** si se emplea sensor térmico, no hacer los pasos 2, 6 y 13.

1. Presionar la tecla (Cal) repetidas veces hasta que el display indique la función AutoCal DIN.
2. En caso dado, asignar la temperatura de la solución tamponada con ▲▼.
3. Sumergir la sonda de pH en la primera solución tamponada.
4. Presionar la tecla RUN/ENTER. En el display parpadea la indicación AR. En el display aparece la tensión de la sonda (mV). En el momento en que el medidor reconoce un valor estable, aparece Ct2.
5. Enjuagar escrupulosamente la sonda con agua destilada.
6. En caso dado, asignar la temperatura de la segunda solución tamponada con ▲▼.
7. Sumergir la sonda de pH en la segunda solución tamponada.
8. Presionar la tecla RUN/ENTER. En el display parpadea la indicación AR. En el display aparece la tensión de la sonda (mV). En el momento en que el medidor reconoce un valor estable, se apaga la indicación AR. El símbolo del sensor indica la valoración de la sonda después de la calibración de punto doble. En el display aparece el valor de la pendiente (mV/pH).

**Nota:** cuando la pendiente (SLO) es indicada en el display, se puede modificar la unidad de la misma por medio de ▲▼. La indicación esta referida a la pendiente de Nerst de 58.2 mV/pH.

9. Presionar la tecla RUN/ENTER. En el display aparece el valor de la simetría (mV/pH).
10. Volver al modo de medición: presionar la tecla M o continuar con la calibración en el punto triple.
11. Presionar la tecla RUN/ENTER. En el display aparece Cd3.
12. Enjuagar la sonda con suficiente agua destilada.
13. En caso dado, asignar la temperatura de la tercera solución tamponada con ▲▼.
14. Sumergir la sonda de pH en la tercera solución tamponada.
15. Presionar la tecla RUN/ENTER. En el display parpadea la indicación AR. En el display aparece la tensión de la sonda (mV). En el momento en el que el medidor reconoce un valor estable, se apaga la indicación AR. El símbolo del sensor indica la valoración de la sonda después de la calibración del punto triple. En el display aparece el valor de la pendiente (mV/pH).
16. Presionar la tecla RUN/ENTER. En el display aparece el valor de la asimetría (mV/pH).
17. Volver al modo de medición: presionar la tecla M.

**Nota:** se puede interrumpir prematuramente la calibración de punto triple con M. los valores de la calibración de punto doble para la pendiente y la asimetría son archivados en la memoria

### 6.6.11. ConCal

En este punto emplee dos soluciones tamponadas.

- pH:  $7.0 \pm 0.5$
- Cualquier otra solución

**Nota:** si se emplea sensor térmico, no hacer los pasos 2, y 9.

1. Presionar la tecla (Cal) repetidas veces hasta que el display indique la función ConCal.
2. En caso dado, asignar la temperatura de la solución tamponada con ▲ ▼.
3. Sumergir la sonda de pH en la primera solución tamponada  $pH\ 7.0 \pm 0.5$ .
4. Presionar la tecla RUN/ENTER. En el display parpadea la indicación AR. En el display aparece el valor de pH.
5. Asignar el pH nominal de la solución tamponada (a la temperatura actual), mediante las teclas ▲ ▼.
6. Presionar la tecla RUN/ENTER. En el display aparece el valor de la simetría (mV) y el símbolo del sensor.
7. Presionar la tecla RUN/ENTER. En el display aparece SLO (pe).
8. enjuagar escrupulosamente la sonda con agua destilada.
9. En caso dado, asignar la temperatura de la solución tamponada con ▲ ▼.
10. Sumergir la sonda de pH en la segunda solución tamponada.
11. Presionar la tecla RUN/ENTER. En el display aparece el segundo valor de pH.
12. Asignar el pH nominal de la segunda solución tamponada (a la temperatura actual), mediante las teclas.
13. Presionar la tecla RUN/ENTER. En el display aparece el valor de la pendiente (mV/pH). El símbolo del sensor indica la valoración de la sonda después de la calibración del punto doble.

**Nota:** cuando la pendiente (SLO) es indicada en el display, se puede modificar la unidad de la misma por medio de ▲ ▼. La indicación esta referida a la pendiente de Nerst de 58.2 mV/pH.

14. Presionar la tecla RUN/ENTER. En el display aparece nuevamente el valor de la asimetría (mV/pH).
15. Volver al modo de medición: presionar la tecla (M)

### 6.6.12. Calibración de un punto

Se puede emplear cualquier solución tamponada. La calibración será tanto más exacta, tanto más cercano se encuentre el valor de pH de la solución de medición. Con esta calibración es determinada unicamente la asimetría de la sonda. La pendiente establecida con la última calibración de punto doble permanece invariable. **Nota:** si se emplea un sensor térmico el paso 2 es innecesario. La información TP en el display indica que la medición de la temperatura esta activa.

- 1- Presionar la tecla CAL repetidas veces hasta que aparezca la función ConCal
- 2- En caso dado, asignar la temperatura de la solución tamponada con ▲ ▼.
- 3- Sumergir la sonda del pH en la solución tamponada.
- 4- Presionar la tecla RUN/ENTER. En el display aparece el valor del pH.
- 5- Asignar el pH nominal de la solución tamponada (a la temperatura actual), mediante las teclas ▲ ▼.
- 6- Presionar la tecla RUN/ENTER. En el display aparece el valor de la asimetría (mV) y el símbolo del sensor, para evaluar la sonda.
- 7- Volver al modo de medición: Presionar la tecla M

## 6.7. Archivar en la memoria

El medidor de pH dispone de una memoria interna para el almacenamiento de datos. La capacidad de la memoria alcanza para archivar 800 datos conjuntos. Cada conjunto de datos contiene la siguiente información:

- Posición de almacenamiento
- Fecha/hora
- Valor medido
- Temperatura
- Procedimiento de medición de temperatura
- No. De identificación.

Hay 2 maneras de transferir los valores medidos (los conjuntos de datos) a la memoria:

- Archivar en la memoria manualmente
- Conectar AutoStore (Int 1)

### 6.7.1 Archivar en la memoria manualmente

1- Presionar la tecla STO. En el display aparece el número corrido de la siguiente posición disponible para el almacenamiento en la memoria.

2- Confirmar con RUN/ENTER. El display cambia a la función de entrada del No. De identificación.

3- Con ▲ ▼ entra el No. de identificación (1-999).

4- Confirmar con RUN/ENTER. El medidor cambia automáticamente al modo de medición.


**Nota:** StoFull aparece en el display cuando la memoria esta llena.

Se cuentan con las siguientes alternativas:

Archivar en la memoria el valor medido. El valor medido más antiguo en la memoria es sobrescrito	Presionar RUN/ENTER
Volver al modo de medición sin archivar en la memoria	Presionar cualquier tecla
Llamar los datos archivados en memoria	Más adelante
Borrar los datos archivados en la memoria	Mas adelante

### 6.7.2. Conectar AutoStore (Int 1)

El intervalo de almacenamiento (Int 1) determina el periodo de tiempo que debe transcurrir entre dos almacenamientos automáticos. Después que ha transcurrido el intervalo asignado

	Código: ML – EQ – 06	Fecha Emisión: Nov/08
	"Balanza Analítica <u>Adventurer SL</u> "	Próxima Revisión: Nov/09
		Nº de Revisión: 1

## 1. Objetivo

Establecer los lineamientos a seguir en cuanto a instrucciones de instalación y uso de la balanza analítica.

## 2. Alcance

Este documento rige para el Laboratorio de Ingeniería de Tejidos Del Instituto Tecnológico de Costa Rica, del Centro de Investigación en Biotecnología.

### 3. Responsables

Es responsabilidad del coordinador del laboratorio velar porque este manual operativo sea aplicado de la forma correcta y que esté al alcance de de todas las personas que laboran en el laboratorio.

### 4. Información Técnica de Operación

Aspectos	Especificación	
Condiciones Ambientales	Para uso en interiores.	
	Elevación máxima de 4000 msnm	
	Humedad relativa máxima: 15% a 80% a 31°C sin condensación, disminuyendo linealmente a 50% a 40°C	
Temperatura Ambiental Permitida	De 5°C a 40°C	
<b>Conexiones eléctricas</b>	Frecuencia	50/60 Hz

### 5. Precauciones

- Utilizar sólo en ambientes secos.
- Los materiales a pesar nunca deben lanzarse con demasiada fuerza sobre la plataforma de pesado.
- No deje caer cargas sobre la plataforma
- Colocar balanza sobre superficies firmes y planas sin vibraciones ni fuentes de calor

### 6. Nivelación de la balanza

Antes de utilizar la balanza las patas deben ajustarse de tal forma que la báscula está nivelada con la superficie. Esto permitirá un pesaje exacto. Se verá un indicador de nivel de burbuja en una pequeña ventana redonda en el frente de la balanza. Nivele la balanza ajustando las patas de nivelación de tal forma que la burbuja quede centrada en el círculo.

### 7. Modalidades de aplicación

Ver las secciones 3.1 y 3.2 del manual de instrucciones original de este equipo para observar la vista general de los controles y funciones en pantalla, así como los botones de control de funciones. Ver la sección 3.4 para ver la estructura del Menú y la navegación del mismo.

**7.1. Entrar al menú:** con la balanza apagada, mantenga pulsado **YES** hasta que parezca MENU.

**7.2. Selección de un submenú:** pulsar **YES** en las opciones del menú visualizado o No para continuar al siguiente ítem del menú.

**7.3. Opciones de configuración:** dentro de cada submenú pulsar **YES** para seleccionar o **NO** para continuar a la siguiente opción de configuración.

**7.4. Salir del menú:** cuando el submenú END sea visualizado, pulsar **YES**.

**7.5. Modalidad de pesaje.** Se utiliza para determinar el peso utilizando una unidad seleccionada de medida. La balanza sólo pesará en gramos hasta que otras unidades de medida sean configuradas.

Para acceder a la modalidad de pesaje, mantenga pulsado **MODE** hasta que la pantalla muestre WEIGH. Pulse **ZERO** para poner en cero la balanza. Coloque en el plato los objetos que va a pesar.

**7.6. Modalidad de recuento.** Utilice la modalidad de recuento para contar partes de peso uniforme. Para acceder a la modalidad de Recuento pulse **MODE** hasta que la pantalla muestre COUNT.

#### 7.6.1. Establezca el peso promedio de una pieza (APW)

Cada vez que se vaya a contar un nuevo tipo de parte, el peso promedio de una pieza debe establecerse utilizando una pequeña cantidad de piezas. El APW es guardado en la memoria hasta que sea reemplazado por un APW nuevo. Si ya se ha establecido un APW, aparece Clear APW (CLR.APW)

Pulse **NO** para utilizar el APW guardado previamente. De otra forma, pulse **YES** para establecer uno nuevo. La pantalla indica el número de piezas a ser utilizadas. Pulse **NO** hasta que se muestre el tamaño de muestra deseado. Coloque el número de piezas y pulse **YES** para establecer y visualizar el APW nuevo.

#### 7.6.2. Recuento

Cuando esté viendo el indicar de piezas (PC), colocar en el plato la cantidad de piezas a ser contada.

#### 7.6.3. Optimización de APW

Ya que el peso de cada pieza varía ligeramente, puede utilizarse la optimización APW para incrementar la exactitud del recuento. La optimización del APW ajusta automáticamente el peso promedio de la pieza cuando un tamaño de muestra entre una y tres veces mayor que el tamaño de muestra original es colocado sobre el plato. La pantalla muestra APW.OPT cada vez que es optimizado el APW automáticamente.

**7.7. Modalidad de porcentaje.** Se usa para medir el peso de una muestra como porcentaje de un peso de referencia. Para acceder a esta modalidad pulse **MODE** hasta que en la pantalla aparezca la palabra PERCENT.

#### 7.7.1. Establecimiento de un peso de referencia

Cada vez que una muestra nueva es utilizada como el 100% de referencia debe establecerse un peso de referencia nuevo. Aparece la opción CLEAR REFERENCE (CLR.REF). Pulse **NO** para utilizar el peso de referencia guardado o **YES** para establecer uno nuevo. Para establecer el peso de referencia, coloque una carga en el plato. Pulse **YES** para aceptar y mostrar el peso.

#### 7.7.2. Pesaje porcentual

Retire el peso de referencia y coloque la carga en el plato. El peso de cada carga nueva es mostrado como un porcentaje del peso de referencia.

### **8. Opciones de Configuración de la Balanza**

**8.1. Calibración.** La calibración puede ser llevada a cabo de dos formas: calibración de extensión o calibración de linealidad.

#### 8.1.1. Calibración de extensión.

Este método debe utilizarse cada vez que la balanza sea utilizada por primera vez y cada vez que sea movida a una nueva ubicación

Entre al menú de calibración. Una vez allí al visualizar SPAN, pulse **YES** para iniciar la calibración de extensión. La pantalla brilla intermitentemente mientras toma la lectura cero. La pantalla muestra el peso máximo para esa balanza en específico. Coloque la masa de calibración en el plato y presione **YES**. Cuando la calibración está completa se visualiza DONE, entonces retire el peso del plato.

### 8.1.2. Calibración de linealidad

Esta es requerida si las pruebas muestran que el error de linealidad excede la tolerancia de linealidad en la tabla de especificación.

Ingresa al submenú de calibración. Al visualizar SPAN pulse **NO** para visualizar LINEAR, pulse **YES** para iniciar la calibración. La pantalla brilla intermitentemente mientras toma la lectura de cero. La pantalla muestra intermitentemente el valor del peso en el punto medio para la calibración. Coloque la masa en el plato y pulse **YES** para calibrar. La pantalla muestra BUSY. Cuando la calibración está completa muestra DONE. Retire la masa.

## **8.2. Configuración.** Encienda la balanza y seleccione la opción SETUP.

### 8.2.1. Ajuste de cero automático

Mantiene a la balanza en cero a pesar de los cambios ambientales. Pulse **YES** en la opción AZSM (mecanismo automático de ajuste a cero), para ajustar esta opción. La opción por defecto es SET 1d (d: divisiones de legibilidad). Pulse **YES** para aceptar la configuración y vaya al menú FILTER.

### 8.2.2. Filtro

Se utiliza para igualar el nivel de filtrado con el ambiente de la balanza.

Utilice la opción de configuración bajo (SET LOW) cuando las alteraciones ambientales no estén presentes. Utilice la opción de configuración medio (SET MED) para ambientes normales y la opción SET HIGH cuando estén presentes vibraciones o corrientes de aire.

### 8.2.3. Apagado automático.

Es utilizado para establecer el intervalo para el apagado automático como sigue:

SET OFF = siempre encendida

SET1= apagada después de un minuto

SET2= apagada después de dos minutos

SET5 = apagada después de cinco minutos.

### 8.2.4. Reinicio global.

Es utilizado para reiniciar todas las opciones de configuración. Cuando se visualice END SET, pulse **YES** para ingresar. Cuando visualice RESET, pulse **YES** para reiniciar la balanza o pulse **NO** para abortar.

### 8.2.5. Reinicio global.

Pulse **YES** cuando visualice END SET para salir del submenú de configuraciones, o pulse **NO** para regresar al primer ítem del menú en el submenú de configuración.

## **9. Cambios de unidades**

Acceder al submenú UNIT. La unidad es indicada por un pequeño carácter contiguo a la unidad en la pantalla. Pulse **NO** para ver la siguiente unidad de medida. Cuando aparezca la unidad deseada, pulse **YES**. Se pueden ingresar unidades personalizadas.

**9.1. Unidades T (Tael, Tical, Tola).** Cuando se visualice t, pulse YES para visualizar la opción de configuración de la unidad T. Sólo puede habilitarse una Unidad T a la vez. Pulse No hasta la opción deseada. Pulse YES para aceptar la opción y regresar al submenú de configuraciones.



**9.2. Unidades M (Momme, Meshgal).** Cuando se visualice UNIT, , pulse YES para visualizar la opción de configuración de la unidad M. Sólo puede habilitarse una Unidad M a la vez. Pulse No hasta la opción deseada. Pulse YES para aceptar la opción y regresar al submenú de configuraciones.

**9.3. Unidades Personalizadas.** Se utiliza para crear una unidad de medida no incluida en la balanza y visualizar la s mediciones de peso en esta unidad. Antes de utilizarla, debe estar SET ON en el submenú de unidades. La unidad personalizada está definida por un factor de conversión y un dígito significativo menor (LSD). El factor de conversión es creado ingresando un factor y un exponente E del peso en gramos, de acuerdo con la fórmula: **Unidad personalizada = Factor x 10<sup>E</sup> gramos**. La balanza utilizará esto para convertir gramos en una unidad de medida personalizada. El factor es un valor desde 0.1000000 hasta 1.999999. el exponente mueve el punto decimal a la derecha o a la izquierda. El dígito significativo menor (LSD) es el valor por el cual el peso visualizado es incrementado o disminuido.

Para crear una unidad personalizada pulse YES cuando se visualice UNIT c. Esto visualizará el factor. Las variables para definir una unidad personalizada aparecen una vez en el siguiente orden: FACTOR, E y LSD, seguido por END UNIT.

#### 9.3.1. Establecimiento del factor

Cuando aparezca FACTOR, pulse YES para visualizar. Pulse NO para pasar a la siguiente variable (E).

Para editar el factor, cuando este es visualizado, el primer dígito aparece intermitentemente. Pulse YES para aceptar o NO para visualizar el siguiente valor de incremento. Pulse YES para aceptar el valor deseado, lo que activará el siguiente dígito. Pulse NO para cambiar o YES para aceptar. Para aceptar el valor de manera general, cada dígito debe ser aceptado aunque no se haya cambiado. Cuando todos han sido aceptados, el nuevo factor aparece intermitentemente en la pantalla. Pulse YES para aceptar este factor y visualizar el exponente.

#### 9.3.2. Establecimiento del exponente

Cuando aparezca E en la pantalla, pulse YES para editar. Pulse No para pasar a la siguiente variable (LSD). El primer exponente aparece intermitente en la pantalla. Pulse NO para pasar de una opción a otra y YES para seleccionar la deseada.

#### 9.3.3. Establecimiento del LSD

Cuando se visualice LSDc, pulse YES para ver las opciones. Pulse NO para pasar de una opción a otra y YES para seleccionar la deseada.

#### 9.3.4. Fin de unidades

Cuando se visualice END UNIT pulse YES para salir o NO para regresar al primer ítem del menú.

### **10. Pesaje por abajo**


La balanza tiene un gancho para pesaje por abajo localizado en una abertura debajo de la balanza. Retire la alimentación eléctrica y la cubierta protectora de la abertura de pesaje por abajo. Coloque la balanza sobre una plataforma y utilice un hilo o cordel para sujetar los artículos que serán pesados.

### **11. Limpieza**

Utilizar un paño suave humedecido con agua y un detergente suave. No permita que líquidos entren en la balanza. No limpiar con químicos abrasivos.

## 12. Solución de problemas

Ver códigos de error en la sección 4.3 del manual de Instrucciones original de este equipo.

	Código: ML – EQ – 08	Fecha Emisión: Nov/08
	“Plantilla eléctrica <u>Corning</u> ”	Próxima Revisión: Nov/09
		Nº de Revisión: 1

### 1. Objetivo

Establecer los lineamientos a seguir en cuanto a información técnica, procedimientos y consideraciones de seguridad de operación, así como mantenimiento y cuidados de la Plantilla eléctrica Corning.

### 2. Alcance

Es documento rige para el Laboratorio de Ingeniería de Tejidos del Instituto Tecnológico de Costa Rica, del Centro de Investigación en Biotecnología.

### 3. Responsables

Es responsabilidad del coordinador del laboratorio velar porque este manual operativo sea aplicado de la forma correcta y que esté al alcance de todas las personas que laboran en el laboratorio.

## 5. Información Técnica de Operación

### 6.

Aspectos	Especificación	
Condiciones Ambientales	Para uso en interiores.	
	Elevación máxima de 2000 msnm	
	Humedad relativa máxima: 80% a 31 °C (88°F) 40% a 40 °C	
Temperatura Ambiental Permitida	De 0 °C a 40 °C	
Posición	Por lo menos a 12’’ de las paredes, 48’’ del cielorraso y 12’’ entre plantillas si se usa más de un equipo.	
Conexiones eléctricas	Voltaje	100 V
	Frecuencia	60 Hz
	Corriente Nominal	2.8 A
	Consumo de energía	280 W

## 5. Procedimientos de Operación

### 5.1. Procedimiento de calentamiento

Llene el recipiente con la solución, coloque la barra magnética y coloque en el centro del plato principal. Conecte el equipo, verá la luz verde encenderse.

Ajuste la perilla del reloj según el tiempo que necesite. La luz ámbar de la izquierda se va a iluminar. La luz del indicador se va a iluminar y se mantendrá cuando la temperatura alcance los 60°C. Cuando se apague el equipo el indicador va a parpadear hasta que el plato alcance una temperatura menor a los 60°C.

**Cuadro I.** Ajuste de la temperatura según la perilla controladora de temperatura.

Nivel	Temperatura de ajuste (°F)	Temperatura de ajuste (°C)
0	OFF	OFF
1-2	77	25
3	194	90
4	338	170
5	446	230
6	572	300
7	770	410
8	860	460
9-10	896	480

**Nota:** Estas temperaturas dependen del ajuste y voltaje dadas.

### 5.2. Procedimiento de Agitación

Llene el recipiente con la solución y coloque la barra magnética proveída y coloque en el centro del plato. Conecte el equipo, verá la luz verde encenderse. Ajuste la perilla según necesite en sentido de las manecillas del reloj. La luz ámbar izquierda se va a iluminar.

**Cuadro II.** Ajuste de la temperatura según perilla de agitación.

Nivel	Velocidad de agitación (RPM)
0	OFF
1-2	60
3	100
4	155
5	250
6	380
7	550
8	870
9-10	1100

**Nota:** Las RPM (revoluciones por minuto) arriba mostradas son tomadas con un beaker PIREX de 600mL con 400mL de agua en un cuarto con temperatura controlada. Las velocidades dependerán del ajuste y voltaje aplicados

### 6. Precauciones


- Siempre utilice anteojos de seguridad y protección general apropiada cuando opere este equipo.
- Mantenga el plato de la plantilla siempre limpio. Utilice limpiador no abrasivo. Los derrames pueden dañar el equipo. En caso de derrame desconecte el equipo y limpie rápidamente. Si el plato principal se daña reemplácelo inmediatamente según las instrucciones y equipo proveído por el fabricante.
- No sumerja el equipo para limpiarlo.
- No caliente ni agite sustancias volátiles.
- No utilice recipientes de metal, de vidrio pesado ni fibra de vidrio en el plato de calentamiento.
- No modifique o sustituya la unidad de conexión eléctrica.

## 7. Mantenimiento

En caso de notar desprendimiento de la cubierta metálica del plato, reemplácela inmediatamente. Si el cordón del equipo se daña reemplácelo inmediatamente.

### 7.1. Mantenimiento Preventivo.

- Desconecte el quipo antes de llevar a cabo cualquier operación de mantenimiento.
- Mantenga el plato limpio. Desconecte la unidad al limpiar y use limpiador no abrasivo.
- Limpie rápidamente cualquier derrame. Desconecte la unidad al limpiar y use limpiador no abrasivo.
- Reemplace el plato si esta se daña.
- Mantenga siempre conectado el enchufe cuando no esté usando un controlador de temperatura opcional.

	Código: ML – EQ – 09	Fecha Emisión: Nov/08
	“Microondas LG MS-0944B	Próxima Revisión: Nov/09
		Nº de Revisión: 1

### 1. Objetivo

Establecer los lineamientos a seguir en cuanto a instrucciones de instalación e ingreso de datos de la Incubadora Binder CB.

### 2. Alcance

Es documento rige para el laboratorio de Biomateriales del Instituto Tecnológico de Costa Rica, del Centro de Investigación en Biotecnología.

### 3. Responsables

Es responsabilidad del coordinador del laboratorio velar porque este manual operativo sea aplicado de la forma correcta y que esté al alcance de todas las personas que laboran en el laboratorio. P

### 4. Precauciones

- No operar con la puerta abierta
- No colocar objetos entre la cara frontal del horno y la puerta
- No permitir que se acumulen residuos en las superficies sellantes
- No usar si la puerta esta torcida, hay daños en bisagras o cerrojos o en sellos de puertas
- Evitar usar recipientes de bordes rectos con cuello estrechos

#### 4.1. Instrucciones de seguridad


- No encender el horno si esta vacío
- No utilizar recipientes de madera o metal
- No usar productos de papel reciclado
- No lavar el tornamesa justo después de calentar ya que se puede romper
- Si se observa humo apaga o desenchufe y mantenga la puerta cerrada para ahogar cualquier llama
- No calentar líquidos en recipientes completamente sellados

## 5. Especificaciones técnicas

Aspectos	Especificación	
Condiciones Ambientales	Para uso en interiores.	
	Humedad relativa máxima: 80%	
Temperatura Ambiental Permitida	De 0 °C a 40 °C	
Conexiones eléctricas	Voltaje	120 V
	Frecuencia	60 Hz
	Energía de salida	850 W
	Frecuencia de microondas	2450 MHz
	Consumo de energía	1250 W

## 6. Procedimiento de limpieza

- Limpiar los derrames con un paño húmedo inmediatamente.
- No utilizar detergentes ásperos ni limpiadores abrasivos.
- Limpiar el exterior con agua y detergente luego solo con agua y secar con un paño suave.
- Sin dejar que agua penetre los orificios de ventilación.
- Para limpiar el panel de control abrir la puerta para evitar que el horno se encienda accidentalmente.
- No utilizar materiales abrasivos ni polvos de limpieza ni paños de acero o plástico.

	Código: ML – EQ – 13	Fecha Emisión: Nov/08
	“Estufa <u>Memmert</u> ”	Próxima Revisión: Nov/09
		Nº de Revisión: 1

### 1. Objetivo

Establecer los lineamientos a seguir en cuanto a información técnica, procedimientos y consideraciones de seguridad de operación, así como mantenimiento y cuidados de la estufa Memmert.

### 2. Alcance

Este documento rige para el Laboratorio de Ingeniería de Tejidos del Instituto Tecnológico de Costa Rica, del Centro de Investigación en Biotecnología.

### 3. Responsables

Es responsabilidad del coordinador del laboratorio velar porque este manual operativo sea aplicado de la forma correcta y que esté al alcance de todas las personas que laboran en el laboratorio.

### 4. Información Técnica de Operación

Aspectos	Especificación	
Condiciones Ambientales	Para uso en interiores.	
	Elevación máxima de 2000 msnm	
	Humedad relativa máxima: 80%	
Temperatura Ambiental Permitida	De 5 °C a 40 °C	
Conexiones eléctricas	Voltaje	250 v
	Especificación del fusible del equipo	15 A

## **5. Operación**

### **5.1. Primera puesta en servicio**

Durante la primera puesta en servicio no se debe dejar el aparato sin vigilancia hasta que alcance el estado de equilibrio. Vibraciones fuertes durante el transporte pueden provocar un desplazamiento de las sondas de temperatura en los soportes de la cámara de trabajo. En la primera puesta en servicio hay que comprobar que las sondas de temperatura estén en su posición correcta y en su caso deslizarlas con cuidado en el soporte hacia delante o atrás.

### **5.2. Carga**

Han de observarse las propiedades físicas y químicas del material de carga (por eje: temperatura de inflamabilidad etc.), ya que en caso contrario, pueden producirse daños considerables (material de carga, estufa, proximidades de la estufa). No es apropiado para el secado, vaporización, y secado al horno de esmaltes o materias similares cuyos disolventes en combinación con el aire puedan formar mezclas explosivas. No deben generarse mezclas explosivas de gas/aire en el interior de la estufa ni en proximidades de la misma. Una formación fuerte de polvo o vapores agresivos en el interior y/o proximidades en la estufa puede producir la formación de sedimentos en el interior del aparato, teniendo como consecuencias cortos circuitos y daños electrónicos, por lo tanto se deberán tomar las medidas necesarias para evitar la formación de polvo o vapores agresivos.

Para que quede garantizada una suficiente circulación de aire en la cámara de trabajo, el equipo no debe cargarse excesivamente. No coloque material de carga sobre el suelo, paredes laterales o debajo del techo de la cámara de trabajo (aletas radiantes). Para garantizar una circulación de aire óptima, hay que introducir las bandejas de modo que entre la puerta, la bandeja y la pared posterior queden huecos intermedios de aires uniformes.

Con cargas desfavorables (demasiado densas) y entrada máxima de aire fresco puede suceder que en determinadas circunstancias la temperatura ajustada se alcance solo después de un periodo prolongado.

### **5.3. Equipamiento eléctrico**

- Tensión de servicio (vease placa de identificación) 50/60 hercios
- Clase de protección 1, es decir aislamiento del servicio con conexión de cable de protección a tierra según EN61010
- Grado de protección IP20 según DIN EN 60529
- Grado de protección de interferencias según EN55011 clase B
- El regulador es protegido con un fusible fino 80 mA.

Este equipo esta fabricado para funcionar en una red eléctrica con una impedancia de sistema  $Z_{max}$  como máximo de 0.292 ohmios en el punto de conexión (acometida).

### **5.4. Corte de corriente**

Tras un corte de corriente, el servicio continuará con los parámetros previamente ajustados.

### **5.5. Enchufar el equipo**

Se enchufa el equipo apretando el mando giratorio pulsador.

### **5.6. Ajustar el cambio de aire**

Moviendo la regleta de aire se abre y cierra la trampilla, ajustándose de esta manera la cantidad de aire que entra y sale

### **5.7. Ajustar la temperatura**

Mantener presionada la tecla SET y ajustar con el mando giratorio pulsador la temperatura nominal deseada, después de soltar la tecla SET el equipo sigue indicando de forma parpadeante, durante corto rato, la temperatura nominal.

Después se indica la temperatura real del momento y el regulador empieza a calentar hasta alcanzar la temperatura nominal.

### **5.8. Selección de los modos de servicio**

Después de apretar la tecla SET durante unos 3 segundos aproximadamente, el modo de servicio actual parpadea. Manteniendo presionada la tecla SET se puede seleccionar mediante el mando giratorio pulsador el nuevo modo de servicio. Después de soltar la tecla SET, el regulador trabaja en el nuevo modo de servicio.

#### *Servicio normal*

En este modo, el equipo funciona de manera permanente, calentando/regulando, la temperatura nominal ajustada. En los equipos UFB/SFB, la turbina de aire también funciona permanentemente.

Ajustar la temperatura: manteniendo apretada la tecla SET, ajustar la temperatura nominal deseada con el mando giratorio pulsador.

Después de soltar la tecla SET, el equipo sigue indicando durante un momento la temperatura nominal de forma parpadeante. Después se indica la temperatura real del momento y el regulador empieza a regular la temperatura nominal ajustada

#### *Servicio de temporizador*

En este modo, el equipo regula/caliente hasta alcanzar la temperatura ajustada, manteniéndola hasta que halla transcurrido el periodo de tiempo seleccionado. Durante el servicio de temporizador el símbolo de reloj parpadea. Después la calefacción se desconecta mientras que la turbina de aire (en modelos UFB/SFB) continua funcionando durante 30 minutos. En el indicador de la hora se indica END.

El periodo de tiempo se puede poner, en cualquier momento, en OFF, el cual significa que la calefacción esta desconectada. El indicador de la hora avisa END.

El periodo de tiempo cuenta atrás. En cualquier momento, se puede comprobar cuanto tiempo el equipo tardará en desconectarse.

Ajustar la temperatura: girar el mando hacia la derecha hasta que parpadee la indicación de la temperatura. Mantener apretada la tecla SET, y al mismo tiempo ajustar la temperatura nominal deseada con el mando giratorio pulsador. Después de soltar la tecla SET, el equipo sigue indicando durante un momento la temperatura nominal de forma parpadeante. Después se indica la temperatura real del momento y el regulador empieza a regular la temperatura nominal ajustada.

Ajustar temporizador: girar el mando hacia la izquierda hasta que parpadee la indicación del temporizador mantener apretada la tecla SET y ajusta con el mando el periodo de tiempo que sea necesario para el proceso.

## **6. Vigilancia de la temperatura y dispositivos de protección**

### **6.1. Limitador de temperatura (TB)**

Todos los equipos de la serie B cuentan con un limitador mecánico de la temperatura (TB) clase de protección 1 según DIN12880. En el caso que fallara la unidad de protección contra sobrettemperatura durante el servicio, y que se excediera la temperatura máxima (prefijada desde fábrica) en unos 20 °C, el limitador de temperatura actuaría como última medida de protección desconectando la calefacción. Se iluminaría el símbolo de alarma. <j>

Como remediar la avería después de activarse el limitador de temperatura:

- 1- desenchufar el equipo y dejar enfriar
- 2- reparar (por ej: cambiar el sensor de temperatura) o su caso avisar al servicio técnico al cliente
- 3- solo después de dejarlo enfriar y repararlo, se podrá volver a utilizar el equipo

## 6.2. Relé de vigilancia.

Si se produce una avería durante el servicio o si se sobrepasa la temperatura nominal ajustada en 3 °C (equipos de la serie INB) o en 10 °C (equipos UNB/UFB/SNB/SFB), el relé de vigilancia, en un servicio de emergencia mantiene la calefacción regulada a estas temperaturas respectivas. El símbolo de alarma parpadea

Como remediar la avería después de activarse el relé de vigilancia:

- 1- averiguar indicaciones de errores del regulador y en su caso, avisar al servicio técnico al cliente

## 7. Esterilizadores

### 7.1. Asignación de los fines de uso

Los equipos SNB/SFB sirven para esterilizar materiales medicinales mediante calor seco debido al aire caliente bajo presión atmosférica

### 7.2. Directivas para la esterilización

Para la esterilización por aire caliente existen diferentes normativas referentes a las temperaturas y tiempos de esterilización, así como del embalaje del producto a esterilizar. Los valores a elegir dependen de la clase y naturaleza del producto a esterilizar así como de los gérmenes a desactivar. Por favor antes de efectuar los procesos de esterilización familiarizarse con el método de esterilización prescrito para su aplicación. En la siguiente tabla se indican algunos ejemplos para la correcta preparación de diversos instrumentos medicinales:

Carga	Preparación
Instrumentos sin soldadura blanca	Insertar los instrumentos limpios envueltos dos veces en papel aluminio o papel indicado para esterilización en caliente
Instrumentos cortantes	Insertar los instrumentos limpios envueltos dos veces en papel aluminio o papel indicado para esterilización en caliente
Jeringuillas sin plástico	Insertar el émbolo y el cilindro por separado envueltos dos veces en papel aluminio o papel indicado para esterilización en caliente
Cristalería	Despiezar los recipientes limpios meterlos en las bandejas, dejar enfriar lentamente

Frascos y similares deberán ser esterilizados con la abertura hacia abajo para evitar zonas de aire frío. La temperatura de esterilización habitualmente recomendada es de 180 °C.

El tiempo de esterilización total a ajustar se compone del tiempo de calentamiento (es decir, el período de tiempo necesario para alcanzar la temperatura deseada en la totalidad de la cámara de trabajo) y el tiempo de esterilización propio así como del suplemento de seguridad. NOTA: VER TABLA DEL MANUAL.

NOTA: Al esterilizar deberá cerrar la trampilla de aire después de secado el material húmedo.



### **7.3. Cajas de esterilización**

Las cajas de esterilización deberán colocarse preferiblemente en el aparato de modo que el aire caliente pueda fluir sin impedimentos a través de las ranuras de aire. Introducir el material de esterilización en las cajas de esterilización. Las ranuras de aire de la caja de esterilización deben estar abiertas para la esterilización. A través de la apertura de las cajas de esterilización puede introducirse un sensor de temperatura en el material de esterilización. Terminado el proceso de esterilización las ranuras de aire deberán cerrarse desplazando el botón. De esta forma puede conservarse el material esterilizado en la caja cerrada durante corto tiempo.

## **8. Limpieza**

La limpieza periódica evita la formación de restos que en efecto continuo pueden mermar el aspecto de la cámara interior de acero inoxidable como su funcionalidad.

Las superficies metálicas que hay en la estufa pueden limpiarse con productos de limpieza para acero inoxidable corrientes en el comercio. Hay que cuidar de no introducir objetos oxidados o que pueden oxidarse en contacto con la cámara interior o la carcasa de acero inoxidable. Los sedimentos de óxido provocan la infección del acero inoxidable.

Si a causa de los ensuciamientos se producen puntos de óxido en la superficie de la cámara de trabajo, éstos deben ser limpiados y pulidos de inmediato.

El panel de mando, los módulos de servicio así como otras partes de plástico de las estufas no deben limpiarse con productos de limpieza que contengan disolventes o arena para fregar.

## **9. Mantenimiento**

NOTA: Los trabajos en los cuales se abra la carcasa, solo podrán ser efectuados por electricistas autorizados.

Lubricar las piezas móviles de la puerta (bisagras y cierre) una vez por año (en servicio permanente 4 veces por año) con una grasa fina de sílicona y comprobar si las bisagras están bien fijadas con tornillos.

No se puede prescindir de un buen cierre de puerta en las estufas. El cierre estanco de la puerta queda garantizado de forma óptima por una junta de lado estufa y otra de lado puerta. En servicio permanente puede producirse que se asiente el material flexible de las juntas. Con el fin de garantizar a pesar de ello un cierre exacto de la puerta, será en su caso preciso reajustarla.

- Tras soltar los dos tornillos en el lado superior o inferior de la puerta se puede desplazar ligeramente la parte superior de la bisagra hacia fuera de la estufa.
- Tras soltar el tornillo prisionero, se puede reajustar la puerta girando el excéntrico con desatornillador. Atención: el tornillo prisionero va asegurado con pegamento y puede soltarse bruscamente con llave hexágono interior de 2mm. Después, aplicar en el tornillo prisionero pegamento de nuevo y reapretar .

La chapa de cierre puede reajustarse también tras soltar el tornillo en dirección hacia fuera. Hay que cuidar que quede bien atornillado nuevamente la chapa de cierre.


## **10. Indicaciones de errores**

E-0: Error durante la auto comprobación

E-1: Elemento de conmutación TRIAC defectuoso

E-2: Etapa de potencia defectuosa

E-3: Sensor de medición PT100 defectuoso

	Código: ML – EQ – 14	Fecha Emisión: Nov/08
	“Manual operativo Congelador REVCO -70 °C”	Próxima Revisión: Nov/09
		Nº de Revisión: 1

## 1. Objetivo

Establecer los lineamientos a seguir en cuanto a instrucciones generales, funcionamiento, mensajes de error y mantenimiento del Congelador REVCO -70 °C.

## 2. Alcance

Es documento rige para el Laboratorio de Ingeniería de Tejidos, del Centro de Investigación en Biotecnología.

## 3. Responsables

Es responsabilidad del coordinador del laboratorio velar porque este manual operativo sea aplicado de la forma correcta y que esté al alcance de todas las personas que laboran en el laboratorio.

## 4. Recomendaciones Generales del Congelador de -70 °C

El sistema de refrigeración ha sido diseñado para mantener temperaturas ultrabajas con seguridad en entornos con una temperatura ambiente de 32 °C (90 °F), sólo cuando el congelador se utiliza con fines de almacenamiento.

**Advertencia:** Esta unidad no es un dispositivo de “congelación rápida”. Congelar grandes cantidades de líquido o elementos con un alto contenido de agua, aumentará de forma temporal la temperatura de la cámara y provocará que el compresor funcione durante más tiempo. Si se intenta utilizar este congelador de manera inadecuada puede ponerse en peligro la seguridad o causar tensión indebida o daños a los compresores de refrigeración.

Evite abrir la puerta durante largo tiempo ya que el aire de la cámara escapará con rapidez. El aire de la estancia, que posee un mayor contenido de humedad, reemplaza el aire de la cámara y puede provocar que aparezca escarcha en la cámara rápidamente.

### 4.1. Carga inicial

Cuando cargue la unidad con materiales precongelados, el punto de ajuste de la temperatura de funcionamiento del congelador no deberá situarse por debajo de la temperatura del material precongelado. La unidad deberá de funcionar a dicha temperatura durante 8 horas. El punto de ajuste se bajará en tramos inferiores a 10 °C. Cada vez que realiza un ajuste de 10 °C, deje un tiempo de estabilización de 8 horas. Repita este proceso hasta que alcance el punto de ajuste deseado.

## 5. Instalación

No sobrepase los índices de temperatura y potencia eléctricas que aparezcan en la placa situada en la parte inferior del lado izquierdo de la unidad.

### 5.1. Ubicación

Instale la unidad en una zona nivelada donde no se produzcan vibraciones. Además, debe de dejar un espacio libre de al menos 15 cm por ambos lados, por la parte trasera y por la parte de arriba. Deje suficiente espacio para poder abrir la puerta hasta alcanzar un ángulo de al menos 90 °.

No sitúe el equipo a la luz directa del sol o cerca de difusores de calefacción, radiadores ni otras fuentes de calor. El rango de temperatura ambiente en la ubicación tiene que estar entre 15 y 32 °C.

## 5.2. Cableado

Nota: Para la seguridad personal y el funcionamiento sin problemas, esta unidad tiene que estar conectada a tierra correctamente antes de su uso.

Conecte siempre el congelador a un circuito dedicado(separado).

Cada congelador incorpora un cable y un enchufe de servicio diseñado para conectarlo a una toma de corriente que suministre la tensión adecuada. La tensión de alimentación debe estar comprendida entre +10% y -5% de la tensión nominal del congelador.

## 5.3. Nivelado

La unidad deberá estar nivelada horizontal y verticalmente.

Los modelos verticales tienen patas de nivelación ajustable situadas justo al lado de las ruedecillas delanteras.

## 5.4. Funcionamiento de las puertas

Los congeladores verticales de REVCO vienen equipados con un avanzado montaje Cryolatch™ especialmente diseñado para los congeladores de ultrabaja temperatura.

Cuenta con las siguientes características:

- Se puede manejar con una mano.
- Bloqueo accesible en la parte delantera, con llave que encaja en el bloqueo de control del congelador.
- Pestillo para un candado estándar para obtener mayor seguridad.
- Construcción duradera que ofrece un funcionamiento fiable y un almacenamiento seguro de productos.

Cuidado: Cuando necesite mover el congelador, agarre siempre las superficies del armario; nunca tire del mango del congelador.

## 5.5. Apertura de la puerta

- Retire el candado si lo tiene.
- Mueva la llave hasta la posición de apertura. Para ello gírela en sentido contrario a las manecillas del reloj.
- Agarre el mango del pestillo (preferiblemente con la mano izquierda) y tire de él hacia sí hasta que el pestillo se desacople de la cerradura del armario.
- Siga tirando del mango del pestillo o del mango de la puerta hasta que se abra la puerta principal.

## 5.6. Cierre de la puerta

Recuerde que el pestillo no se bloquea automáticamente cuando se cierra la puerta. Primero debe girar el pestillo hacia la posición de apertura.

- Agarre el mango del pestillo (preferiblemente con la mano izquierda) y tire de él hacia sí, girando el pestillo hasta la posición de apertura.
- Mueva la puerta del congelador hasta la posición de cierre y empuje el mango con suavidad, asegurándose de que el pestillo encaja perfectamente con la cerradura del armario. **Cuidado:** Si cierra la puerta sin asegurarse de que el pestillo encaja perfectamente con la cerradura puede producirse en la puerta una considerable fuerza de palanca.
- Siga ejerciendo una suave presión sobre el mango del pestillo hasta asegurar el pestillo en la posición de cierre.
- Para bloquearlo, inserte la llave y gírela en sentido de las manecillas del reloj.
- Si utiliza un candado vuelva a colocarlo en su sitio.

### **5.7. Puerto de ecualización de la presión.**

Cuando se abre la puerta de un congelador vertical de ultrabaja temperatura, el aire de la estancia entra rápidamente en el compartimento de almacenamiento.

Cuando se cierra la puerta, el volumen fijo de aire se enfría rápidamente. La presión cae por debajo de la presión atmosférica, con lo que se produce un vacío importante. Hasta que las presiones interiores vuelvan a alcanzar el nivel de la presión atmosférica, no será posible volver a acceder al armario. Si no se dispone de un mecanismo de ecualización de la presión, pueden pasar varios minutos antes de que pueda volver a abrir la puerta con facilidad.

Los modelos verticales incorporan un puerto que proporciona la descarga del vacío después de abrir la puerta.

El puerto de ecualización de la presión se encuentra en el centro de la parte delantera inferior de la cámara de almacenamiento.

Aunque el puerto ha sido diseñado para descongelarse automáticamente, si se acumula una cantidad excesiva de escarcha en la parte inferior de la cámara puede producirse una restricción del flujo de aire. Por tanto, debe inspeccionar con regularidad el puerto y eliminar cualquier partícula de escarcha con ayuda de un cepillo de cerdas duras de nailon.

**Advertencia:** Como el calentador de descongelación del puerto de ecualización de la presión funciona continuamente, las superficies que rodean al puerto pueden calentarse si la unidad está conectada pero el congelador no está en uso. Para evitar que esto ocurra, descuente el congelador cuando no vaya a utilizarse para almacenamiento en frío.

## **6. Operación**

### **6.1. Características del panel de control**

Antes de la primera puesta en funcionamiento, hay que familiarizarse con el panel del control (Ver panel de control directamente del equipo)

### **6.2. Puesta en funcionamiento**

#### **6.2.1. Encender el equipo**

Para encender el equipo:

- 1- Conecte el congelador en la salida de poder.
- 2- Coloque el interruptor en la posición Power ON, se van a iluminar los LEDs de ON y el de Cabinet Temperature.

#### **6.2.2. Ajuste de la temperatura del congelador**

- 1- Presione y mantenga el botón de Control de Setpoint
- 2- Las luces del control Setpoint se encenderá así como la de la temperatura.
- 3- Presione y mantenga ▼ ▲ para ajustar la temperatura.
- 4- Suelte ambos botones cuando la pantalla que muestra la temperatura se ajuste al valor de temperatura ajustado

#### **6.2.3. Ajuste de alarmas**

Para ajustar la alarma:

- 1- Confirmar primero que el interruptor este en la posición de Power ON.
- 2- Presione y mantenga el botón de Cold Alarm Setpoint. Se encenderá el Led contiguo. La pantalla de la temperatura mostrará el valor de la alarma.
- 3- Presione y mantenga ▼ ▲ para ajustar el valor de la alarma.
- 4- Suelte ambos botones cuando la pantalla de la temperatura muestre el valor correcto

Para ajustar la alarma de calentamiento:

- 1- Confirmar primero que el interruptor este en la posición de Power ON.
- 2- Presione y mantenga el botón de Warm Alarm Setpoint. Se encenderá el Led contiguo. La pantalla de la temperatura mostrará el valor de la alarma.
- 3- Presione y mantenga ▼ ▲ para ajustar el valor de la alarma.
- 4- Suelte ambos botones cuando la pantalla de la temperatura muestre el valor correcto

Cuando la temperatura del Cabinet decae debajo de la alarma de calentamiento, ponga el switch de la alarma en ON, el congelador estará listo para funcionar.

**Nota:** Si ocurre una falla de poder por más de 30 segundos, se encenderá el LED de FAILURE POWER y una alarma sonará.

**Advertencia:** se deberá poner el interruptor de tres posiciones en la posición adecuada para activar la alarma y utilizarla con toda seguridad.

#### **6.2.4. Reseteado de la alarma**

Provee un gran poder de monitoreo alertando al usuario si una condición de la alarma ha ocurrido durante periodos en los cuales el congelador se deja inatendido. Las condiciones que controla la alarma:

- Fallo en la temperatura-Alarma de calentamiento
- Fallo en la temperatura-Alarma de enfriamiento
- Bajo voltaje
- Fallo de poder
- Alerta salvavidas
- Alarma de ambiente extremo

Durante alguna de estas condiciones de alarma, el indicador correspondiente se iluminará inmediatamente (90 veces por min.). Si la condición de alarma desaparece, la tasa de iluminación decrecerá a 15 veces por min. El indicador se mantendrá en esta tasa, a pesar de que la condición cambie, hasta que el botón de reseteado de la alarma sea presionado.

En caso de que la primera y la segunda condición mencionada ocurra, pero que no exceda los límites permitidos, las alarmas se alternaran y los datos serán guardados. Antes de que la falla sea reseteada, la temperatura extrema se podrá ver presionando la almohadilla de la cabina de temperatura en conjunto con la de la alarma de calentamiento o enfriamiento.

#### **6.2.5. Prueba de la alarma**

Para probar las alarmas seguir los siguientes pasos:

1. Presione y mantenga la almohadilla de Test Alarm. La temperatura digital mostrada va indicar el aumento de temperatura. Cuando la temperatura alcanza la alarma de calentamiento, ella sonará.
2. Suelte la almohadilla de Test Alarm, y la temperatura descenderá en pocos minutos.

Se puede presionar la almohadilla de silenciamiento de alarma, pero esta sonará en 5-7 min. Se puede silenciar la alarma de esta manera hasta que la temperatura alcance la temperatura ideal.

### **6.3. Sistema de respaldo**

Si se compra un sistema de adaptación de CO<sub>2</sub> o NL para el congelador, el sistema de panel de control de respaldo se localiza atrás a la par de la parrilla.

#### **6.4. Precauciones de CO<sub>2</sub> y NL**

Si un cilindro de CO<sub>2</sub> o de NL cae y la válvula se cae, el cilindro se puede convertir en un misil mortal. Transporte el cilindro atado con cadenas a un lugar más seguro. Cuando los cilindros se conecten al equipo, asegúrese de atarlos con cadenas a bases sólidas y estacionarias como una columna de construcción.

Los líquidos de CO<sub>2</sub> y NL no son venenosos pero muy fríos y pueden causar quemaduras. Asegúrese de llevar siempre la ropa adecuada, y en algunos casos estos gases pueden causar afixias. Cuando cierre la válvula del cilindro, asegúrese de que la inyección del solenoide es energizada con el fin de que permita fluya en vez de que se queda acumulado en un tubo. Una falla de este tipo resulta en la activación de la presión, lo cual puede dañar el equipo

#### **7. Mantenimiento**

Una reparación no autorizada por los técnicos REVCO invalidará la garantía.

##### **7.1. Mantenimiento del condensador**

###### **7.1.1. Limpieza del condensador**

Limpiar el condensador por lo menos 2 veces al año, o más seguido si el lugar de trabajo es muy polvoso. Para limpiar el condensador siga los pasos:

- 1- Abra la parilla
- 2- Remueva el filtro. Revise el abanico. Si el abanico no esta funcionando contacte a la empresa
- 3- Aspire el condensador
- 4- Vuelva a colocar el filtro y cierre la parilla.

###### **7.1.2. Limpieza del filtro del condensador**

1. Abra la parilla
2. Remueva el filtro
3. Sacuda el filtro para remover el polvo, enguaje el filtro en agua limpia, sacuda el exceso del agua del filtro y vuelva a colocarlo.
4. Cierre la parilla

##### **7.2. Mantenimiento de junta**

Revise periódicamente las juntas alrededor de la puerta o tapa por perforaciones o goteras. Las fugas son indicadas por una raya congelada que indica el rastro de la falla. Asegúrese que la cabina este nivelada.

##### **7.3. Procedimientos para descongelar**

- 1- Remueva todos los productos y colóquelos en otro lugar
- 2- Apague el equipo y deje la puerta abierta para que la unidad alcance la temperatura ambiente
- 3- Elimine el hielo y seque cualquier resto de agua en el interior del equipo.

Si el congelador tiene mal olor, lave el interior con una solución de carbonatada y agua caliente. Limpie el exterior con cualquier detergente comercial no corrosivo.

##### **7.4. Mantenimiento de las baterías de las alarmas**

Contactar un técnico que revise las condiciones de las alarmas por lo menos una vez al año. Para remplazar la batería realice lo siguiente:


- 1-Abra la parrilla frontal. La batería esta localizada directamente detrás de la parrilla. Las terminales son “push on”.
- 2- Tome la Terminal con alicate y maneje cuidadosamente, mueva de un lado para otro cuando va sacando la Terminal. Los fittings están muy ajustados

3- Remueva la batería y ponga la nueva batería en su lugar

Nota: al momento de realizar dicha actividad tuvo que haber cortado una banda de silicona para remover la batería

### 7.5. Procedimientos informáticos

Problema	Solución
El indicador del fusible de revisión esta encendido	El protector de sobrecarga se voló. Llamar a un técnico electrónico
El indicador del filtro de limpieza esta encendido	El filtro del condensador esta sucio
El indicador de la alarma de batería baja esta encendido	La batería tiene carga baja

	Código: ML – EQ – 17	Fecha Emisión: Nov/08
	“Manual operativo Incubadora CO <sub>2</sub> BarnsteadInternational”	Próxima Revisión: Nov/09
		Nº de Revisión: 1

#### 1. Objetivo

Establecer los lineamientos a seguir en cuanto a instrucciones generales, funcionamiento, mensajes de error y mantenimiento de la incubadora de CO<sub>2</sub>.

#### 2. Alcance

Es documento rige para el Laboratorio de Ingeniería de Tejidos del Instituto Tecnológico de Costa Rica, del Centro de Investigación en Biotecnología.

#### 3. Responsables

Es responsabilidad del coordinador del laboratorio velar porque este manual operativo sea aplicado de la forma correcta y que esté al alcance de todas las personas que laboran en el laboratorio.

#### 4. Instrucciones Generales de la Incubadora de CO<sub>2</sub>

##### 4.1. Condiciones ambientales de operación

- Grado de contaminación: 2
- Altitud: 2000 msnm
- Humedad: 80% máximo, sin condensación
- Suministro eléctrico: 120 VAC O 240VAC
- Tolerancia de voltaje: ± 10% de la línea normal
- Temperatura: 15°C a 40°C

##### 4.2. Emplazamiento

- La unidad debe ser colocada lejos de fuentes externas de vibración, corrientes de aire, y variaciones de temperatura ambiental.
- La unidad debe quedar a un solo nivel, del frente hacia atrás y de un lado a otro.

##### 4.3. Conexión eléctrica

- Antes de conectar la unidad, asegurarse de que la fuente pueda proveer los requerimientos de corriente que se enlistan en la placa de la misma.

#### **4.4. Especificaciones técnicas**

- Requerimientos eléctricos:  
397, 397RH: 120V, 50/60 Hz, 11.7 Amps, 1400 Watts.  
397-1, 397RH-1: 230/240V, 50/60 Hz, 5.8 Amps, 1400 Watts
- Control de temperatura:  $\pm 0.1$  °C
- Uniformidad en la cámara:  $\pm 0.5$  °C
- Tensión de dióxido de carbono:  
Rango: 0% a 20%  
Control:  $\pm 0.1\%$

#### **4.5. Instalación de las láminas**

Los pilares vienen pre-instalados en las paredes de la cámara. Coloque los clips en los pilares al nivel que desea colocar las láminas, son su soporte

##### Para remover o reinstalar las láminas superior e inferior

- Remueva todas las otras láminas
- Remueva primero la lámina inferior soltando los 6 tornillos que la sostienen.
- Para remover la lámina superior, suelte los 6 tornillos que la sostienen.
- Proceda a la inversa para la reinstalación.

##### Instalación del filtro de gas:

- Coloque el switch de encendido en posición OFF
- Conecte el tubo a la salida del tanque de CO<sub>2</sub>
- Conecte la manguera ¼ ID a la lengüeta de un lado del filtro y asegúrelo con la pinza.
- Conecte el otro lado de la manguera a la entrada de gas apropiada en la parte de atrás de la unidad.
- Coloque los reguladores del tanque a 10 psi.
- Revise que no hayan fugas en las conexiones.
- Coloque el switch de encendido en posición ON.

##### Humidificación (si se requiere)

Utilice solamente agua destilada como una medida preventiva en contra de la acumulación de minerales. Los depósitos minerales pueden afectar el control de CO<sub>2</sub>. Revise el nivel del agua regularmente para mantener las condiciones de humedad necesarias para la realización del trabajo. Para humidificar la atmósfera de la cámara, utilice la bandeja de acero inoxidable incluida, vierta agua destilada en la misma.

Mientras que la adición de fungicidas puede ayudar a controlar la contaminación, puede también afectar los resultados de los experimentos llevados a cabo con células, virus y otros materiales.

#### **5. Procedimiento de Operación**

##### **5.1. Encendido**

- Conecte la unidad al suministro de energía que cumpla los requerimientos especificados en la placa.
- Encienda la incubadora con el switch ubicado en el lado superior izquierdo de la unidad.

##### **5.2. Bases operativas**

- Presione la tecla SET y después el parámetro -CO<sub>2</sub>, TEMP, DOOR, HEAT- que debe ser ajustado.
- Use las teclas con flechas UP y DOWN para establecer el valor deseado.



- Espere 5 segundos para que el valor establecido sea guardado automáticamente en la memoria no volátil de la unidad. El guardado se confirma mediante dos pitidos después de los 5 segundos.
- Si se ingresa un parámetro y no se realiza acción alguna, en 10 segundos la unidad regresará a su estado previo.
- Cada vez que se presiona la tecla SCAN/HOLD se seguirá la siguiente secuencia: HOLD Tempertaura (para observarla continuamente) HOLD CO<sub>2</sub> (para observarla continuamente) y escaneo alternado de temperatura y CO<sub>2</sub>.
- Para observar los parámetros establecidos, presione las teclas SET y TEMP, CO<sub>2</sub> o DOOR HEAT, la unidad se revertirá a su estado de pantalla normal después de 10 segundos.

### 5.3. Clave de seguridad

Para evitar el acceso sin autorización a los valores que han sido guardados, se puede establecer una clave.

- Las teclas SET, CAL, CO<sub>2</sub> y TEMP tienen los números 1, 2, 3 y 4 debajo, éstos se utilizan para habilitar y deshabilitar una clave. Escoja una clave de 3 dígitos desde 001 y hasta 999 (nota: 000 no es una clave válida). Después de encender la unidad y presionas cualquier tecla, presione 3, 2 y 1 en secuencia (i.e. CO<sub>2</sub>, CAL y SET); ingrese la clave numérica utilizando las teclas con flechas UP y DOWN.
- Después de ingresar la clave, espere 5 segundos y la unidad la guardará en su memoria no volátil. RECUERDE ESCRIBIR Y GUSRDAR LA CLAVE EN ALGÚN LUGAR SEGUROY ACCESIBLE PARA USTED O UN COLEGA.
- En adelante, el acceso será denegado a no ser que la clave sea ingresada. El tocar cualquier tecla hará que se muestre un 00 y se tienen 5 segundos para ingresar la clave correcta.
- Para desactivar la clave: ingrese la clave, espere a que se muestre --- en la pantalla, ingrese 4, 2, 1 (i.e. TEMP, CAL y SET) y se deshabilitará la clave.

### 5.4. Ajuste de la temperatura de operación

La unidad está pre-ajustada de fábrica a 37°C y 5.0% CO<sub>2</sub>. Para cambiar esto:

- Presione las teclas SET y TEMP en secuencia y usando las las teclas con flechs UP y DOWN, seleccione la temperatura deseada.
- Utilizando un desatornillador de joyería, haga rotar el termostato HI LIMIT completamente en el sentido de las manecillas del reloj.
- Ajuste el CO<sub>2</sub> a cero –la exactitud no se podrá alcanzar hasta que se estabilice la temperatura: Presione las teclas SET y CO<sub>2</sub> en secuencia y utilizando las teclas con flechas UP y DOWN ajuste la lectura de LED hasta que un valor de 00.0 sea obtenido. Espere 5 segundos para finalizar la selección.
- Permita que pase el tiempo suficiente para que la unidad alcance y estabilice la temperatura establecida, más una hora o dos para que la unidad funcione a esta temperatura – típicamente son 4 horas para una temperatura de 37°C.
- Después de que ha pasado el tiempo suficiente, haga rotar el termostato de límite superior en el sentido contrario al de las manecillas del reloj observando la lámpara roja. Cunado la lámpara se haya encendido, usted habrá ajustado la temperatura de límite superior para que sea igual a la temperatura de operación.
- Haga rotar el termostato de límite superior en el sentido de las manecillas del reloj 30°C más allá del punto en que se apaga la lámpara. Esta distancia debe ser parecida a la distancia de la posición de las doce en punto y de la una en punto en el reloj. Esto establece un buffer de unos cuantos grados entre la temperatura de operación y el límite superior de temperatura y permite que el control PID funcione normalmente.

### **5.5. Condensación en la puerta de vidrio interna**

- Después de que la unidad ha estado funcionando, se puede determinar si se está formando alguna condensación en la puerta de vidrio interna. Para disipar esta condensación primero presione las teclas SET y DOOR HEAT para acceder a esta función.
- Utilizando las teclas con flechas UP y DOWN seleccione un valor como un porcentaje de la salida del calentador: el calentador de la puerta es de 20 watts; el control completo de cuánto calor efectivo será aplicado se obtiene estableciendo el porcentaje de calor de la puerta; cada 1% se traduce en 0.2 watts de calor de la puerta. (Mediante la experiencia ganada por prueba y error los usuarios serán capaces de seleccionar más precisamente el valor de calentamiento necesario para remover cualquier condensación. Como un punto de partida general, se puede seleccionar un 30% a 37°C.).

*Nota: el ajuste correcto del control de calentamiento de la puerta depende de factores variables como la temperatura de la cámara y la adición o no de agua a la cámara. En general, se debe procurar el ajuste que produzca la menor cantidad de calor necesaria para eliminar la condensación de la puerta de vidrio. Si está inseguro de la cantidad de calor que se debe producir, comience en un valor bajo e increméntelo en 5% cada par de horas hasta que se elimine la condensación. Una vez establecida, no es necesario volver a cambiar el porcentaje de calor de la puerta a menos que se cambie la temperatura establecida y/o los requerimientos de humedad. El valor escogido se guardará en la memoria RM no volátil.*

### **5.6. Calibración de Temperatura**

La incubadora viene calibrada de fábrica, sin embargo, si se requiere, la lectura de la temperatura se puede calibrar presionando las teclas CAL, TEMP en secuencia.

- El uso de un dispositivo indicador calibrado es crítico para este procedimiento.
- Use las teclas UP y DOWN para corregir la temperatura que se muestra en la lectura del LED para que coincida con su lectura de la temperatura de la cámara. Espere 5 segundos y el ajuste se ingresará por sí mismo.

### **5.7. Calibración de CO2**

- Para acceder al modo de comando, presione las teclas CAL, CO2 secuencialmente.
- Utilizando un Fyrite o un dispositivo similar obtenga la tensión de CO2 verdadera de la cámara usando el puerto de muestra de CO2 del panel frontal.
- Si hay una diferencia entre la lectura del Fyrite y la lectura del LED para CO2, presione CAL y CO2 en secuencia y use las teclas UP y DOWN para ajustar el valor de CO2.
- Todos los parámetros internos de CO2 registran automáticamente el cambio.

### **5.8. Protección de la central de energía**

Si explota un fusible consiga uno a una persona calificada que lo cambie. La primaria interna del transformador de fusibles es: 0.06AMP. Littlefuse #313.006, Tipo Slo-Blo.

## **6. Mantenimiento de la incubadora**

### **6.1. Limpieza**

- Inspeccione la cámara cada 6 meses.
- Si se añade agua para humidificar, remueva cualquier acumulación de escala. Limpie el interior de acero inoxidable con un buen removedor de escala o diluya ácido acético y un trapo sintético.
- No utilice limpiadores con cloro, trapos con algún contenido metálico o abrasivos fuertes para limpiar cualquier parte de la incubadora

## 6.2. Cuidado y limpieza del acero inoxidable

**CUIDADO:** la electrólisis puede dañar el acero inoxidable. Esto ocurre cuando se apoya un objeto directamente en la superficie del acero, atrapando humedad que se pierde oxígeno pero que permanece rodeada de agua con lo contiene.

- Se recomienda el uso de agua destilada. Note que, si esta agua es muy pura puede ser corrosiva para el acero. Cuando se llene la incubadora SIEMPRE añada de 2 a 40 ppm (de 20 a 40 mg/L) de fosfato disódico o bicarbonato de sodio, ajustando la dosis para un pH de 7 a 9. Si lo anterior no se encuentra disponible, use agua de tubo limpia y aireada siempre y cuando la concentración de sólidos sea < 500ppm.

### El factor de pH

Revise el pH periódicamente. Si es < 6.0 añada fosfato disódico para subir el pH hasta un valor de 7 a 9. Se puede utilizar carbonato de sodio o bicarbonato de sodio, pero éstos tienden a formar marcas que deben ser lavadas regularmente. Si el pH > 10.0 añada bisulfato de sodio para bajarlo a los valores recomendados. Evite alcalinidad o acidez extrema pues pueden causar corrosión localizada y resultar en un pH inestable.

### Consideraciones Especiales

**ADVERTENCIA:** Si es necesario utilizar los siguientes químicos, limite el tiempo de exposición a un máximo de 3 horas. Siempre limpie las superficies inmediatamente después de su uso

Cloruro de aluminio	EDTA	Tiocianato de potasio
Cloruro de bario	Cloruro férrico	Hipoclorito de sodio
Cloruro de calcio	Lysol	Cloro
Lima clorada	Sales de mercurio	
Ácido cítrico	Ácido tartárico de fenol	
Solución de Darkin	Permanganato de potasio	

**NUNCA** utilice lo siguiente en acero inoxidable:

Agua regia  
Cloruro férrico  
Ioduro  
Ácido sódico  
Azida de sodio

Los vertidos de químicos, especialmente los listados anteriormente, deben removerse lo más pronto posible y la superficie limpiada con agua jabonosa y un enjuague de agua limpia.

### Agentes Limpiadores

- Se permite el uso de aditivos fungicidas y antibacteriales siere que el pH de la solución acuosa se mantenga entre 7 y 9.
- No utilice paños metálicos. En su lugar, para manchas difíciles, utilice un paño limpiador de plástico y frote en la dirección del grano del metal.
- Si las manchas persisten, utilice uno de los siguientes métodos y químicos.

### Métodos de limpieza

**PRECAUCIÓN:** se debe tener cuidado extremo al manipular estos materiales. Siga las precauciones de las MSDS y de las instrucciones específicas del producto.

- Cualquier variedad de “removedores de escalas” disponibles en supermercados o tiendas usados para limpiar marcas de café, humidificadores o vaporizadores.


- Una disolución de ácido fosfórico del 15% al 35%. Permita que la solución empape la superficie afectada hasta que la herrumbre o escala se afloje. Inmediatamente enjuague con agua limpia.
- Limpiadores basados en ácido cítrico.
- Limpiadores de azulejo y tinas de baño.
- Una solución de 20% de ácido nítrico y 1.5% de ácido hidrofúrico (o ácido hidroclicóric). Pase la solución sobre la superficie con una esponja dejándola que permanezca hasta que se afloje la herrumbre. Inmediatamente enjuague con agua limpia. Este método debe ser usado SÓLO si manchas SEVERAS de herrumbre y escala están presentes.
- Ácido oxálico del 2% al 5% en agua tibia. Pase la solución con una esponja en la superficie permitiendo que permanezca hasta que la herrumbre se afloje. Inmediatamente enjuague con agua limpia. Este método debe ser usado SÓLO si manchas SEVERAS de herrumbre y escala están presentes.
- Después de cada procedimiento seque con aire.

#### Materiales efectivos para desinfectar

- Glutaraldehído
- Alcohol

#### Reparación de unidades

En caso de que su unidad se vuelva inoperativa, consulte a su proveedor local para asistencia.

	Código: ML – EQ – 19	Fecha Emisión: Nov/08
	“Bomba de Aspirado <u>Welch</u> ”	Próxima Revisión: Nov/09
		Nº de Revisión: 1

### 1. Objetivo

Establecer los lineamientos a seguir en cuanto a información técnica, procedimientos y consideraciones de seguridad de operación, así como mantenimiento y cuidados de la Bomba de Aspirado Welch.

### 2. Alcance

Este documento rige para el Laboratorio de Ingeniería de Tejidos del Instituto Tecnológico de Costa Rica, del Centro de Investigación en Biotecnología.

### 3. Responsables

Es responsabilidad del coordinador del laboratorio velar porque este manual operativo sea aplicado de la forma correcta y que esté al alcance de todas las personas que laboran en el laboratorio.

### 4. Información Técnica de Operación

Aspectos	Especificación
Condiciones Ambientales	Para uso en interiores.
	Elevación máxima de 2000 msnm
	Humedad relativa máxima: 80% a 31 °C (88°F) 40% a 40 °C
Temperatura Ambiental Permitida	De 10 °C a 40 °C
Posición	Lugares planos, sobre el soporte, aislado del ruido y evitar deslizamientos del equipo.

<b>Conexiones eléctricas</b>	Voltaje	220 V
	Frecuencia	50 Hz
	Corriente Nominal	3 A
	Consumo de energía	230 W

### 5. Procedimientos de Operación

Se recomienda encender la bomba y dejarla por unos minutos con el fin de calentarla antes de usarla. Esto le brinda capacidad a la bomba para manejarse en atmósferas húmedas. Se debe evitar la entrada de partículas que entren a la bomba pues podrían dañarla. Si se nota que salen partículas durante la evacuación puede utilizar una trampa como la descrita anteriormente. Se debe mantener el equipo libre de filtraciones. Estas se pueden detectar cubriendo el área en la que se sospecha existe una fuga. Al encender saldrán burbujas por la fuga, podrá entonces identificarla. Al apagar el equipo se recomienda correrlo por alrededor de 2 minutos desconectado del proceso de aspirado. Esto permite a la bomba deshacerse de vapores o gotas que se puedan formar dentro de la misma.

### 6. Instrucciones de Instalación

Este equipo debe mantenerse en áreas limpias, secas y bien ventiladas, evitando bloquear el motor de la bomba. Se recomienda mantener.

***Precaución:** El motor del equipo está térmicamente protegido y se reiniciará automáticamente para reajustar las condiciones si hay recarga. No opere esta bomba en atmósferas con gases o vapores explosivos o inflamables.*

*Nunca bloquee el puerto de descarga, pues la presión de la bomba aumentará más de lo establecido para este equipo.*

Revise las fuentes de poder a las cuales conecta el equipo para asegurarse que coincidan en voltaje, fase y frecuencia, de lo contrario el equipo podría verse dañado. Se recomienda el uso de una trampa entre la bomba y el lugar de proceso con el fin de evitar que los líquidos sean absorbidos por la bomba. De igual manera el uso de la trampa se recomienda si se trabaja en procesos donde habrá desprendimiento de vapores de agua. La trampa fría va a condensar los vapores y a evitar el contacto de estos con la bomba. Esta trampa debe mantenerse fría por lo que se recomienda uso de refrigerantes.


### 7. Mantenimiento

La bomba Welch es 100% libre de aceite. Los soportes no necesitan mantenimiento pues están sellados y lubricados permanentemente. Las filtraciones y contaminación son las causas principales de un pobre rendimiento en aspiración y baja presión, por lo que se recomienda mantener el equipo limpio y libre de fugas. En caso de mantenerse los problemas consultar a un técnico.

### 8. Información de seguridad

- No operar si esta dañado el cable o el enchufe
- Mantener el cable lejos de superficies calientes
- No bloquear las aberturas de aireamiento y mantenerlas limpias y libres de polvo o contaminantes
- No operar este equipo cuando se este administrando O<sub>2</sub>
- Usar anteojos de seguridad
- Usar solo en áreas ventiladas
- No usar ningún otro instrumento con este equipo sin antes determinar la máxima presión de aire que ese instrumento pueda soportar
- Este aparato se calienta, no tocarlo mientras esta operando y dejarlo enfriar

- No utilizar este aparato cerca donde se pueda mojar
- No bombear materiales volátiles y combustibles
- No utilizar cerca de llamas

	Código: ML – EQ – 16	Fecha Emisión: Nov/08
	"Manual operativo Refrigerador <u>Isotemp® Plus</u>	Próxima Revisión: Nov/09
		Nº de Revisión: 1

## 1. Objetivo

Establecer los lineamientos a seguir en cuanto a instrucciones generales, funcionamiento, mensajes de error y mantenimiento del Refrigerador Isotemp® Plus.

## 2. Alcance

Es documento rige para el Laboratorio de Ingeniería de Tejidos del Instituto Tecnológico de Costa Rica, del Centro de Investigación en Biotecnología.

## 3. Responsables

Es responsabilidad del coordinador del laboratorio velar porque este manual operativo sea aplicado de la forma correcta y que esté al alcance de todas las personas que laboran en el laboratorio.

## 4. Instalación

### 4.1. Localización

Escoja la localización del refrigerador que debe de proveer como mínimo 3 pulgadas de espacio libre entre la cabina y cualquier otra superficie vertical adyacente a los costados y **REAR**. Una fuente de energía eléctrica adecuada debe de estar disponible.

### 4.2. Instalación y nivelación de las ruedas

Los refrigeradores Isotemp® Plus, viene con cuatro ruedas, que se ensamblan en la base de la unidad, una en cada esquina. Use la llave que se le provee para ajustar las ruedas completamente en la base de la unidad. Acomode las ruedas hacia fuera o hacia adentro hasta que la unidad se encuentre equilibrada y este bien apoyada sobre las cuatro ruedas.

### 4.3. Conexión eléctrica

La frecuencia y el voltaje nominal requerido para la unidad está especificado la placa de datos, que está localizada en el lado superior izquierdo del interior del refrigerador. Conecte la unidad solo en una fuente de poder que cumpla con los requerimientos. Una baja línea de voltaje es frecuentemente la causa de quejas al servicio. Con la unidad en funcionamiento, verifique que la línea de voltaje está dentro de el  $\pm 10\%$  de lo especificado en la placa de datos.

**Nota:** La unidad debe de estar conectada a tierra por seguridad personal.

## 5. Operación

Para iniciar el funcionamiento inserte la llave en la cerradura y coloquela en la posición de encendido ( I ).

### 5.1. Controles

El controlador digital de la temperatura está localizado en el panel superior. Cuando la unidad es puesta en funcionamiento por primera vez, la pantalla mostrara la temperatura actual de la cámara. Las unidades se pueden indicar en °C o en °F, en el LED (diodo emisor de luz) localizado justo a la derecha de la pantalla de la temperatura. El refrigerador es fijado de fábrica en 4°C. Cuando la

unidad es energizada por primera vez, los ventiladores de evaporación se pondrán en funcionamiento, sin embargo, éste no enfriará de inmediato. Un tiempo de retraso en el compresor es programado en el controlador para verificar que la presión del sistema es lo suficientemente baja para activar el motor. Cuando el tiempo de retraso se ha terminado, el *cool* LED se iluminará, el compresor se pondrá en funcionamiento y la cámara comenzará a enfriar.

## **5.2. Menus**

Presionando suavemente las teclas mostradas en el controlador, el refrigerador puede ser puesto a operar en cualquier lugar del rango de temperatura de los 1.0°C a los 12.0°C ya sea en unidades de °C o °F. Cuando la tecla de el MENU es presionada, el MODE LED se iluminará, indicando los parámetros de operación, setpoint (SP), temperatura offset (oS), tiempo hola-off(Ho), o unidades (CF) pueden ser seleccionadas a la preferencia del usuario.

### **5.2.1 Selección de temperatura.**

Presionando la tecla de MENU una vez se accederá al menú de selección. La pantalla mostrará SP, seguido de la última temperatura programada en unidades, indicado por las unidades en el LED. Use las teclas ▲ y ▼ para cambiar la temperatura seleccionada a una temperatura deseada (1.0°C a 12.0°C). Presione la tecla MENU para introducir la temperatura seleccionada y acceder al menú de selección de unidades de temperatura.

### **5.2.2. Unidades**

La temperatura puede ser mostrada en unidades de °C o de °F. La selección de las unidades aparece luego del menú de selección de temperatura. O, desde el modo de visualización de temperatura, presione la tecla de menú hasta que la pantalla muestre CF seguido por una C o una F solas, que indican las unidades más recientemente seleccionadas. Use las teclas ▲ y ▼ para cambiar entre las unidades. Presione de nuevo la tecla menú para ingresar las unidades seleccionadas y regresar al modo de visualización de la temperatura. Una vez seleccionadas, las unidades correspondientes deberán estar encendidas en el LED.

### **5.2.3. Calibración**

En el caso de que el refrigerador necesite ser calibrado, hay un procedimiento disponible para ajustar el punto de control a el punto mostrado por un estándar de referencia. Para seleccionar una temperatura de compensación cuando se encuentra en el modo de visualización de la temperatura (modo LED off), simplemente presione y mantenga la tecla del menú por 5 segundos. La pantalla mostrará “oS” seguido de la el último valor de compensación de la temperatura. La programación de fábrica es 0.0. Para cambiar el valor de compensación, presione la tecla ▲ o ▼ para llegar al valor el cual una vez algebraicamente adicionado a la última temperatura mostrada, estará de acuerdo con la temperatura de la referencia. Luego presione la tecla de menú dos veces más. El valor mostrado en la pantalla será adicionado a la temperatura previamente leída.

Por ejemplo:

La pantalla indica 4°C pero el termómetro de referencia en la cámara del refrigerador indica 6°C. El operador mantiene la tecla menú y cambia el valor mostrado desde 0.0 a 2.0. La tecla menú es presionada dos veces más para que el controlador nuevamente muestre la temperatura de la cámara. Ahora la pantalla muestra una temperatura de 6.0°C en la cámara y el controlador comienza a enfriar a la temperatura deseada de 4°C.

Déle al refrigerador de unos 30 a 40 minutos para que se establezca nuevamente. Si la temperatura mostrada es todavía incorrecta, repita el procedimiento de calibración.

#### 5.2.4. Tiempo fuera

Seguido de el menú de compensación está el menú de tiempo fuera (Ho). La pantalla mostrará momentáneamente “Ho”, seguido de un número. El número presentado en la pantalla es el tiempo de retraso en minutos entre las activaciones del compresor. Use las teclas ▲ y ▼ para cambiar el valor.

Aumentando el tiempo del modo Ho permitirá tiempo adicional para el descarchado del evaporador. Esto puede reducir la posibilidad de que el evaporador se congele durante los tiempos de alta humedad.

Presionando la tecla menú durante el modo Ho, introduzca el tiempo fuera deseado, y regrese el controlador de operación al modo de visualización de la temperatura.

#### 5.3. Disgresión de la temperatura

Presionando la tecla ▲, la pantalla mostrará la temperatura más alta alcanzada desde que la unidad fue puesta en funcionamiento, o los valores de disgresion que fueron reseleccionados. Presioando la tecla ▼, se mostrará la temperatura más baja alcanzada desde que la unidad fue puesta en funcionamiento o los valores de digresión que fueron reseleccionados.

Para reseleccioar los valores de disgresión de la temperatura, simplemente presione las taclas ▲ y ▼ al mismo tiempo. La pantalla mostrará Clr, indicando que el controlador comenzará a registrar las nuevas disgresiones de calor y frío una vez más.

#### 5.4. Códigos de error.

Los códigos de error indican cuando el controlador está viendo algún problema. Una descripción de cada uno es dada a continuación. Observe la tabla que se da abajo para información adicional acerca de los códigos de error.

E1. Sensor abierto

E2. Baja temperatura La temperatura del sensor está por debajo de -36°C.

E3. Temperatura alta. La temperatura del sensor está por encima de los 37°C.

Síntoma	Causa probable	Acción
La unidad no está corriendo	La unidad está desconectada Fusible quemado o caída del circuito del BREAKER	Conecte la unidad Revise los fusiles o el circuito del BREAKER en la caja del BREAKER
La unidad corre continuamente	Formación de escarcha en las bobinas del refrigerador <b>NOTA:</b> La congelación del evaporador puede ser causada por un valor de <b>oS</b> inapropiado	Apague la unidad y permita que se descongele
La unidad produce un sonido de golpe en seco (clic)	El compresor está equipado con un protector térmico. Este dispositivo apaga el compresor cuando éste se vuelve muy caliente. Un sonido de clic ocurre alrededor de cada 30 segundos indicando que éste protector está trabajando.	Desconecte y permita a la unidad reposar por alrededor de una hora, luego póngala en funcionamiento de nuevo. Si la condición se mantiene, llame al servicio.



Enfriamiento insuficiente	La temperatura seleccionada es muy alta El valor oS es demasiado bajo La bobina del condensador está sucia Unidad con escarcha Evaporador congelado	Reduzca la temperatura seleccionada, verificando que el <i>Cool</i> LED está encendido. Aumente el valor oS Limpie la bobina del condensador con una aspiradora eléctrica Descongele la unidad Verifique que los ventiladores internos está funcionando
---------------------------	---	---

## 5.5. Iluminación interior

Las lámparas internas son controladas por un switch localizado en el panel superior. Esta lámpara deberá operar cuando la cámara sea encendida. Si las lámparas interiores fallan, reemplacelas con unas del mismo tamaño y de los mismos Watts. **NO USE LÁMPARAS DE MENOR CONSUMO DE WATTS.** Éste tipo de lámparas generalmente fallan al alumbrar debajo de los 15°C.

## 6. Mantenimiento

### 6.1. Limpieza de la cabina.

El interior de la cabina debe ser limpiado frecuentemente. Cualquier liquido derramado debe ser limpiado inmediatamente. Algunos derrames pueden ser permanentes si no son rápidamente removidos. El exterior de la cabina debe ser limpiado ocasionalmente. Un detergente suave y agua tibia, o una solución de bicarbonato de soda (una cucharada por galón de agua) es recomendada para la limpieza del interior y exterior de la cabina. Todas las superficies deben ser lavadas y secadas.


### 6.2. Limpieza del condensador

Para una operación eficiente, es recomendado que las bobinas del condensador y el ventilador sean limpiados cada 4 a 6 meses. Las bobinas del condensador están localizadas detrás de la abertura del panel de control. (lado izquierdo). Remueva el panel para acceder a éste.

Aspire la superficie frontal de la bobinas completamente, o direccione aire a presión hacia el condensador desde la rejilla. Si es necesario, use un cepillo de cerdas finas para eliminar alguna suciedad.

### 6.3. Cazuela de Condensado del evaporador

La cazuela de condensado del evaporador está localizado detrás del ventilador del compresor, el cual está en la parte superior izquierda. Esta cazuela debe de ser limpiada por lo menos una vez al año para prevenir malos olores y promover un funcionamiento eficiente. Aspire en seco o limpie con una esponja y agua de jabón.

	Código: ML – EQ – 15	Fecha Emisión: Nov/08
	“Manual operativo Congelador <u>Isotemp -20°C</u>	Próxima Revisión: Nov/09
		N° de Revisión: 1

## 1. Objetivo

establecer los lineamientos a seguir en cuanto a instrucciones generales, funcionamiento, mensajes de error y mantenimiento del **Congelador Isotemp -20 °C.**

## **2. Alcance**

Este documento rige para el Laboratorio de Ingeniería de Tejidos del Instituto Tecnológico de Costa Rica, del Centro de Investigación en Biotecnología.

## **3. Responsables**

Es responsabilidad del coordinador del laboratorio velar porque este manual operativo sea aplicado de la forma correcta y que esté al alcance de todas las personas que laboran en el laboratorio.

## **4. Instalación**

### **4.1. Localización**

Escoja la localización del congelador que debe de proveer como mínimo 4 pulgadas de espacio libre entre la cabina y cualquier otra superficie vertical adyacente a los costados y 4 pulgadas de espacio con referencia a la parte trasera. 12 pulgadas de espacio son requeridas por encima de la superficie superior de la cabina del refrigerador. Una fuente de energía eléctrica adecuada debe de estar disponible.

### **4.2. Nivelación**

El refrigerador debe de estar nivelado de manera que permita un adecuado drenado de la condensación así como una adecuada alineación de la puerta y funcionamiento. El refrigerador debe estar en su lugar de operación final y se debe de revisar que esté firmemente posicionado sobre el suelo.

### **4.3. Conexión eléctrica**

La frecuencia y el voltaje nominal requerido para la unidad está especificado la placa de datos, que está localizada en el lado superior izquierdo del interior del congelador. Conecte la unidad solo en una fuente de poder que cumpla con los requerimientos. Una baja línea de voltaje es frecuentemente la causa de quejas al servicio. Con la unidad en funcionamiento, verifique que la línea de voltaje está dentro de el  $\pm 10\%$  de lo especificado en la placa de datos.

**Nota:** La unidad debe de estar conectada a tierra por seguridad personal.

La unidad posee un cable con un conector especial de tres espigas (una a tierra) (NEMA 5-15P). Este conector encaja en un receptor de pared estándar de tres espigas (NEMA 5-15P) para minimizar la probabilidad de un riesgo de shock eléctrico. El comprador debe de tener el receptor de pared correctamente conectado a tierra y con un servicio de amperaje mínimo de 15 amperios.

## **5. Operación**

### **5.1. Puesta en funcionamiento**

Encienda la unidad y verifique que el ventilador del condensador está corriendo. Este modelo tiene el ventilador del condensador localizado sobre la unidad de condensación, en la parte superior de la cabina.

### **5.2. Control de Temperatura**

Para ajustar la temperatura interior hacia abajo, simplemente mueva la perilla del termostato en dirección de las manecillas del reloj. Para operación por encima de una altitud de 3000 pies, el termostato debe de ser ajustado por un técnico.

### **5.3. Disposición de la condensación CONDENSATE DISPOSAL**

El drenaje de condensación está en el centro del piso interior. El tubo de drenaje de la condensación está conectado a este drenaje y está unido al lado izquierdo frontal de la parte inferior de la unidad detrás de la oja de metal frontal. Desabroche y coloque el tubo de drenaje dentro de un receptor y remueva el tapón de drenaje. Apague la unidad y permita que está se descongele.

#### 5.4. Compatibilidad del material

La cabina interior de esta unidad está construida de metal con una cubierta de epóxido. Se debe de tener cuidado cuando se está determinando cuales químicos pueden ser almacenados en la sección del refrigerador y del congelador y cual tipo de almacenamiento de materiales deben ser utilizado.

El Plástico ABS se deteriora cuando está expuesto, pero no únicamente, a los siguientes compuestos:

Hidrocarburos alifáticos, hidrocarburos aromáticos, hidrocarburos completamente o parcialmente halogenados, alcoholes monohídricos, fenoles, ésteres, éteres, ácidos orgánicos (concentrados y diluídos), y ácidos oxidantes concentrados.

Las aleaciones de aluminio son susceptibles a corrosión cuando se exponen a, pero no únicamente, la mayoría de los ácidos inorgánicos, bases y sales con pH por fuera del rango de 4 a 9. Es importante también reconocer que la compatibilidad de las aleaciones de aluminio con mezclas de compuestos orgánicos no siempre puede ser predecida a partir de su compatibilidad con cada uno de los componentes. Por ejemplo, algunas aleaciones de aluminio son corroídas fuertemente por mezclas de tetracloruro de carbono y alcoholes metílicos, aunque éstas sean resistentes a cada componente por separado.

#### 6. Solución de problemas

Síntoma	Causa probable	Acción
La unidad no está corriendo	La unidad está desconectada Fusible quemado o caída del circuito del BREAKER	Conecte la unidad Revise los fusibles o el circuito del BREAKER en la caja del BREAKER
La unidad corre continuamente	Formación de escarcha en las <b>COILS</b> del refrigerador	Descongele la unidad
La unidad produce un sonido de golpe en seco (click)	El compresor está equipado con un protector térmico. Este dispositivo apaga el compresor cuando éste se vuelve muy caliente. Un sonido de clic ocurre alrededor de cada 30 segundos indicando que éste protector está trabajando.	Desconecte la unidad por una hora, luego póngala en funcionamiento de nuevo. Si la unidad no comienza a correr, llame al servicio.
Enfriamiento insuficiente	El termostato está situado en una posición muy alta Unidad con escarcha	Cambie el termostato a una posición más baja Descongele la unidad


#### 7. Mantenimiento

##### 7.1. Limpieza de la cabina.

El interior de la cabina debe ser limpiado frecuentemente. Cualquier líquido derramado debe ser limpiado inmediatamente. Algunos derrames pueden ser permanentes si no son rápidamente removidos. El momento más conveniente para limpiar el interior es después de descongelarlo. El exterior de la cabina debe ser limpiado ocasionalmente. Un detergente suave y agua tibia, o una solución de bicarbonato de soda (una cucharada por galón de agua) es recomendada para la limpieza del interior y exterior de la cabina. Todas las superficies deben ser lavadas y secadas.

## 7.2. Condensador

La bobina del condensador está ubicada detrás de los lados y en la parte trasera del panel exterior. Estas superficies podrían estar calientes al tacto. Esto es necesario para a operación de el refrigerador y es necesario.

	Código: ML – EQ – 20	Fecha Emisión: Nov/08
	“Manual Operativo Refrigerador LG”	Próxima Revisión: Nov/09
		Nº de Revisión: I

### 1. Objetivo

Establecer los lineamientos a seguir en cuanto a instrucciones generales, funcionamiento, mensajes de error y mantenimiento del Congelador REVCO -70 °C.

### 2. Alcance

Es documento rige para el Laboratorio de Ingeniería de Tejidos del Instituto Tecnológico de Costa Rica, del Centro de Investigación en Biotecnología.

### 3. Responsables

Es responsabilidad del coordinador del laboratorio velar porque este manual operativo sea aplicado de la forma correcta y que esté al alcance de todas las personas que laboran en el laboratorio.

### 4. Reglas generales

- 1- No instalar en lugares de alta humedad.
- 2- Colocar sobre piso nivelado
- 3- Debe existir una adecuada circulación de aire
- 4- La distancia entre paredes y equipo debe ser no menor de 5 cm.
- 5- Debe estar elevado 4.5 cm en la parte frontal ajustando los tornillos niveladores.
- 6- Limpiar en interior y el exterior con trapo húmedo.
- 7- Esperar una hora para conectarlo después de instalarlo
- 8- No removerla terminal de tierra, es peligroso, dejar funcionando 2h-3h antes de introducir alimentos

#### 4.1. Lo que se necesita saber

El desempeño del refrigerador se afectará

- Si esta colocado en un lugar caliente o húmedo.
- Si se abre frecuentemente la puerta.
- Si se introduce agua, alimentos u objetos extraño en las salidas de aire frío.
- Si se introducen alimentos calientes.

#### 4.2. En periodo de vacaciones se recomienda

- Sacar todo lo que este adentro
- Desconectar el cable de corriente
- Limpiar completamente el interior
- Dejar la puerta abierta para evitar malos olores.

#### 4.3. Si se desea cambiar la posición de la refri:

- Remover o asegurar todos los aditamentos dentro del refri
- Para evitar daños en los tornillos niveladores, girarlos totalmente hacia la base.

- Colocar el cable de alimentación de corriente en el gancho de la esquina posterior izquierda.

#### **4.4. Área frontal se calienta:**

La pared frontal del gabinete del refrigerador se calienta especialmente después de la instalación. Es para evitar el sudor o condensación.

#### **4.5. Reemplazo de la lámpara:**

##### Lámpara del congelador

- 1- Desconectar el refrigerador del tomacorriente
- 2- Remover la cubierta de la lámpara, jalandola de la parte posterior hacia abajo y hacia el frente.
- 3- Girar la lámpara en el sentido contrario a las manecillas del reloj, se retira y se reemplaza.

##### Lámpara del refrigerador

- 1- Desconectar el refrigerador del tomacorriente
- 2- Quitar las bandejas y la tapa del compartimento de vegetales.
- 3- Para remover la cubierta de la lámpara, jalar con una mano o con una herramienta desde la parte inferior.
- 4- Girar el foco en sentido contrario a las manecillas del reloj, retirarlo.
- 5- El ensamble realízalo en orden inverso al desensamble

##### Tipo 2

- 1- Quite las parrillas
- 2- Desensambla la cubierta de la lámpara, presionado al centro y retirarla con cuidado
- 3- Gira el foco en sentido contrario al de las manecillas del reloj y retirarlo
- 4- En ensamble realizarlo en orden inverso

### **5. Instalación**

- 1- seleccionar un lugar de fácil acceso. No instalar en lugares de alta humedad o cerca de las fuentes de calor
- 2- Antes de conectar, esperar cuanto menos una hora después de haberlo inslatado
- 3- Debe estar nivelado y sobre piso firme. Esto eliminará vibraciones y ruido
- 4- Limpia el interior y exterior del refrigerador con un trapo húmedo
- 5- La circulación de aire debe ser adecuada para una operación eficiente
- 6- Conectarlo a un toma de corriente exclusiva y que no esté dañana. Debe estar aterrizado. Sino cuentas con la instalación correcta llamar aun técnico.
- 7- La temperatura ambiente deberá estar entre 10 - 43°C
- 8- Dejarlo funcionando 2h-3h funcionando antes de introducir cualquier sustancia

### **6. Operación y funcionamiento**

#### **6.1. Conexión**

El refrigerador debe estar aterrizado. Si la operación es interrumpida, esperar 5 min antes de restaurarla

#### **6.2. Autochequeo**

El sistema de conexión electrónico cuenta con autochequeo. Las luces se encienden en forma diferente a lo normal y no es posible ajustar. Cuando esto ocurra no desconectar el refrigerador, llamar al centro de servicio

### **6.3. Método para hacer hielo**

Para hacer cubos de hielo, llenar la charola con agua hasta lo indica el nivel de marcado la misma y colocarla dentro del congelador. Para remover los cubos de hielo sujetar la charola de los extremos y torcerla levemente

### **6.4. Configuración de temperaturas**

#### **6.4.1. Congelador**

Se puede controlar el paso de aire frío que va del congelador al refrigerador. Para cambiar la posición deslizar suavemente hasta la temperatura deseada (MIN, MID, MAX). Para cambiar de posición el control impulsarlo hacia los lados para que gire (1, 2, 3...)

#### **6.4.2. Refrigerador**

Controla la temperatura del refrigerador y del congelador. Para configurar este control, presionar el botón >, cada vez que se presiona, se irán encendiendo uno a uno los foquitos hasta llegar al máximo. Para configurar esotro control presionar el botón REF TEMP, cada vez que se rpesine se irá encendiendo desde el centro hacia las orillas los foquitos hasta llegar al máximo

### **6.5. Sistema de Door Cooling**

Enfriamiento a través de la puerta

### **6.6. Deshielo**

Se hace automáticamente

### **6.7. Limpieza exterior**

Limpiar inmediatamente algún derrame sobre la exterior de esta ya que puede acidificar y manchar las superficies plásticas. No utilizar fibras metálicas, cepillas, limpiadores abrasivos o soluciones alcalinas fuertes. Utilizar jabón o detergente utilizando una tela húmeda con cuidado de no mojar directamente el control de la temperatura y después secar bien

### **6.8. Limpieza interior**

Limpiar los componentes con una solución de bicarbonato de sodio. Enjuagar y secar. Hacerlo regularmente incluyendo empaques magnéticos


Desconectar el cable de corriente antes de limpiar cerca de las partes eléctricas. Remover el exceso de humedad con una toalla seca

## **7. Advertencias importantes**

- a- No utilizar cable de extensión: no conectar varios aparatos a un mismo tomacorriente puede sobrecargar el cableado, calentarse y causr variaciones en el voltaje y un mal funcionamiento
- b- Reemplazo de cable de corriente: si el cordón de alimentación se daña, éste debe ser reemplazado por el fabricante, por el centro de servicio o por personal avalado por LG electronics, para evitar algún riesgo.
- c- Conexión a tierra: en caso de un corto circuito, la conexión a tierra reduce el riesgo de choque eléctrico.
- d- No guardar sustancias explosivas: como benceno, alcohol entre otras.
- e- Accesibilidad del enchufe (cable de alimentación): el equipo deber ser colocado de manera que el enchufe este accesible para desconectarlo rapidamente en caso de presentarse un accidente.

## 8. Que hacer cuando:

- a- El refrigerador no funciona: verificar sino se fundió algún fusible en la instalación eléctrica. El cable de corriente esta conectado. Revisar el contacto eléctrico, que no este dañado. Revisar si no se tiene varios aparatos eléctricos de alto consumo de energía trabajando al mismo tiempo, desconectar los que no se necesita.
- b- La temperatura del refrigerador es muy caliente: verificar el control de la temperatura en la posición correcta. Retirarlo de fuentes de calor o de la luz directa del sol. Abrir las puertas solo necesariamente. Muchos objetos obstruyendo la salida de aire. No dejar la puerta abierta por mucho tiempo.
- c- Si se escucha ruidos anormales: verificar que este sobre una superficie uniforme o ajustar los niveladores. Retirar los objetos innecesarios colocados en la parte superior o posterior del mismo. Verificar que no haya una baja de voltaje, si es así llamar a la compañía de luz.
- d- El refrigerador guarda olores: guardar los alimentos en recipientes tapados. Limpiar frecuentemente el interior del refrigerador.
- e- Se forma humedad en la superficie del gabinete: es normal en periodo de alta humedad. La puerta se puede haber quedado abierta, procurar que esto no suceda.
- f- Se calienta la parte frontal del refrigerador: es parte normal del funcionamiento del refrigerador y esto sucede para evitar la formación de sudor.
- g- El compresor trabaja muy frecuentemente y por periodos muy largos: verificar si los controles de la temperatura están al máximo, si es así posicionarlos a la mitad. Revisar que las puertas estén bien cerradas. No almacenar sustancias calientes.

	Código: ML – EQ – 21	Fecha Emisión: Nov/08
	"Manual Operativo Refrigerador Atlas"	Próxima Revisión: Nov/09
		Nº de Revisión: 1

### 1. Objetivo

Establecer los lineamientos a seguir en cuanto a instrucciones generales, funcionamiento, mensajes de error y mantenimiento del Congelador REVCO -70 °C.

### 2. Alcance

Es documento rige para el Laboratorio de Ingeniería de Tejidos del Instituto Tecnológico de Costa Rica, del Centro de Investigación en Biotecnología.

### 3. Responsables

Es responsabilidad del coordinador del laboratorio velar porque este manual operativo sea aplicado de la forma correcta y que esté al alcance de todas las personas que laboran en el laboratorio.

### 4. Instalación

Para la seguridad este refrigerador esta provisto con un enchufe de puesta a tierra.

- Antes de conectar el refrigerador, asegurarse de que el toma corriente este sea del voltaje y frecuencias indicadas en la placa de características técnicas que se encuentra en el respaldo del refrigerador.
- Si el enchufe del refrigerador no coincide o no calza con el tomacorriente, bajo ninguna circunstancia debe modificar o reemplazar debe modificar o reemplazar el enchufe, no utilizar adaptadores para tomacorriente que no posean toma a tierra.
- No utilice una extensión eléctrica par conectar este equipo.
- Las variaciones de voltaje de 10% o más afectaran el adecuado funcionamiento del refrigerador, e incluso el daño completo del compresor.
- Nunca instale otros equipos en el mismo tomacorriente para evitar variaciones en el voltaje

- Nunca tire bruscamente el cable de alimentación para desenchufar el refrigerador, sujete el enchufe firmemente para sacarlo del receptáculo para evitar daños en el cable.
- Si el cordón de alimentación está dañado, este debe ser reemplazado por el fabricante o su agente de servicio.
- Consultar con un técnico calificado, autorizado.

## **5. Ubicación**

- El equipo está diseñado para que trabaje en un ambiente entre 10 y 43°C bajo condiciones de operación normal.
- En condiciones o ambientes calientes el refrigerador trabaja con menos eficiencia, por esta razón ubicarlo en una zona ventilada.
- El espacio a localizar debe estar cerca de un tomacorriente correctamente aterrizado.
- Ubicar fuera del alcance de la luz solar, aparatos que generen calor.
- Dejar 75 mm de sobre el gabinete, 25 mm a cada lado, 32 mm entre la pared y el condensador y 13 mm del borde frontal del gabinete al borde extremo del mueble.
- La superficie debe ser nivelada y que resista el peso completamente cargado
- Para facilitar el movimiento del refrigerador, este cuenta con ruedas traseras
- Para nivelar el refrigerador se deben girar los tornillos niveladores frontales, los cuales pueden elevarse unos 5 mm hasta que quede ligeramente inclinado hacia atrás; esta posición ayuda a que las puertas se cierren por sí mismas y evitar que se abran solas

## **6. Uso y ajuste de temperatura**

- La posición 0 (OFF) del control apaga el compresor y el refrigerador deja de enfriar, pero no desconecta la energía eléctrica hacia la lámpara ni otros componentes eléctrico.
- Dejar funcionar el refrigerador con las puertas cerradas por 8h-12h antes de introducir sustancias en el mismo.
- El refrigerador cuenta con un único control de temperatura localizado en la caja control en el techo del compartimiento del enfriador.
- El refrigerador viene ajustado de fábrica en la posición 4 (medio), pero dependiendo de la temperatura y la humedad ambiental se debe ajustar según los requerimientos considerando que 1 es la menos fría y 7 es la más fría.
- El tiempo de funcionamiento y la temperatura interna del refrigerador se verán afectados por la frecuencia de las aperturas de las puertas, la TA, y la condición de los productos almacenados

## **7. Uso del refrigerador**

El calor del aire y los productos que están dentro del refrigerador se absorbe y elimina a través del sistema de refrigeración. Al disiparse el calor hacia el exterior por medio del sistema de refrigeración, es normal que el borde frontal del gabinete y el condensador estén calientes. La acumulación de escarcha varía con las condiciones ambientales, como la humedad relativa y la temperatura, además del uso del refrigerador. Cuando las puertas se cierran es normal escuchar un ruido similar aun silbido, esto se genera por las diferencias de presión entre el aire dentro del refrigerador y el exterior. No abrir la puerta inmediatamente seguido, esperar de 10-20 segundos para volverla a abrir.

### **7.1. Recomendaciones para optimizar la eficiencia y el desempeño**

- No dejar la puerta más del tiempo necesario
- Verificar que el empaque magnético de la puerta cierre adecuadamente
- No introducir alimentos y/o bebidas en su refrigerador más calientes que la temperatura ambiente



- Si su refrigerador esta desconectado sin razón alguna, espere 10 min antes de volverlo a conectar, esto permitirá que el compresor se estabilice antes de reiniciar su marcha.
- Elimine con regularidad la escarcha del congelador, según el modelo cuando tenga un espesor de 6-10 mm

## 7.2 Ajustes de las puertas

- Si las puertas no cierran ni ajustan adecuadamente, se pueden ajustar con el giro de buje en la zona de la bisagra
- Con la llave incluida en el refrigerador ajuste el buje de las puertas hasta que el empaque magnético toque el gabinete de modo uniforme y las puertas quedan alineados con los bordes del gabinete

## 7.3 Almacenamiento de sustancias

- 1- **Congelador:** la temperatura debe mantenerse de -10 a -20°C. El congelador mantiene su eficiencia con cargas mayores a 2/3 de su capacidad. No obstruir el paso del ventilador. Congelar en pequeñas partes. Remover el aire que contienen los empaques o recipientes con productos sólidos.
- 2- **Enfriador:** la temperatura debe de ser de 2 a 9°C. no acumular productos en el ducto de aire y en contacto con las placas en enfriamiento. Remover el aire que contienen los empaques o recipientes con productos sólidos

## 8. Mantenimiento

- Siempre desenchufar el cable de alimentación eléctrica de la toma de corriente de la pared antes de la limpieza y cualquier actividad relacionada con el mantenimiento del refrigerador.
- Al girar el control de la temperatura a la posición 0 OFF se apaga el compresor y el refrigerador deja de enfriar, pero no desconecta la energía eléctrica hacia el refrigerador, se debe desenchufar.
- Mantener el refrigerador y congelador limpios para evitar la aparición de malos olores y contaminación.
- Limpiar cualquier derrame inmediatamente y limpiar totalmente por lo menos 2 veces al año.
- No utilizar esponjas para restregar, cepillos, limpiadores abrasivos ni soluciones alcalinas fuertes ni solventes para limpiar superficies.
- Al mover el refrigerador sacarlo directamente hacia fuera.
- Los objetos húmedos se adhieren a las superficies metálicas frías, por lo que no toque las superficies refrigeradas con las manos mojadas o húmedas.
- Limpiar el condensador dos veces al año.
- No utilizar objetos punzocortantes para remover etiquetas adhesivas (cualquier residuo de goma de las etiquetas se remueve fácilmente con detergente y con agua tibia).
- No quitar la placa de identificación.

Para la limpieza utilizar el siguiente cuadro:

Parte a limpiar	Debe utilizar	Consejos y precauciones
Exterior y maniguetas	Jabón y agua	No utilice limpiadores comerciales para uso doméstico ni alcohol para limpiar las manillas. No utilice fibras metálicas o sintéticas abrasivas, soluciones alcalinas, solventes o limpiadores altamente perfumados sobre la superficie del refrigerador

Empaque magnético de las puertas	Jabón y agua	Limpie las juntas con un paño suave y limpio El empaque magnético de las puertas con un cepillo de dientes
Serpentín del condensador	Aspiradora Brocha de cerdas suaves	Utilice la boquilla para quitar el polvo de la aspiradora para quitar el exceso de polvo de los serpentines del condensador (tubos negro y cableados) que están en la parte posterior
Base del compresor	Jabón y agua Aerosol líquido suave Accesorio de aspiradora Brocha de cerdas suaves	Aspire o cepille la base y límpiela con un paño o esponja impregnada de agua jabonosa Enjuague y seque
Bandeja de agua descongelada	Jabón y agua	La bandeja de agua se encuentra en la parte posterior, para limpiarla retire el refrigerador de la pared y desconéctelo del toma del tomacorriente Tenga precaución con los serpentines internos y circundantes pues pueden estar calientes Extraiga el agua con una esponja o trapo Lávala con agua y un detergente o desinfectante, luego enjuáguela y séquela
Interior y revestimiento de las puertas	Jabón y agua bicarbonato de sodio y agua	Limpie el interior con una solución de agua tibia y bicarbonato de sodio (disolver una cucharadita de bicarbonato de sodio por cada medio litro de agua) Luego enjuague y seque el refrigerador, asegurándose de eliminar los excesos de agua con una esponja o trapo, especialmente en el área de control de la temperatura y la lámpara Para eliminar los malos olores, agregue unas gotas de esencia de vainilla a la solución de agua y bicarbonato de sodio antes de aplicarla
Anaqueles de vidrio	Jabón y agua Aerosol líquido suave Accesorio de aspiradora	Deje que el vidrio adquiera la temperatura ambiente antes de sumergirlo en agua tibia

### 8.1. Reemplazo de la lámpara interior

- Desconecte la unidad antes de empezar
- Utilice guantes para evitar cortarse si se rompe el tubo de la lámpara
- Remueva los elementos circundantes, bandeja y cobertores correspondientes
- Desenrosque y reemplace la lámpara, proceda de forma inversa en el montaje de las partes removidas
- Enchufe de nuevo el equipo

### 8.2 Deshielo



- Se recomienda descongelar su refrigerador cuando la escarcha tenga un espesor entre los 6 mm y los 10 mm, para evitar las acumulaciones excesivas de escarcha y deficiencias en el desempeño y eficiencia



- No utilice los cuchillos o cualquier otro instrumento afilado para remover el hielo, ya que puede ser dañada
- Utilice una espátula plástica para remover cualquier sobrante de hielo en el congelador
- Asegúrese de que el agua producida por el deshielo sea retirada tan rápido como sea posible de su congelador
- Antes de iniciar el proceso de descongelación retire del congelador todo
- Desconecte el refrigerador del tomacorriente, el control de temperatura puede permanecer en la posición establecida
- Para reducir el tiempo de descongelación, ubique un recipiente con agua caliente dentro del congelador y mantenga la puerta abierta
- La puerta del enfriador si debe permanecer cerrada
- Antes ubicar los alimentos en el congelador, asegúrese de eliminar completamente el agua de deshielo y seque el congelador
- Conecte de nuevo su refrigerador al tomacorriente



## ANEXO 3 REGISTROS DEL LABORATORIO



### 1. RG-ML-(X). Registro de Mantenimiento y Limpieza - (Número de equipo)



Mantenimiento técnico y limpieza según calendario. L: Limpieza, RT: Revisión Técnica, O: Otros.



		Código: RG-ML-01		Fecha de Emisión: Nov-08
		"Mantenimiento de Equipo: Cámara de Flujo Laminar TELSTAR"		Próxima Revisión: Nov-09 Nº de Revisión: 1
Fecha	Actividad	Observaciones		Responsable (nombre y firma)
	L <input type="checkbox"/> RT <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>			



		Código: RG-ML-02		Fecha de Emisión: Nov-08
		"Mantenimiento de Equipo: Incubadora de CO <sub>2</sub> BINDER"		Próxima Revisión: Nov-09 Nº de Revisión: 1
Fecha	Actividad	Observaciones		Responsable (nombre y firma)
	L <input type="checkbox"/> RT <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>			

		Código: RG-ML-03		Fecha de Emisión: Nov-08
		"Mantenimiento de Equipo: Centrifuga AccuSpin 1/IR"		Próxima Revisión: Nov-09 Nº de Revisión: 1
Fecha	Actividad	Observaciones		Responsable (nombre y firma)
	L <input type="checkbox"/> RT <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>			



		Código: RG-ML-04		Fecha de Emisión: Nov-08
		"Mantenimiento de Equipo: Baño María Cole Pahner"		Próxima Revisión: Nov-09 Nº de Revisión: 1
Fecha	Actividad	Observaciones		Responsable (nombre y firma)
	L <input type="checkbox"/> RT <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>			



		Código: RG-ML-05		Fecha de Emisión: Nov-08
		"Mantenimiento de Equipo: pHmetro Inolab WTW"		Próxima Revisión: Nov-09 Nº de Revisión: 1
Fecha	Actividad	Observaciones		Responsable (nombre y firma)
	L <input type="checkbox"/> RT <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/> C <input type="checkbox"/>			



		Código: RG-ML-06		Fecha de Emisión: Nov-08
		"Mantenimiento de Equipo: Balanza Analítica Adventurer SL"		Próxima Revisión: Nov-09 Nº de Revisión: 1
Fecha	Actividad	Observaciones		Responsable (nombre y firma)
	L <input type="checkbox"/> RT <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/> C <input type="checkbox"/>			

		Código: RG-ML-07		Fecha de Emisión: Nov-08
		"Mantenimiento de Equipo: Microscopio Invertido"		Próxima Revisión: Nov-09 Nº de Revisión: 1
Fecha	Actividad	Observaciones		Responsable (nombre y firma)
	L <input type="checkbox"/> RT <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>			

		Código: RG-ML-08		Fecha de Emisión: Nov-08
		"Mantenimiento de Equipo: Plantilla Electrica Corning"		Próxima Revisión: Nov-09 Nº de Revisión: 1
Fecha	Actividad	Observaciones		Responsable (nombre y firma)
	L <input type="checkbox"/> RT <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>			
		Código: RG-ML-09		Fecha de Emisión: Nov-08
		"Mantenimiento de Equipo: Microondas LG"		Próxima Revisión: Nov-09 Nº de Revisión: 1
Fecha	Actividad	Observaciones		Responsable (nombre y firma)
	L <input type="checkbox"/> RT <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>			
		Código: RG-ML-10		Fecha de Emisión: Nov-08
		"Mantenimiento de Equipo: Refrigeradora 1 LG"		Próxima Revisión: Nov-09 Nº de Revisión: 1
Fecha	Actividad	Observaciones		Responsable (nombre y firma)
	L <input type="checkbox"/> RT <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>			
		Código: RG-ML-11		Fecha de Emisión: Nov-08
		"Mantenimiento de Equipo: Refrigeradora 2 Atlas"		Próxima Revisión: Nov-09 Nº de Revisión: 1
Fecha	Actividad	Observaciones		Responsable (nombre y firma)
	L <input type="checkbox"/> RT <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>			
		Código: RG-ML-12		Fecha de Emisión: Nov-08
		"Mantenimiento de Equipo: Autoclave AE-75-DRY"		Próxima Revisión: Nov-09 Nº de Revisión: 1
Fecha	Actividad	Observaciones		Responsable (nombre y firma)
	L <input type="checkbox"/> RT <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>			
		Código: RG-ML-13		Fecha de Emisión: Nov-08
		"Mantenimiento de Equipo: Estufa Meinert"		Próxima Revisión: Nov-09 Nº de Revisión: 1
Fecha	Actividad	Observaciones		Responsable (nombre y firma)
	L <input type="checkbox"/> RT <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>			
		Código: RG-ML-16		Fecha de Emisión: Nov-08
		"Mantenimiento de Equipo: Refrigerador 3 FisherScientific"		Próxima Revisión: Nov-09 Nº de Revisión: 1
Fecha	Actividad	Observaciones		Responsable (nombre y firma)
	L <input type="checkbox"/> RT <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>			
		Código: RG-ML-14		Fecha de Emisión: Nov-08
		"Mantenimiento de Equipo: Congelador -70°C REVCO"		Próxima Revisión: Nov-09 Nº de Revisión: 1
Fecha	Actividad	Observaciones		Responsable (nombre y firma)
	L <input type="checkbox"/> RT <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>			



		Código: RG-ML-15		Fecha de Emisión: Nov-08
		"Mantenimiento de Equipo: Congelador -20°C FisherScientific"		Próxima Revisión: Nov-09 Nº de Revisión: 1
Fecha	Actividad	Observaciones		Responsable (nombre y firma)
	L <input type="checkbox"/> RT <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>			



		Código: RG-ML-17		Fecha de Emisión: Nov-08
		"Mantenimiento de Equipo: Incubadora CO <sub>2</sub> BarsteadInternational"		Próxima Revisión: Nov-09 Nº de Revisión: 1
Fecha	Actividad	Observaciones		Responsable (nombre y firma)
	L <input type="checkbox"/> RT <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>			



		Código: RG-ML-18		Fecha de Emisión: Nov-08
		"Mantenimiento de Equipo: Cámara Limpia LABCONCO"		Próxima Revisión: Nov-09 Nº de Revisión: 1
Fecha	Actividad	Observaciones		Responsable (nombre y firma)
	L <input type="checkbox"/> RT <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>			

## 2. RG-MON-(X). Registro de Monitoreo - (Número de equipo)



Control T°, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>L

		Código: RG-MON-NL			Emisión: Nov-08
		"Registro de Monitoreo: Tanque de Nitrógeno"			Próxima Revisión: 11-09 Nº de Revisión: 2
Fecha	Hora	Nivel de N <sub>2</sub>	Observaciones	Responsable (nombre y firma)	

		Código: RG-MON-01					Fecha de Emisión: Nov-08
		"Uso de Equipo: Cámara de Flujo Laminar TELSTAR"					Próxima Revisión: Nov-09 Nº de Revisión: 2
Fecha	Tiempo de uso	Caudal de Extracción	Velocidad de Flujo Laminar	T°C	Tiempo Luz UV	Observaciones	Responsable (nombre y firma)

		Código: RG-MON-02					Fecha de Emisión: Nov-08
		"Registro de Monitoreo: Incubadora CO <sub>2</sub> BINDER"					Próxima Revisión: Nov-09 Nº de Revisión: 1
Fecha	T°C	% CO <sub>2</sub>	Aseo	Nivel CO <sub>2</sub> Tanque	Presión Manómetro	Observaciones	Responsable (nombre y firma)
			E <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> L <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/>				

E: esterilización, A: cambio de agua, L: limpieza, T: cambio del tanque de CO<sub>2</sub>

		Código: RG-MON-10				Fecha de Emisión: Nov-08	
		"Registro de Monitoreo: Refrigerador 1 LG"				Próxima Revisión: Nov-09 Nº de Revisión: 1	
Fecha	T° Congelador	T° Refrigerador	Responsable (nombre y firma)	Fecha	T° Congelador	T° Refrigerador	Responsable (nombre y firma)

		Código: RG-MON-11				Fecha de Emisión: Nov-08	
		"Registro de Monitoreo: Refrigerador 2 Atlas"				Próxima Revisión: Nov-09	
						Nº de Revisión: 1	
Fecha	Tº Congelador	Tº Refrigerador	Responsable (nombre y firma)	Fecha	Tº Congelador	Tº Refrigerador	Responsable (nombre y firma)

		Código: RG-MON-14				Fecha de Emisión: Nov-08		
		"Registro de Monitoreo: Congelador -70°C"				Próxima Revisión: Nov-09		
						Nº de Revisión: 1		
Fecha	TºC Congelador	Responsable (nombre y firma)	Fecha	TºC Congelador	Responsable (nombre y firma)	Fecha	TºC Congelador	Responsable (nombre y firma)

		Código: RG-MON-15				Fecha de Emisión: Nov-08		
		"Registro de Monitoreo: Congelador -20°C"				Próxima Revisión: Nov-09		
						Nº de Revisión: 1		
Fecha	TºC Congelador	Responsable (nombre y firma)	Fecha	TºC Congelador	Responsable (nombre y firma)	Fecha	TºC Congelador	Responsable (nombre y firma)

		Código: RG-MON-16				Fecha de Emisión: Nov-08	
		"Registro de Monitoreo: Refrigerador 3 Fisher Scientific"				Próxima Revisión: Nov-09	
						Nº de Revisión: 1	
Fecha	Tº Congelador	Tº Refrigerador	Responsable (nombre y firma)	Fecha	Tº Congelador	Tº Refrigerador	Responsable (nombre y firma)

		Código: RG-MON-18				Fecha de Emisión: Nov-08	
		"Uso de Equipo: Cámara Limpia LABCONCO"				Próxima Revisión: Nov-09	
						Nº de Revisión: 2	
Fecha	Tiempo de uso	Tiempo Luz UV	Observaciones			Usuario (nombre y firma)	

		Código: RG-MON-17				Fecha de Emisión: Nov-08	
		"Registro de Monitoreo: Incubadora CO <sub>2</sub> Barnstead International"				Próxima Revisión: Nov-09	
						Nº de Revisión: 1	
Fecha	TºC	% CO <sub>2</sub>	Areo	Nivel CO <sub>2</sub> Tanque	Presión Manómetro	Observaciones	Responsable (nombre y firma)
			E O A Q L O T O				

E: esterilización, A: cambio de agua, L: limpieza, T: cambio del tanque de CO<sub>2</sub>



### 3. RG-OP-G1. Registro de Operación General Lab.1

#### Uso Diario

		Código: RG-OP-G1								Fecha de Emisión: Nov 2008	
		"Uso Diario de Equipos: Laboratorio Ingeniería de Tejidos 1"								Próxima Revisión: Nov 2009	
										Nº de Revisión: 1	
Uso de Equipo											
FECHA	Cámara Flujo	Centrífuga	pHmetro	Balanza	Microscopio	Plantilla	Baño María	Microondas	Agitador	Bomba Vacío	Usuario



#### 4. RG-OP-G2. Registro de Operación General Lab. 2

Uso Diario



		Código: RG-OP-G2					Fecha de Emisión: Nov-08	
		"Uso Diario de Equipos: Laboratorio Ingeniería de Tejidos 2"					Próxima Revisión: Nov-09 Nº de Revisión: 1	
<b>Uso de Equipo</b>								
FECHA	Cámara Flujo	Autoclave	Plantilla	Estufa	Sellador	Bomba Vacío	Responsable	

#### 5. RG-CU(X). Registro de Cultivos - (Número de equipo) ó (Tipo de tejido)



Uso Diario



		Código: RG-CU-02				Fecha de Emisión: Nov/08	
		"Registro de Ingreso y Salida de Cultivos a la Incubadora CO <sub>2</sub> BINDER"				Próxima Revisión: Nov/09 Nº de Revisión: 1	
Fecha	Código línea celular	Nº y Tipo Frascos	Acción	Cultivo		Responsable (nombre y firma)	
				Q y/o F	Especificar medio		
			E <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> C <input type="checkbox"/> D <input type="checkbox"/> P <input type="checkbox"/>	Q <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>			

E: Entra cultivo, S: Sale cultivo, C: Crioconservación, D: Descarte, P: Pasaje, Q: Queratinocitos, F: Fibroblastos.

		Código: RG-CU-17				Fecha de Emisión: Nov/08	
		"Registro de Ingreso y Salida de Cultivos a la Incubadora CO <sub>2</sub> BarnsteadInternational"				Próxima Revisión: Nov/09 Nº de Revisión: 1	
Fecha	Código línea celular	Nº y Tipo Frascos	Acción	Cultivo		Responsable (nombre y firma)	
				Q y/o F	Especificar medio		
			E <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> C <input type="checkbox"/> D <input type="checkbox"/> P <input type="checkbox"/>	Q <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>			

E: Entra cultivo, S: Sale cultivo, C: Crioconservación, D: Descarte, P: Pasaje, Q: Queratinocitos, F: Fibroblastos.

		Código: RG-CU-F										Fecha de Emisión: Nov/08			
		"Registro de Evolución de Cultivos de Fibroblastos"										Próxima Revisión: Nov/09 Nº de Revisión: 2			
Código del Paciente															
Fecha	Hora	Frascos Iniciales			Frascos Contaminados			Frascos Amplificados			Total de frascos			Observaciones	Responsable (nombre y firma)
		T25	T75	T175	T25	T75	T175	T25	T75	T175	T25	T75	T175		

		Código: RG-CU-Q										Fecha de Emisión: Nov/08			
		"Registro de Evolución de Cultivos de Queratinocitos"										Próxima Revisión: Nov/09 Nº de Revisión: 2			
Código del Paciente															
Fecha	Hora	Frascos Iniciales			Frascos Contaminados			Frascos Amplificados			Total de frascos			Observaciones	Responsable (nombre y firma)
		T25	T75	T175	T25	T75	T175	T25	T75	T175	T25	T75	T175		



6. RG-CA-(X). Registro de Contaminación Ambiental - (Número Laboratorio)

				Código: RG-CONT-01		Fecha de Emisión: Nov-08
				"Control de Contaminación Ambiental del Laboratorio de Ingeniería de Tejidos 1"		Próxima Revisión: Nov-09
						Nº de Revisión: 1
Mes	Medio Cultivo	Ubicación	Tiempo Exposición	Contaminación		Bacterias y/o Levaduras*
				Bacterias y/o Levaduras □ #	Hongos □ #	Hongos*
Fecha	ARE □	Mesa □		Bacterias y/o Levaduras □ #	Hongos □ #	
		Pila □		Bacterias y/o Levaduras □ #	Hongos □ #	
Incubación	ARE □	Cámara Flujo 1 □		Bacterias y/o Levaduras □ #	Hongos □ #	
		Incubadora 2 □		Bacterias y/o Levaduras □ #	Hongos □ #	
Fecha Revisión	ARE □	Centro Lab □		Bacterias y/o Levaduras □ #	Hongos □ #	
		Mesa □		Bacterias y/o Levaduras □ #	Hongos □ #	
	APD □	Pila □		Bacterias y/o Levaduras □ #	Hongos □ #	
		Cámara Flujo 1 □		Bacterias y/o Levaduras □ #	Hongos □ #	
	APD □	Incubadora 2 □		Bacterias y/o Levaduras □ #	Hongos □ #	
		Centro Lab □		Bacterias y/o Levaduras □ #	Hongos □ #	
Responsable (Nombre y Firma):					* Color y/o Morfología	Hoja # _____

				Código: RG-CONT-02		Fecha de Emisión: Nov-08
				"Control de Contaminación Ambiental del Laboratorio de Ingeniería de Tejidos 2"		Próxima Revisión: Nov-09
						Nº de Revisión: 1
Mes	Medio Cultivo	Ubicación	Tiempo Exposición	Contaminación		Bacterias y/o Levaduras*
				Bacterias y/o Levaduras □ #	Hongos □ #	Hongos*
Fecha	ARE □	Mesa □		Bacterias y/o Levaduras □ #	Hongos □ #	
		Pila □		Bacterias y/o Levaduras □ #	Hongos □ #	
Incubación	ARE □	Cámara Flujo 2 □		Bacterias y/o Levaduras □ #	Hongos □ #	
		Cámara Flujo 3 □		Bacterias y/o Levaduras □ #	Hongos □ #	
Fecha Revisión	ARE □	Incubadora 1 □		Bacterias y/o Levaduras □ #	Hongos □ #	
		Mesa □		Bacterias y/o Levaduras □ #	Hongos □ #	
	APD □	Pila □		Bacterias y/o Levaduras □ #	Hongos □ #	
		Cámara Flujo 2 □		Bacterias y/o Levaduras □ #	Hongos □ #	
	APD □	Cámara Flujo 3 □		Bacterias y/o Levaduras □ #	Hongos □ #	
		Incubadora 1 □		Bacterias y/o Levaduras □ #	Hongos □ #	
Responsable (Nombre y Firma):					* Color y/o Morfología	Hoja # _____

## ANEXO 4 INVENTARIO Y CATÁLOGO DE REACTIVOS

### 1. Portada y contenidos del catálogo de reactivos.



**Reactivos**

Reactivos A  
En Refrigerador 1 y Congelador 1 (Laboratorio 1)

Reactivos B  
En Refrigerador 2 y Congelador 2 (Laboratorio 1)

Reactivos C  
En gaveta a temperatura ambiente "Reactivos C" (Laboratorio 1)

Reactivos D  
En congelador -20°C (Laboratorio 2)

Reactivos E  
En congelador -70°C (Laboratorio 2)

Reactivos F  
En Refrigerador 3 (Laboratorio 2)

**Tabla de contenidos**

Objetivo	4
Alcance	4
Responsables	4
Instrucciones de Uso	4
Non acid data	5
Reactivos A	5
Reactivos B	18
Reactivos C	26
Reactivos D	46
Reactivos E	58
Reactivos F	64

### 2. Instrucciones del catálogo de reactivos.

**Catálogo de Reactivos**

**Objetivo**  
Proveer un sistema de fácil acceso, identificación y búsqueda de los reactivos en los laboratorios de cultivo de tejidos epidérmicos del TECR.

**Alcance**  
Este documento rige para los laboratorios de Cultivo de Tejidos Epidérmicos 1 y 2 del Instituto Tecnológico de Costa Rica, del Centro de Investigación en Biotecnología.

**Responsables**  
Es responsabilidad del coordinador del laboratorio velar porque este manual operativo sea aplicado de la forma correcta y que esté al alcance de todas las personas que trabajen en el laboratorio.

**Instrucciones de Uso**

1. Buscar el reactivo a usar por Nombre Común o por Nombre Químico en el respectivo índice.
2. El catálogo indica la ubicación del reactivo en el laboratorio, así como el código asignado al reactivo y con el cual lo encontrará identificado. Además, el catálogo muestra la información de peligrosidad y manejo que debe considerarse para cada reactivo.
3. Revertir avisar al encargado si se agotan existencias de alguno de los reactivos anotados en este catálogo.

**Nomenclatura**

**Etiqueta de Información**  
Azul (H): riesgo para la salud  
Rojo (F): inflamabilidad  
Amarillo (R): reactividad  
PE (Protective Equipment): equipo de protección

CHEMICAL NAME	PROTECTIVE EQUIPMENT INDEX	
H	A	G
F	B	H
R	C	I
PE	D	J
	E	K
	F	X

A: anteojos de seguridad; B: anteojos de seguridad, guantes; C: anteojos de seguridad, guantes, delantal plástico; D: guantes, delantal plástico; E: anteojos de seguridad, guantes, mascarilla; F: anteojos de seguridad, guantes, delantal plástico, mascarilla; G: anteojos de seguridad, guantes, mascarilla de gases; H: anteojos de seguridad, guantes, delantal plástico, mascarilla de gases; I: anteojos de seguridad, guantes, mascarilla de gases; J: anteojos de seguridad, guantes, delantal plástico, mascarilla de gases; K: mascarilla presurizada, guantes, traje de bioseguridad, botas; X: pregunte a su supervisor acerca de las instrucciones de manejo especiales.

**Etiqueta de numeración (ver tapa de reactivos)**  
 Blanco: Reactivo de uso común. Ver etiqueta de información.  
 Naranja: Reactivo peligroso. Ver etiqueta de información.

C1
C2

### 3. Muestra de algunos reactivos en el catálogo de reactivos.

Laboratorio de Cultivo de Tejidos Epidérmicos

**A1** Albumina de suero bovino 22%  
Frascos 10ml

Corediagnostics  
Lote: 109603  
N°Cat:  
Vencimiento: Mar 2006

Existencias:

**A1** Albumina de suero bovino 22%  
Frascos 10ml

Corediagnostics  
Lote: 109605  
N°Cat:  
Vencimiento: Mar 2006

Existencias:

**A1** Albumina de suero bovino 22%  
Frascos 10ml

Corediagnostics  
Lote: 109602  
N°Cat:  
Vencimiento: Mar 2006

Existencias:

**A2** Amnio Max-C100 con L-Glu  
Botellas 90ml

GIBCO  
Lote: 1257404  
N°Cat: 17001-082  
Vencimiento:

Existencias:

Página 6

Laboratorio de Cultivo de Tejidos Epidérmicos

**A3** apo-Transferina siderofilina pobre en hierro  
Frasco 1mg

SIGMA  
Lote: 83H9305  
N°Cat: T-0523  
Vencimiento:

Existencias:

**A3** apo-Transferina siderofilina pobre en hierro  
Frasco 10g

SIGMA  
Lote: 114K8927  
N°Cat: T-5391  
Vencimiento:

Existencias:

**A4** Citrate-dextrose solution (ACD)  
Botella 50ml

SIGMA  
Lote: 016K8904  
N°Cat: C 3821  
Vencimiento:

Existencias:

**A5** Colágeno Tipo I de cola de rata  
Frascos 10mg y 25mg

SIGMA  
Lote: 095K3792  
N°Cat: C 7661  
Vencimiento:

Existencias:  
Frasco 10mg:   
Frasco 25mg:

Página 7

### 4. Muestra de algunos reactivos en el inventario de reactivos (continúa abajo).

"REACTIVOS A" en Congelador y Refrigerador A					
Código	REACTIVOS	Fórmula Química	Existencias	Cantidad	Lote
A1	Albumina de suero bovino 22%		5	10 ml	109603
A1	Albumina de suero bovino 22%		1	10ml	109605
A1	Albumina de suero bovino 22%		3	10ml	109602
A2	Amnio Max- C 100 con L-Glu		1	90 ml	1257404
A3	apo-Transferina siderofilina pobre en hierro		1	1 mg	83H9305
A3	apo-Transferina siderofilina pobre en hierro		13	10 g	114K8927
A4	Citrate-dextrose solution (ACD)		1	50 ml	016K8904
A5	Colágeno Tipo I de cola de rata		2	10 y 25 mg	095K3792
A6	Dispasa II de <i>B. polymyxa</i>		5	0,8 u/mg	1363970
A7	F-12 (Ham) Nutrient mixture en polvo con L-glutamina y sin NaHCO <sub>3</sub>		10	10,63 g	345414
A8	Gliconato de Calcio al 10%		1	10 ml	1148-05
A9	HyQ Tase cell detachment solution en DPBS con EDTA		1	100 ml	APH2172
A10	MCDB 153 Medium + L-Glutamina y 28 mM HEPES + elementos traza		2	17,6 g	123K8321
A10	MCDB 153 Medium + L-Glutamina y 28 mM HEPES + elementos traza		8	17,6 g	20K8303
A10	MCDB 153 Medium + L-Glutamina y 28 mM HEPES + elementos traza		2	17,6 g	054K832
A10	MCDB 153 Medium + L-Glutamina y 28 mM HEPES + elementos traza		7	17,6 g	125K830
A10	MCDB 153 Medium + L-Glutamina y 28 mM HEPES + elementos traza		5	17,6 g	045K831
A11	MTT		1	1 g	51K531
A12	Piruvato de sodio > = 99%		1	5 g	076K066
A13	RPMI adicional 20 g NaHCO <sub>3</sub> /L + L-glu - NaHCO <sub>3</sub>		1	104,3 g	7805X
A14	Toxina colérica		1	1 mg	P917a
A14	Toxina colérica de <i>V. cholerae</i> liofilizada		1		077K414
A15	Trombina bovina		60	5 ml	P00352
A15	Trombina bovina liofilizado		4	1 ml	537825
A16	Tromboplastina - DS con Tris, NaCl, Na <sub>2</sub> EDTA, Na <sub>2</sub> S		1	2 ml	353-507
A17	Tripsina		1	100 g	154609
A18	DMEM +GLUCOSA- PIRUVATO-NaHCO <sub>3</sub>		6	10L/133.8g	284977
A19	Acrlamida en solución		1	500ml	210-0061

REACTIVOS A / REACTIVOS B / REACTIVOS C / REACTIVOS D / REACTIVOS E / Práctica Stephanie

## 5. Muestra de algunos reactivos en el inventario de reactivos (continuación).

Lote	Marc	N° Catálogo	Fecha Vencimiento	Condiciones Almacenamiento	Observaciones	Info. Riesgo
19983	Corediagnostic		09022006	2-8°C		
19985	Corediagnostic		09022006			
19982	Corediagnostic		09022006			
027464	GIECO	T001062		2-8°C, Oscuridad	Sensible a la luz	
0348085	SIGMA	T-0523		2-8°C		
1860827	SIGMA	T-5331		2-8°C		
0690994	SIGMA	C-0621		2-8°C		
89503782	SIGMA	C-7961		2-8°C		
03623788	ROCHE	94 942 078 001	09052009	2-8°C	No estéril, Liofilizado	Infecto opcs, sist. Resp. Y piel
34544	GIECO	2796-026	01082006	2-8°C		
746-05	Alvarez	28142-0479	01022008	2-8°C	solución inyectable	
APH21727	HjClone	SV30030.01	09082005	Mantener congelado	Congelador I	
02000208	SIGMA	M-7493	01022006	2-8°C, Desecador	Envuelto con parafilm en bolsa individual sellada	
20800001	SIGMA	M-7493	09022003	2-8°C, Desecador	Envuelto con parafilm en bolsa individual sellada	
05400020	SIGMA	M-7493	09052007	2-8°C, Desecador	Envuelto con parafilm en bolsa individual sellada	
02900007	SIGMA	M-7493	01022006	2-8°C, Desecador	Envuelto con parafilm en bolsa individual sellada	
04900001	SIGMA	M-7493	09042008	2-8°C, Desecador	Envuelto con parafilm en bolsa individual sellada	
580002	SIGMA	M-2328		2-8°C, Desecador, Oscuridad	Sensible a la luz, Envuelto en papel aluminio, Sellado en bolsa individual	
07800687	SIGMA	P-4562		2-8°C		
7905c	GIECO	5886-025	09062009	2-8°C		
P917a	BIOMOL	6-15		4°C	Liofilizado	Dañino
0770486	SIGMA	C-6052		2-8°C	Liofilizado	Dañino
P60352	Biopool	5885	09052009	2-8°C		
527025	DadeBehring	04223-25	09072008	2-8°C	Liofilizado	
050-5070	Fisher-Diagnostics	200303	09082008	2-8°C		
154689	GIECO	2750-088	01022006	02, Ago		Infecto opcs, sist resp y piel. Puede s
294977c	GIECO	5286-029	01022006	2-8°C		
230-09066	BIO-RAD	#03-076		2-8°C		Noctivo, muy tóxi

## ANEXO 5 ETIQUETAS DE REACTIVOS

© 1992, Lab Safety Supply Inc. Reorder No. 36655

CHEMICAL NAME	PROTECTIVE EQUIPMENT INDEX	
○ H	A	G
○ F	B	H
○ R	C	I
○ PE	D	J
DATE	E	K
	F	X

**H:** peligroso para la salud, **F:** riesgo de inflamabilidad, **R:** riesgo químico, **PE:** equipo de protección requerido según código a la derecha.

## ANEXO 6 PROCEDIMIENTOS HOSPITALARIOS

### 1. PROCEDIMIENTOS AL NIÑO QUEMADO HOSPITAL NACIONAL DE NIÑOS, COSTA RICA

Las quemaduras en la población infantil constituyen un serio problema. Aparte del riesgo de morir que tiene el niño quemado, que es mayor que el del adulto<sup>7</sup>, estas lesiones pueden dejar severas secuelas invalidantes, funcionales y estéticas que causarán desajustes psíquicos, sociales y laborales serios durante toda la vida. Desde el punto de vista de salud pública, el tratamiento de estas lesiones consume una gran cantidad de recursos durante tiempos que suelen ser prolongados, como se observa con la prevención y manejo de las infecciones luego de la quemadura, así como también en la preparación de la zona injuriada para el injerto, y finalmente, en la cirugía reparadora de las secuelas retráctiles. Pero tal vez lo más importante, es que se trata de un problema en el cual la prevención juega un rol fundamental.

Dra. Alemany Mayra, Especialista 1ro y 2do grado Cirugía Plástica - Quemados.  
Lic. Hernández Amarilis, Coordinadora del Servicio de Quemado del HNN.  
Dr. Sibaja Pablo, Especialista Cirugía Pediátrica.  
Dr. Siri Carlos, Especialista en Cirugía Pediátrica.  
Dr. Steele Roberto, Especialista en Cirugía Plástica – Quemado.

#### ESTADÍSTICAS

La primera causa de muerte en la niñez lo constituye el trauma. En EEUU las quemaduras constituyen la segunda causa más común de muerte accidental en niños bajo los 5 años. El problema más grave, es que, por cada 2.500 niños que mueren por quemaduras, 10.000 sufren incapacidad permanente<sup>2</sup>. En Chile<sup>1</sup> las quemaduras constituyen la primera causa de muerte entre los niños de 1 a 4 años (casi el 30% del total de las muertes por lesiones y violencias en este grupo etario). La escaldadura es el mecanismo más frecuente de injuria. Elementos relacionados con la preparación y consumo de alimentos causan aproximadamente la mitad de las escaldaduras. Las quemaduras eléctricas de la boca también son frecuentes y ocurren cuando los niños comienzan a caminar. Los preescolares se queman con fuego, producto de fósforos y encendedores. La enorme mayoría de estas quemaduras ocurren en el hogar y son resultado de accidentes previsibles.

En nuestro país la morbilidad por quemaduras se mantiene con pocos cambios en los últimos cinco años pero la mortalidad es baja, solo en quemados con quemaduras de vías respiratorias y índices de gravedad por encima de 70.

#### CONCEPTO

Las quemaduras son lesiones traumáticas que provocan una necrosis hística de variable extensión y profundidad causadas por diferentes agentes físicos químicos o biológicos; los cuales causan alteraciones histico humorales capaces de conducir a la muerte o dejar secuelas invalidantes o deformantes al paciente que la sufre.

#### ETIOLOGÍA

##### **Agentes físicos**

**Térmicos:** Son agentes capaces de producir calor por diversas formas: Flash, Fuego directo, Líquidos calientes o inflamables, Metales calientes, Vapor de agua

**Eléctricos:** son los que provocan lesiones al interponer una parte del cuerpo humano entre sus dos conductores con diferentes potenciales. Estas lesiones son por lo general muy profundas pero poco extensas y pueden producir graves alteraciones en el organismo, principalmente paro cardiorrespiratorios.

**Irradiación:** los que producen radiaciones penetrantes: Luz solar, Rayos ultravioleta, Rayos x, Arma termonucleares, Rayos atómicos, etc

Fricción: algunos agentes como el pavimento o el apoyo prolongado y mantenido producen pérdida de tegumentos y úlceras por decúbito, las cuales se comportan en su evolución y tratamiento igual que una quemadura.

Frío: provoca lesiones por congelación que evolucionan como si fueran verdaderas quemaduras.

### Agentes químicos

Ácidos: producen deshidratación celular y precipitan las proteínas formando proteínatos ácidos, entre ellos encontramos: ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido fénico, ácido tricloroacético, ácido nítrico, etc

Alcalis: actúan sobre la piel saponificando las grasas, deshidratando las células y formando proteínatos alcalinos: Hidróxido de sodio, Hidróxido de potasio, Hidróxido de calcio, Amoniaco, etc

Medicamentos: Algunos medicamentos sobre todo los hipertónicos, solo se pueden utilizar por vía endovenosa y en ocasiones en venas profundas; al extravasarse producen necrosis de los tejidos con lesiones semejantes a las quemaduras: glucosa hipertónica, citostáticos, levarterenol, thiopental, etc

### Agentes especiales

Principalmente se utilizan en la guerra moderna algunos agentes capaces de producir elevadas temperaturas en su combustión, así como también liberar sustancias muy tóxicas: Napalm, Gas mostaza, Magnesio, Fósforo blanco, etc

### Agentes biológicos

Algunas sustancias procedentes de animales o vegetales al ponerse en contacto con la piel producen lesiones semejantes a las quemaduras: Insectos, Medusas, Moluscos, Peces eléctricos, Batracios, Ortiga.

### EXTENSION

La determinación de la superficie corporal quemada debe ser determinada en el niño, con mucha exactitud, ya que expresa el pronóstico vital de la lesión.

De la extensión depende en gran parte la posibilidad de shock del paciente. Si se sobrestima, se corre el riesgo de sobrehidratación. Por otra parte, si se subestima, el niño se deshidratará. Todas las fórmulas de reposición de líquidos en el quemado están basadas en la extensión.

En el adulto se usa la tabla "de los nueve" o de Pulasky-Tennison<sup>6</sup>. Los segmentos corporales tienen valores iguales a 9 o múltiplos de esta cifra. Así la cabeza y los miembros superiores representan cada uno 9%, la cara anterior al tronco, la cara posterior y cada miembro inferior 18%, los genitales 1%.

Esta regla no puede ser aplicada a los niños ya que la superficie de los segmentos corporales varía de acuerdo con su edad. Así el RN tiene muy desarrollada la cabeza (18%) y reducidos los miembros inferiores (14%). Esta diferencia irá cambiando con el crecimiento.

En 1944, Lund y Browder<sup>6</sup> determinaron los valores de los segmentos corporales en cada edad. Esto se observa

TABLA DE LUND Y BROWDER PARA DETERMINAR LA EXTENSION DE LAS QUEMADURAS EN NIÑOS						
AREA	EDAD EN AÑOS					TOTAL
	0-1	1-4	5-9	10-14	15	
Cabeza	19	17	13	10	9	
Cuello	2	2	2	2	2	
Tronco anterior	13	17	13	13	13	
Tronco posterior	13	13	13	13	13	
Glúteo derecho	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	
Glúteo izquierdo	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	
Genitales	1	1	1	1	1	
Brazo derecho	4	4	4	4	4	
Brazo izquierdo	4	4	4	4	4	
Antebrazo derecho	3	3	3	3	3	
Antebrazo izquierdo	3	3	3	3	3	

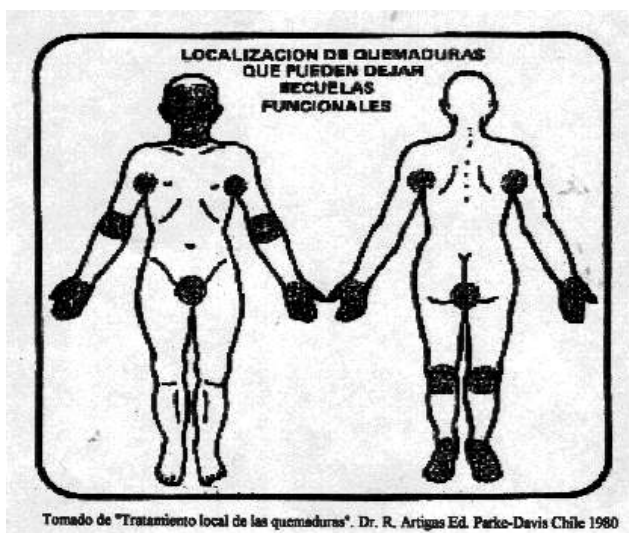
Mano derecha	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Mano izquierda	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Muslo derecho	5.5	6.5	8.5	8.5	9
Muslo izquierdo	5.5	6.5	8.5	8.5	9
Pierna derecha	5	5	5.5	6	6.5
Pierna izquierda	5	5	5.5	6	6.5
Pie derecho	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Pie izquierdo	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5

Un método útil y práctico en los pequeños, consiste en aplicar la regla de la palma de la mano para medir la extensión de la superficie quemada. Para estos efectos se considera que la superficie de la palma equivale a un porcentaje igual al 1%.

### LOCALIZACIÓN

La localización de una quemadura será responsable del pronóstico. Así una lesión profunda que afecte pliegues de flexión, generará retracción y secuelas funcionales con toda probabilidad.

Existen "zonas especiales" que son potenciales productoras de secuelas: todos los pliegues de flexión, cara, manos y pies. En la figura siguiente se puede observar la localización de quemaduras que pueden dejar secuelas funcionales o estéticas. Como se puede observar, quemaduras profundas (B) localizadas en zonas específicas podrían no tener gravedad del punto de vista vital, pero sí, desde el punto de vista funcional o estético (quemaduras de cara o de mano).



### EDAD

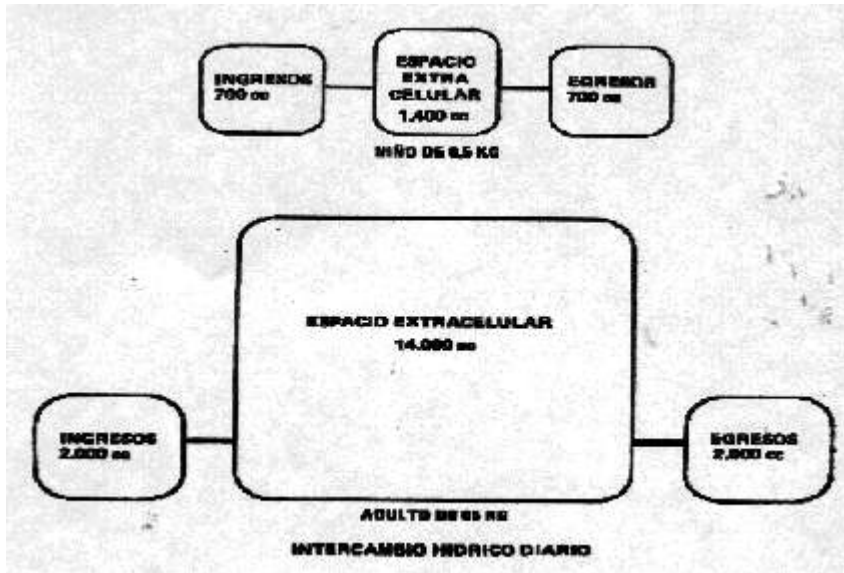
"Los niños no son adultos pequeños".

El niño tiene un desarrollo que no es vertical. Sus sistemas van creciendo cumpliendo etapas que no suelen ser coincidentes a las de un adulto menudo. De ahí que presenten respuestas diferentes ante una misma agresión.

### DIFERENCIAS ADULTO-NIÑO

Labilidad hídrica. Los niños tienen muy pocas reservas de agua. El recambio diario de líquidos en un lactante representa la mitad de su líquido extracelular. El adulto solo moviliza la séptima parte en 24 horas. Por eso el niño cae fácilmente en shock hipovolémico. Al mismo tiempo es más fácil su recuperación.





La piel infantil es más fina, por lo que un mismo agente produce en el niño quemaduras más profundas que en el adulto. El tejido subcutáneo infantil es más laxo y se edematiza con gran facilidad.

Los segmentos corporales tienen diferencias fundamentales, como ya se vio anteriormente. Así la cabeza de un lactante menor representa un 18% de su superficie versus un 9% en el adulto. Esto es compensado con la disminución de superficie de los miembros inferiores, en especial los muslos que es la zona dadora de injertos por excelencia, por tanto el niño tiene menos superficie disponible para injertos.

Existen diferencias también en la función renal y en los sistemas cardíaco y respiratorio.



### PROFUNDIDAD

Existen numerosas clasificaciones respecto a la profundidad de la quemadura, unas tendientes a separarlas en distintos grados y otras en superficiales y profundas de acuerdo a la epitelización espontánea o no; nosotros utilizamos una clasificación basada en la histología de la piel, a la anatomía y a la clínica.

### Clasificación histológica

Ésta es la principal de las clasificaciones utilizadas para las quemaduras. Se basa en la histología y fisiología de la piel y sus capas; especialmente, en su capacidad de regenerarse de forma espontánea y de actuar como barrera cutánea. Así, según la capa alcanzada por la lesión, las quemaduras se clasificaban en:

- Primer grado (epidérmica): epidermis
- Segundo grado (dérmica): epidermis y dermis
- segundo grado superficial: epidermis y dermis papilar
- segundo grado profundo: epidermis y dermis reticular
- Tercer grado (subdérmica) : hipodermis

Clásicamente se habla también de quemaduras de cuarto grado para referirse a aquéllas que afectan al tejido subcutáneo, músculo, fascia, periostio o hueso.

La evaluación de la profundidad de las quemaduras es, con frecuencia, difícil en un primer momento. La profundidad de la quemadura determina la evolución clínica que seguirá su proceso, su determinación es fácil, sobre todo en las primeras horas. El Dr. Fortunato Benain distingue tres tipos de quemaduras que no difieren de la clasificación utilizada por nosotros pero si ayuda en el pronóstico en tipo A o superficial, B o profunda y tipo AB o intermedio. La siguiente tabla resume las características de los distintos tipos de quemaduras:

	Quemaduras de primer grado Epidérmicas	Segundo grado Dérmica superficial TIPO A	Segundo grado Dérmica profunda TIPO AB	Quemaduras de tercer grado TIPO B
Causa	-Sol -Fogonazo menor	-Líquidos calientes -Fogonazos o llamas -Exposición breve a sustancias químicas diluidas	-Líquidos calientes -Fogonazos o llamas -Exposición prolongada a sustancias químicas diluidas	-Llama -Escaldadura por inmersión -Electricidad de alto voltaje -Exposición a sustancias químicas concentradas -Objetos calientes
Color	Rosado	Rosado o rojo brillante	Rojo oscuro o blanco amarillento moteado	-Blanco perlado o carbonizado -Transparente o como parche
Superficie	Seca o pequeñas vesículas	-Tamaño variable; ampollas grandes -Exudado abundante	-Ampollas menores, a veces rotas -Ligeramente húmeda	-Seca con epidermis no viable adherente -Vasos trombosados
Sensación	Dolorosa	Dolorosa	-Disminución de la sensación al pinchazo - Sensación de presión profunda intacta	-Anestesia - Sensación de presión profunda
Textura	Suave, con edema mínimo y posterior exfoliación superficial	Engrosada por edema, pero flexible	Edema moderado con menor elasticidad	No elástica y correosa
Cicatrización	2-3 días	5-21 días	>3 semanas	Ninguna; requiere injertos

Es importante destacar que la valoración de las quemaduras en niños pequeños -especialmente en los menores de cuatro años- difiere de forma notable respecto a la de los adultos. Así, las lesiones de apariencia superficial son en los niños más profundas. Al ingreso, las quemaduras de tercer grado tienen en ellos color rojo intenso (por lo que podrían parecer de segundo grado) y casi nunca se aprecian las típicas lesiones blancas o en pergamino.

#### FISIOPATOLOGIA DE LA QUEMADURA

La lesión por quemadura rompe la homeostasis del organismo más que ningún otro tipo de traumatismo, afectando prácticamente a todos los órganos de la economía. Por ello, para su correcto tratamiento deben comprenderse bien los mecanismos que se desencadenan y de esa forma poder actuar en consecuencia.

### **Alteraciones hemodinámicas**

Una quemadura cutánea se manifiesta, desde el punto de vista anatómico-patológico, como una necrosis de coagulación, con trombosis microvascular en las áreas más profundas del daño. El tejido vecino suele presentar, además, zonas de éxtasis e hiperemia, tal como se aprecia en la figura 1. Estas áreas de necrosis incompleta reciben el riego de una microcirculación dañada y puede evitarse en ellas la progresión del daño por medio de una reanimación adecuada.

La necrosis por quemadura da lugar a una pérdida de la integridad capilar, produciéndose la extravasación de líquido desde el compartimento intravascular hacia el intersticio, con la consiguiente formación de edema. Pero el paso masivo de líquido del compartimento intravascular al intersticial se debe también a otros factores:

Alteración de la integridad de la microcirculación. Además del daño físico directo por efecto del calor, la microcirculación se ve afectada por el efecto de diversos mediadores de la inflamación (prostaglandinas, tromboxano, kininas, serotonina, catecolaminas, histamina, leucotrienos) que se activan o generan en el tejido lesionado. Estos mediadores contribuyen a determinar la gravedad y evolución de la lesión local, así como los efectos que produce a distancia. En la figura 2 se resume la acción de los principales mediadores que actúan en la quemadura. Se han ensayado tratamientos con antagonistas de algunos de estos mediadores (como el ibuprofeno, anti-H1, anti-H2...), obteniéndose respuestas parcialmente correctoras del edema postquemadura. Con todo, los beneficios no están lo suficientemente demostrados.

Por lo general, la formación de edema en una quemadura pequeña alcanza su máximo nivel entre las 8 y 12 horas posteriores a la lesión. En cambio, en el caso de quemaduras grandes esto ocurre más tarde, entre las 18 y 24 horas, porque la hipovolemia sistémica retrasa la extravasación de líquido.

Esta pérdida de la integridad microvascular conduce no sólo a la extravasación de líquido desde el plasma hacia el intersticio, sino también de proteínas. De este modo, la composición del líquido acumulado en el intersticio se asemeja estrechamente a la del plasma en su contenido de proteínas y electrolitos. Las pérdidas proteicas son proporcionales al tamaño de la lesión. Además, también se pierde líquido -sin proteínas- hacia tejidos sanos lejanos a la lesión, aunque a un ritmo más lento y en menor volumen. Este hecho se debe a la hipoproteinemia secundaria -que rompe el equilibrio de presión osmótica a ambos lados de la membrana capilar, según la ley de Starling-. Este efecto es, a su vez, responsable de la formación de edema pulmonar, aunque no suele tener repercusión clínica en ausencia de inhalación y con una reanimación adecuada. En general, la formación de edema en los tejidos, ya sean sanos o quemados, se acentúa considerablemente con la reanimación con líquidos, si bien, como veremos más adelante, varía según la solución utilizada.

Alteración de la membrana celular. La presencia de factores circulantes, como los ácidos grasos libres liberados después de la lesión, y la disminución de la ATPasa de la membrana -debida a la pérdida de volumen intravascular y consecuente isquemia tisular- provocan una alteración en el potencial de membrana de la célula y la hinchazón de la célula debida a la entrada de sodio y de agua desde el espacio extracelular. Este fenómeno es especialmente evidente en el músculo y dura de 24 a 36 horas.

Aumento de presión osmótica en el tejido quemado. El aumento de presión osmótica en el tejido quemado parece deberse a una gran extravasación de sodio desde el compartimento plasmático, que genera hiponatremia. De ahí la importancia del aporte de grandes concentraciones de sodio en la reanimación.

Estas tres alteraciones provocan una inestabilidad hemodinámica -por reducción notable y precoz del volumen plasmático y un aumento en la resistencia vascular periférica- y un gasto cardíaco disminuido -al parecer más por la hipovolemia que a causa de un factor depresor del miocardio generado tal vez por la quemadura. Este factor sí parece ser el responsable de la persistencia de un gasto cardíaco reducido tras la normalización de la tensión arterial (T.A.) y la diuresis.

Aunque la T.A. se mantiene prácticamente dentro de los niveles normales al inicio de la lesión, la contracción continua del volumen intravascular, muy rápida y masiva en quemados con más del 20-25% de superficie corporal quemada -SCQ-, origina hipotensión, disminución del gasto cardíaco, disminución del riego periférico y acidosis metabólica a medida que se establece el shock por quemadura.

Pasadas las primeras 24 horas se normaliza la permeabilidad al paso de proteínas, por lo que los coloides administrados en este periodo permanecerán normalmente en la circulación.

### **Alteraciones metabólicas**

Tras la quemadura, el organismo responde con una serie de alteraciones hormonales que comienzan con un aumento de las catecolaminas e incluyen el descenso de la insulina y el aumento del glucagón, la ACTH, el cortisol, la hormona del crecimiento y los mediadores de la inflamación de los que hablamos en el apartado 2.1. Las consecuencias metabólicas de todo ello se resumen en:

aumento importante del gasto metabólico,

aumento en los requerimientos nutricionales. Se produce la movilización de las reservas de glucosa y aumenta la neoglucogénesis a partir de las proteínas y las grasas.

Con el objetivo de disminuir el hipermetabolismo y ayudar a preservar la integridad de la mucosa intestinal, reduciendo de este modo la incidencia de infecciones<sup>5</sup>, se ha recomendado el inicio precoz de la nutrición enteral en el paciente quemado. Ello favorece igualmente una protección frente a las úlceras de estrés<sup>20</sup>.

La glucosa es el principal nutriente de los tejidos quemados y de las células encargadas de la cicatrización. Pese a incrementarse súbitamente sus niveles plásmaticos tras la lesión, el aumento de la resistencia a la insulina hace que su aporte vaya preferentemente a los tejidos periféricos.

**Alteraciones respiratorias**

La insuficiencia respiratoria es la causa más frecuente de muerte durante los primeros días posteriores a la quemadura. La cuarta parte de los quemados hospitalizados desarrolla alguna complicación respiratoria y de ellos casi el 50% fallece por esta causa.

Se pueden afectar todos los niveles del tracto respiratorio:

vías aéreas superiores (laringe): por acción directa del calor e irritantes químicos producidos en la combustión,

vías aéreas inferiores (traquea y bronquios): por el contenido gaseoso y las partículas del aire inspirado, lo que provoca una broncoconstricción generalizada, al parecer medida por el tromboxano A,

parénquima pulmonar en lesiones con inhalación de humo: debido a sustancias tóxicas y reacción a distancia del calor y a mediadores de la inflamación. La distensibilidad pulmonar disminuye en las primeras 24 horas, apareciendo posteriormente un cambio en la actividad del surfactante (el mismo que ocurre en el Síndrome de Distres Respiratorio ). También se altera el cociente ventilación/perfusión;

parénquima pulmonar sin inhalación de humo: aparece un edema pulmonar, causado por el efecto de mediadores de la inflamación que, aunque no suele provocar síntomas, predispone a la infección pulmonar.

### **Alteraciones renales**

La causa principal de insuficiencia renal aguda en el paciente quemado es la hipoperfusión renal. La resucitación con líquidos sólo normaliza el flujo sanguíneo renal tras el restablecimiento del riego al resto de órganos. Por ello, la diuresis es el índice accesible más seguro para vigilar la reanimación, si bien no es un reflejo exacto del flujo renal total. La insuficiencia renal en el quemado puede aparecer de dos formas<sup>6</sup>:

durante las primeras horas o días: suele ser de tipo prerrenal., por déficit de flujo. No suele aparecer si se realiza una reanimación adecuada y precoz;

a partir de la segunda semana: suele ser de tipo renal y debida generalmente a fármacos nefrotóxicos o a sepsis.

A pesar de la hemodiálisis y de las nuevas técnicas de depuración extrarrenal– como la HAVC o hemofiltración arteriovenosa continua y sus variantes– , la mortalidad asociada a la insuficiencia renal aguda en pacientes quemados persiste en torno al 80%.

### **Alteraciones hematológicas**

La quemadura afecta a las tres series:

Serie roja: hemólisis intravascular (por efecto directo del calor), cuya intensidad depende de la extensión y gravedad de la lesión (generalmente afecta a un 9% de eritrocitos, pero puede alcanzar hasta el 40%); aumento del hematocrito, sobre todo en las primeras 24 horas (momento en que puede alcanzar el 70%), sin que este aumento de viscosidad parezca asociarse a una mayor incidencia de trombosis. Los dos efectos anteriores (contrapuestos entre sí) hacen que la cantidad de hematíes se conserve proporcionalmente en la sangre.

Serie blanca: leucocitosis con neutrofilia, como corresponde a una respuesta inflamatoria ante una agresión.

Plaquetas: trombocitopenia en los primeros días, por secuestro en la zona quemada; trombocitosis, pasada una semana (por sobreestimulación medular).

### **Alteraciones inmunológicas**

A pesar de todos los esfuerzos empleados en la lucha contra la infección, ésta sigue siendo la primera causa de muerte pasados los primeros días post-quemadura.

Las causas se resumen en : alteración de las barreras mecánicas, tanto la piel, como las mucosas (respiratoria e intestinal); pérdida de proteínas, incluyendo aquellas necesarias para la función inmunológica, tanto por alteración de la barrera endotelial, como por déficit de síntesis; alteración de los sistemas de defensa humoral y celular.

### **PRONOSTICO DE VIDA DEL NIÑO QUEMADO:**

El resultado de una quemadura es muy variable. Una lesión sin importancia vital puede ser muy grave como daño estético o funcional.

Existen entonces diversas gravedades:

Gravedad Funcional. Depende de la localización y la profundidad. Ejemplo quemadura B en un párpado.

Gravedad Estética. También dependiente de la localización y profundidad. Ej. Cicatrices hipertróficas en la cara.

Gravedad Psíquica. Es difícil evaluar el daño psíquico que sufre el niño quemado. Las reacciones durante el tratamiento o las secuelas como consecuencia de este, son absolutamente personales. Todo esto en el contexto de una personalidad en formación y muy a menudo con el agravante del sentimiento de culpa de los padres, con la tendencia a la sobreprotección del niño luego del accidente.

Gravedad Vital. La gravedad vital depende del índice de gravedad del pronóstico de vida, de las patologías asociadas y de las complicaciones.

La quemadura es una lesión bidimensional donde tenemos que tener en cuenta dos factores: extensión y profundidad. Por lo que ha sido una preocupación constante de los distintos autores el poder realizar un pronóstico acertado con respecto a la evolución de un paciente quemado, nosotros aplicamos el pronóstico de vida basado en la clasificación anatómico-clínica, la del dr Fortunato Benain un estudio de diez años en Cuba, estudio realizado en el Hospital Nacional de niños en Costa Rica 1998-2002, Colombia y otros países, no se incluyó en nuestra clasificación la edad por no tener ningún valor numérico en las edades extremas de la vida.

Teniendo en cuenta un dato numérico que le da el valor de la unidad a las quemaduras hipodérmicas o B, la mitad en gravedad ( 0.50 ) a las quemaduras dérmicas profundas o ( AB ) y un valor de la tercera parte de gravedad de una quemadura de espesor total ( 0.34 ) a las lesiones dérmicas superficiales o ( A ).

Se multiplica el porcentaje de extensión de las quemaduras por la constante de acuerdo a su profundidad y la suma total nos da el índice del paciente quemado. Clasificándola en quemaduras graves, moderadas o leves. Los niños con quemaduras moderadas y leves no deben fallecer excepto por otras patologías asociadas. Los pacientes graves con un índice mayor de 40 tienen un 25% de fallecer y los pacientes con índice mayor de 65 tienen más de un 90% de posibilidades de fallecer.

### **PRONOSTICO DE VIDA DEL NIÑO QUEMADO EN COSTA RICA**

NIVEL DE QUEMADURA	DESDE	HASTA
GRAVE	10	->
MODERADO	2	9.99
LEVE	0.01	1.99

## SEVERIDAD DE LA QUEMADURA

CRITERIOS DE SEVERIDAD DE LAS QUEMADURAS (Modificado de la American Burn Association)
<b>QUEMADURA GRAVE</b>
Todas las quemaduras con un índice > 10. Quemaduras de espesor total > 10% de superficie corporal Todas las quemaduras en manos, pies, cara, ojos, pabellón auricular y periné Todas las quemaduras por agentes químicos caústicos Todas las quemaduras por electricidad de alto voltaje Todas las quemaduras por agentes inflamables (gasolina, tñner, petróleo, etc) Todas las quemaduras complicadas con inhalación, trauma mayor o pacientes de alto riesgo por enfermedad concomitante. Baja condición socio-económica
<b>QUEMADURA MODERADA</b>
Quemaduras de espesor total > 5. Quemaduras que presentan riesgo de alteración cosmética o funcional a ojos, pabellón auricular, cara, manos, pies o periné.
<b>QUEMADURA LEVE</b>
Quemaduras de espesor total de < 2% de superficie corporal Quemaduras sin riesgo cosmético o funcional a los ojos, pabellón auricular, cara, manos, pies o periné

## CRITERIOS DE HOSPITALIZACION

Los pacientes quemados pueden ser tratados hospitalariamente, en servicios de Cirugía Plástica o Unidades de Quemados, o de forma ambulatoria. Los resultados en el tratamiento de los pacientes externos son generalmente buenos, siempre que hayan sido correctamente seleccionados para ello.

Deberán ser ingresados todos aquellos pacientes que requieran fluidos intravenosos, lo cual comprende a los niños con SCQ > 10%, así como a aquellos que, por la causa que fuere, estuvieran previamente deshidratados.

**Profundidad:** La profundidad de la quemadura tiene menor importancia a la hora de determinar la necesidad de cuidado hospitalario. Una excepción son aquellas quemaduras cuya profundidad haga prever de entrada que requerirán intervención quirúrgica (sin olvidar que esta necesidad no es fácil de valorar en primera instancia). Existen casos en que, a pesar de la necesidad de tratamiento quirúrgico, los pacientes pueden ser seguidos ambulatoriamente e ingresar directamente para la intervención.

**Enfermedades previas:** La existencia de enfermedades previas ensombrecen la evolución de la quemadura: insuficiencia renal, insuficiencia cardíaca congestiva, hipertensión arterial, EPOC, diabetes mellitus, secuelas de alcoholismo, uso de esteroides, obesidad mórbida, etc.

**Lesiones asociadas y etiología:** Especialmente en las quemaduras eléctricas (por caída desde cierta altura) o en aquellas sufridas en accidentes de tráfico, el paciente pueden haber sufrido alguna lesión grave asociada que agrave el pronóstico de la quemadura. Las quemaduras químicas y las eléctricas pueden tener consecuencias graves como, por ejemplo, alteraciones del ritmo cardíaco en las eléctricas o hipocalcemia severa en las producidas por ácido fluorhídrico.

**Localización de la quemadura:** Hay zonas del cuerpo (manos, pies, cara, periné y articulaciones) que por su localización y función dificultarán la independencia del paciente. En otros casos, la distribución de las quemaduras hace que requieran actuaciones especiales, como las quemaduras

circunferenciales, que pueden precisar escarotomía. Estas situaciones exigirán el ingreso en un hospital.

Situación social: Los pacientes externos deben presentar unas condiciones sociales que permitan el cuidado e higiene correctos de la lesión, así como disponibilidad para acudir al hospital a fin de realizar las curas locales y revisiones necesarias.

#### VÍAS DE INGRESO AL HOSPITAL NACIONAL DE NIÑOS:

Todo paciente quemado puede tener acceso al servicio de quemado y cirugía plástica del hospital por las siguientes vías de hospitalización:

Servicios de urgencias.

Policlínico de la especialidad

Traslado desde otros servicios o centros asistenciales.

Directo desde su hogar o desde el lugar del accidente.

#### TRANSPORTE AL HOSPITAL:

A pesar de que nuestras ambulancias no tienen dotaciones adecuadas para el transporte de pacientes críticos, la atención a los detalles por parte del médico remitente puede subsanar muchas de éstas deficiencias. Antes de remitir al paciente, asegúrese que el paciente se encuentre debidamente estabilizado. NO realice desbridamientos ni aplicación de sustancias tóxicas en quemaduras graves y mayores si no dispone de un quirófano adecuado y de posibilidad de anestesia general. Para la remisión del paciente con quemadura mayor se deben cumplir los siguientes requisitos:

- Soporte respiratorio: oxígeno al 100%
- Soporte circulatorio: acceso venoso
- Sonda vesical
- Sonda nasogástrica
- Áreas quemadas cubiertas
- Analgesia (morfina)
- Protección contra la hipotermia (frazadas encima de la sábana estéril)
- Inmunización antitetánica cuando esté indicada.
- Las áreas quemadas deben cubrirse con una sábana estéril. En niños es fundamental evitar la hipotermia, por lo cual se recomienda no aplicar compresas húmedas en quemaduras mayores del 10% de superficie corporal, cuando se remite al paciente desde zonas distantes. ( NO SE DEBE UTILIZAR HIELO )

#### TRATAMIENTO INICIAL DEL QUEMADO AMBULATORIO ( LEVE).

Los objetivos son: 1) control del dolor; 2) limpieza y desbridamiento de la quemadura; 3) uso de agentes tópicos; 4) cobertura de la lesión; 5) elevación del área quemada; 6) profilaxis antimicrobiana; 7) controlar el prurito; 8) rehabilitación (en caso de ser precisa).

Para ello se evalúa el paciente inicialmente, en emergencias se cubren las lesiones con crema de sulfadiacina de plata, tratamiento oral para el prurito, las molestias locales y el dolor dieta hiperproteica, hipercalorica y rica en líquidos. Cura local bajo anestesia cada 5 días, y seguimiento posterior a la curación por consulta externa de las secuelas.

#### MANEJO INICIAL DEL PACIENTE MODERADO Y GRAVE

(Modificado del American Collage of Surgeons, Committee on Trauma)

##### **I. Detener daño mayor:**

Extinguir o eliminar ropa inflamada

En quemaduras químicas

Lavado copioso agua

Irrigación ocular prolongada

Remover ropa contaminada  
Retirar joyas, relojes ( todo lo que pueda comprimir )  
Lavado con agua fría. Sirve de alivio al dolor.

## **II. Mantener ventilación (ABC)**

Administrar oxígeno humidificado por máscara  
Examinar vía aérea para detectar signos de daño por inhalación, diagnóstico exacto por broncoscopia y biopsia para valorar pronóstico y tratamiento  
Pelos de fosas nasales chamuscados  
Material carbonizado vía aérea superior  
Edema o signos inflamatorios en vía aérea superior  
Mantener vía aérea  
Intubación endotraqueal en  
trauma cervical asociado  
trauma torácico severo asociado  
edema agudo de vía aérea: daño por inhalación grave  
Si se intuba ventilación mecánica  
Indicaciones para administrar oxígeno en el paciente mayores de un índice de 10 o un 15 por ciento de superficie corporal quemada, lesión de la vía aérea, quemaduras circunferenciales del tórax o traumas asociados a las quemaduras de tórax craneales o abdominales. Ante la sospecha de traqueobronquitis química por la inhalación de sustancias tóxicas, incendios en sitios cerrados hay que tener en cuenta que los síntomas pueden aparecer horas después por lo que el tratamiento debe ser por los antecedentes:  
El examen clínico  
La broncoscopia

## **III. Resucitación cardiopulmonar (ABC)**

Si no se detecta pulso o actividad cardíaca

## **IV. Historia**

Circunstancias del accidente  
Enfermedades previas  
Medicamentos  
Alergias

## **V. Examen Físico**

Estimar extensión y profundidad de la quemadura  
Pesar al niño  
Revisar lesiones asociadas

## **VI. Reposición de volumen EV**

Prevención del shock y alteraciones hidroelectrolíticas. Es el plan terapéutico de mayor importancia en el tratamiento de urgencia del quemado las primeras 48 horas.  
Pacientes con quemaduras más de un 10% de superficie corporal  
Instalación cánula EV en vena adecuada  
Sonda vesical a un sistema de drenaje cerrado  
Volumen de reposición: existen dos fórmulas ampliamente difundidas:

Planear administrar el 50% del volumen calculado en las primeras 8 horas del accidente y el 50% restante en las siguientes 16 horas. Ajustar el goteo para obtener 1 cc diuresis/kg peso/hora. 30 - 50 cc diuresis horaria en pacientes sobre 30 kg.

Las fórmulas de reanimación son guías. En una situación determinada el niño puede requerir volúmenes mayores o menores dependiendo de su respuesta clínica. Las quemaduras más profundas y las lesiones por inhalación pueden aumentar los requerimientos líquidos de manera considerable.



En las quemaduras de moderada y gran extensión es imprescindible el uso de albúmina humana<sup>9</sup>. Generalmente se efectúa después de las primeras 8 horas (12,5 g/lit de solución calculada). Excepcionalmente en niños se podría agregar Dextran (10 cc x kg en 24 horas)  
Existen diferentes formulas de resucitación las cuales se exponen a continuación.

### RESUCITACIÓN EN ADULTOS

La siguiente tabla resume las distintas fórmulas de resucitación:

Tabla III. Fórmulas para estimar la necesidad de fluidos en la resucitación de quemados adultos.

Fórmulas con coloides:	Electrolitos:	Coloide:	Segundas 24 h:
Evans	Salino al 0,9% 1 ml/kg/%SCQ Dx5% en agua 2000ml	1 ml/kg/%SCQ  0,5 ml/kg	50% coloide y 50% cristaloide del primer día
Brooke	Ringer Lactato 1,5ml/kg/%SCQ Dx5% en agua 2000ml	PFC 75 ml/kg/24 h	coloide 0,3-0,5 ml/kg/%SCQ
Slater	Ringer Lactato 2 l/24 h	Seroalbúmina 10% 0-8 h 7,5% 8-16 h 5% 16-24 h	Seroalbúmina 2,5% 24-40 h 0% >40 h
BET	Ringer Lactato 220 cc x m2SCQ/h		
Fórmulas con cristaloides:			
Parkland	Ringer Lactato 4 ml/kg/%SCQ (1/2 en 8 h y 1/4 en cada una de las siguientes 8 h)		Coloide 0,3-0,5 ml/kg/%SCQ
Brooke modificada	Ringer Lactato 2 ml/kg/%SCQ		
Fórmulas salinas hipertónicas:			
Monafo	Volumen para mantener diuresis a 30 ml/h Fluidos con 250 meq Na/l		1/3 - 1/2 de las necesidades del primer día
Hipertónica modificada (Warden)	-Ringer Lactato + 50 meq NaHCO <sub>3</sub> (180 meq Na/l) durante 8 h para diuresis 30-50 ml/h -Continuar con Ringer Lactato simple para idéntica diuresis		
Fórmula con dextrano (Demling)	-Dextrano 40 en salino: 2 ml/kg/h (durante 8 h) -Ringer Lactato: para diureis de 30 ml/h -PFC: 0,5 ml/kg/h (durante 18 h, pasadas las primeras 8 h)		

PFC: Plasma fresco congelado

Dx5%: Dextrosa al 5%, para pérdidas insensibles

### **Cristaloide**

La solución Ringer Lactato, con una concentración de sodio de 130 meq/l, es el cristaloides más frecuentemente utilizado como fluido de resucitación en el paciente quemado. Los defensores del uso exclusivo de cristaloides para la reanimación -especialmente durante las primeras 24 horas- consideran que el tratamiento con coloides no obtiene mejor resultado en el mantenimiento del volumen intravascular -ya se ha comentado la alteración de la permeabilidad capilar para las proteínas que ocurre durante las primeras 24 horas en el tejido quemado- ni una disminución de la mortalidad, y son ciertamente más caras.

La cantidad de cristaloides a añadir depende de los parámetros usados en cada una de las fórmulas de reanimación. Considerando adecuada una diuresis de 0,5 ml/kg/h como indicador de una correcta perfusión periférica, se necesitarían unos 4 ml/kg/% SCQ de cristaloides durante las primeras 24 horas. Obviamente, para lograr una diuresis más abundante, habría que aumentar el ritmo de infusión. La pauta Parkland (con o sin modificaciones) es una de las más utilizadas, a pesar de lo cual hay autores que consideran que las necesidades de fluidos, calculadas con la pauta Parkland, sobrepasan las estimadas hasta en el 58% de los casos. Recientemente se ha sugerido que el uso de ácido ascórbico a altas dosis en la resucitación disminuye de forma importante el volumen final de fluidos requeridos.

El principal inconveniente que se achaca a este tipo de resucitación es la severa hipoproteïnemia secundaria que se desarrolla en quemados extensos, lo cual, unido a un déficit de proteínas en el intersticio, genera una mayor formación de edema.

### **Coloides**

La resucitación con coloides se fundamenta en el hecho de que el líquido extravasado en el tejido quemado tiene la misma composición que el plasma, por lo que, además de líquido y electrolitos, se propugna la infusión de proteínas plasmáticas. Estas pueden aportarse en forma de: soluciones con albúmina (que aportan un mayor poder oncótico); plasma fresco congelado (que además de proteínas oncóticas incorpora proteínas de otro tipo, como las inmunológicas); plasma tratado con calor (en que las proteínas pueden desnaturalizarse).

Hay tres grupos de autores a este respecto: algunos piensan que no deben usarse soluciones con proteínas durante las primeras 24 horas (Moyer, Baxter, etc.). Opinan que éstas no son más efectivas que el suero con electrolitos para el mantenimiento del volumen intravascular. Este principio obvia el hecho de que en los tejidos no quemados existe una alteración de la permeabilidad para el paso de líquidos, pero no de proteínas; otros creen que las proteínas se deben administrar entre 8 y 12 horas después de la quemadura (Demling). Para afirmar esto se basan en una demostración experimental realizada por Demling: la recuperación y el mantenimiento del contenido proteico plasmático sólo son efectivos una vez transcurridas 8 horas de la quemadura, tras lo cual pueden mantenerse niveles adecuados mediante la infusión de proteínas; por último, quienes opinan que las proteínas, en particular la albúmina, deben utilizarse desde el mismo inicio de la reanimación (Evans, Gómez-Cía, etc.). Se basan en que las proteínas administradas sólo se pierden en el tejido quemado, pero no en el tejido sano. En este sentido, se ha realizado hace pocos años en España (Gómez-Cía y L. Roa<sup>12</sup>; 1993) un estudio clínico comparando los resultados obtenidos con con cristaloides -en concreto, con la pauta Parkland- y con coloides -usando la pauta BET (desarrollada por simulación digital y basada en un modelo matemático)-. Los resultados mostraron que, si bien la estabilidad hemodinámica se mantuvo en ambos casos, los pacientes tratados con la pauta BET mostraron menor hemoconcentración, valores de proteínas en plasma en niveles superiores (por encima de 5 gr/dl) y una cantidad total de fluido administrado sensiblemente menor, con una menor formación de edema y un menor aumento de peso. Una desventaja a considerar es el elevado coste económico que supone esta pauta de reanimación.

Lo que sí parece aceptado es que en caso de quemaduras muy extensas (más del 50% SCQ), en el caso de pacientes ancianos y cuando ha habido inhalación de humo, la resucitación con coloides no sólo provoca menos edema, sino que además ayuda al mejor mantenimiento de la estabilidad hemodinámica. En los niños pequeños también se requiere con frecuencia la administración de coloides, por la drástica reducción de proteínas séricas que en ellos se produce durante el shock por quemadura.

### Fórmulas salinas hipertónicas

Monafo fue hace años el primero en demostrar que con el uso de soluciones hipertónicas (240-300 meq/l de ClNa), usando la diuresis como indicador del éxito de la misma, se requiere una menor cantidad total de líquidos y, consecuentemente, se provoca un menor edema. Paradójicamente, se ha comprobado que el edema intersticial en los tejidos, tanto quemados como no quemados, resulta ser mayor con esta pauta. El aspecto externo global de menor edema resultante se debe a que este líquido acumulado en el intersticio proviene del medio intracelular, aunque no parece que dicha deshidratación celular sea deletérea. Éste es aún una cuestión controvertida.

Es importante destacar que debe vigilarse estrechamente la concentración sérica de sodio, ya que si ésta sobrepasa los 160 meq/dl se corre el riesgo de aparición de complicaciones cerebrales (por deshidratación hipernatémica) y de que disminuya la diuresis (por un aumento secundario de la hormona antidiurética).

Una modificación de la pauta hipertónica (Warden) se ha usado para quemados con más del 40-50% de SCQ y con acidosis metabólica, añadiendo bicarbonato a una solución con 180 meq/l de sodio. Se usa durante 8 horas, tras lo cual suele ceder la acidosis. Entonces se continúa la reanimación sólo con Ringer lactato.

### Fórmulas con dextrano

El dextrano es un polímero de la glucosa que puede presentar distintos pesos moleculares. Los más usados son el Dextrano 40 (40.000 daltons) y el Dextrano 70 (70.000 daltons). Éste último puede presentar problemas alérgicos e interferir con el tipaje sanguíneo. El Dextrano 40 mejora la microcirculación, al disminuir la agregación celular, y permite disminuir las necesidades de fluidos hasta casi la mitad para el correcto mantenimiento de la presión intravascular.

### RESUCITACIÓN EN NIÑOS

Para un niño la pauta de reanimación debe ser más precisa que para un adulto con una quemadura similar. Además, los niños presentan un reserva fisiológica global menor.

La necesidad media de fluidos para niños en las primeras 24 horas es de 5.8 ml/kg/%SCQ. Las pautas de reanimación descritas para niños se resumen en la siguiente tabla.

Tabla IV. Fórmulas para estimar las necesidades de fluidos en quemados pediátricos

Pauta de la Unidad Cincinnati	4ml x kg x %SCQ + 1500ml m2SCQ	x	Primeras 8h: Ringer Lactato+50mgNaHCO3 Segundas 8h: RingerLactato Terceras 8h: RingerLactato+12,5gr albúmina
Pauta de la Unidad de Quemados HNN	5000ml/m2SCQ + 2000ml/m2SCQ		Primeras 24h: Solución electrolítica balanceada Segundas 24h: Solución electrolítica balanceada  3750ml/m2SCQ +  1500ml/m2SCQ

Dada nuestra experiencia en los últimos 5 años de preanimación de niños quemados en Costa Rica los mejores resultados han sido con el esquema de hidratación IV de la unidad de Cincinnati o el esquema de Parkland adicionándole seroalbumina, con la única diferencia de la necesidad de utilizar suero fisiológico por Lactato Ringer al no tener existencia en el país y completando los requerimientos electrolíticos según las necesidades.

Mantener circulación periférica en pacientes con quemaduras circunferenciales en extremidades. Signos clínicos de dificultad circulatoria. Incluyen:

### **Cianosis**

Llene capilar dificultoso

Escarotomía. Se realiza con anestesia general en quemaduras B y AB circulares que comprometen el tronco y o las extremidades, en que aparezcan signos de compresión como: asimetría de pulsos, velocidad circulatoria distal disminuida, diseño o disminución de la expansión torácica o abdominal.

No es necesaria anestesia

Incisión en cara medio - lateral o medio - medial de la extremidad

Incisión a través de articulaciones comprometidas

Incisión sólo hasta permitir que se separen bordes de la escara

Fasciotomía: Sólo cuando la lesión comprometa tejidos subfasciales. Se realiza con anestesia general y se practican incisiones de piel y aponeurosis para descomprimir los compartimientos musculares, después se cubre con sulfadiazina de plata y vendajes semicompresivos.

Intubación Nasogástrica

Si hay náuseas, vómitos o distensión abdominal o si las quemaduras son extensas para evitar el ileoparalítico y la dilatación aguda gástrica.

Analgesia

Según necesidad.

DROGAS

DOSIS

Morfina

0,5 mg/kg/dosis oral

0,2 mg/kg/dosis im

0,002 - 0,005 mg/kg/dosis/bolo EV

0,5 - 1 mg/kg/dosis infusión continua

Acetaminofen

15 mg/kg/dosis VO o rectal

Uso de antibióticos PROFILACTICOS en el paciente quemado

En niños menores de 4 años o con quemaduras > 20%, la fiebre no tiene valor predictivo para la presencia de infección.

Muchos pacientes con quemaduras > 5% desarrollarán fiebre como parte del proceso natural de curación.

En muchos niños quemados ocurre una elevación detectable de la temperatura, independiente de la infección.

La fiebre ocurre durante las primeras 96 horas, aunque en niños pequeños la temperatura puede aumentar durante las primeras dos horas.

**NO ESTA INDICADO EL USO DE ANTIBIOTICOS PROFILACTICOS DE RUTINA EN EL PACIENTE QUEMADO**

## SIGNOS DE SEPSIS EN EL PACIENTE QUEMADO

- Taquipnea
- Hipertermia o hipotermia
- Ileus paralítico prolongado
- Alteraciones en el estado mental
- Acidosis no explicada
- Trombocitopenia
- Hiperglicemia
- Leucopenia

Ante la sospecha de sepsis, deben solicitarse los siguientes paraclínicos:

- Cuadro hemático completo con recuento de plaquetas
- Parcial de orina con urocultivo
- Radiografía de tórax
- Hemocultivo seriado

## INDICACIONES DE ANTIBIÓTICOS TERAPÉUTICOS EN EL PACIENTE QUEMADO.

- Documentación del sitio de origen
- Biopsia del área quemada mayor de 105 microorganismos/gramo de tejido
- Hemocultivo positivo
- Urocultivo positivo
- Infecciones pulmonares comprobadas por radiografía o cultivo
- Flebitis
- Tres ó más signos de sepsis
- Pacientes con injertos: cefalosporina de primera generación
- Pacientes con quemaduras masivas (quemadura de III grado de más de 30% ó de II y III grado –combinadas- de más del 50%). Se utiliza el antibiótico de acuerdo al cuadro clínico general, local, hematológico y microbiológico. ( además tenemos en cuenta el mapa epidemiológico existente en este momento en caso de que alla otros casos sépticos ).

Profilaxis antitetánica en caso necesario

Uso de antibióticos profilácticos las primeras 24 a 48 horas no tiene beneficios.

Sólo se seleccionará gérmenes de mayor poder patógeno.

El diagnóstico de infección se debe hacer con biopsia bacteriológica. El estudio histológico indicará si existe o no invasión de microorganismos en tejido sano.

Apoyo nutricional, inmunológico y mediación de la respuesta metabólica.

La nutrición enteral temprana y el apoyo inmunológico (nutricional y farmacológico) se consideran parte activa del proceso de reanimación del paciente quemado y como tales deben iniciarse en esta etapa.

En la Unidad de Niños Quemados se utilizan los siguientes inmunomoduladores:

Inmunomoduladores

- Levamisol: Es un agente antihelmíntico con varias propiedades inmunológicas. Aumenta la fagocitosis por la células polimorfonucleares y macrófagos. Aumenta la migración, quimiotaxis de los neutrófilos normales y puede inducir la producción de interferón. Se emplea en quemados a razón de 2.5 mg/kg/día en una sola toma desde el momento del ingreso del quemado hasta el día de su salida, independientemente de la extensión de la quemadura.
- Ranitidina o Cimetidina: La histamina constituye un mediador estimulante de las células supresoras; por otra parte, la liberación de histamina por los mastocitos y basófilos luego de la lesión, media la respuesta inflamatoria. Por lo tanto, los antagonistas H<sub>2</sub> como la cimetidina y la ranitidina median la inmunidad celular disminuyendo la subpoblación de linfocitos supresores, y disminuyen la respuesta inflamatoria. La dosis es de 3 mg/kg/día vía oral en una sola dosis.
- Dipyridamol: Inhibe parcialmente la síntesis de tromboxano A. Se utiliza como mediador de la respuesta inflamatoria. La dosis es de 1 mg/kg/día
- Nutrición enteral temprana.

#### Mediadores de la respuesta metabólica

- Propanolol: el paciente quemado presenta excesiva producción de catecolaminas que produce taquicardia patológica, que puede contribuir a la falla cardíaca y a la lipólisis con la consiguiente infiltración grasa del hígado. Esta respuesta puede ser modulada en forma parcial por agentes bloqueadores B-adrenérgicos como el propanolol. Se usa en quemaduras mayores del 20% G II a 1 mg/kg/día, pero la dosis debe ajustarse en forma individual de manera que no se disminuya el gasto cardíaco ni se afecte la capacidad de responder al estrés por frío.
- Hormona del crecimiento: como parte de la respuesta metabólica, hay disminución de las hormonas anabólicas, entre ellas la hormona del crecimiento. Los niveles de hormona del crecimiento permanecen bajos mucho tiempo después de ocurrida la quemadura. La administración exógena de hormona del crecimiento humana recombinante, ha demostrado efectos sobre el balance positivo de nitrógeno, preservación de la masa muscular, aumento de la velocidad de cicatrización, entre otros. Se recomienda su uso en pacientes con quemaduras mayores del 20% a dosis de 0.1-0.2 mg/kg/día, subcutánea, hasta el cierre completo de las heridas.
- Calcio: los pacientes quemados muestran un valor de calcio ionizado anormalmente bajo, que persiste así hasta siete semanas después de ocurrida la lesión. Muchos pacientes con quemaduras graves mueren durante los procedimientos quirúrgicos por problemas cardiovasculares, como consecuencia de los efectos del descenso en la concentración de calcio ionizado. Se recomienda que a todo paciente con quemaduras mayores del 20% que va a ser sometido a cirugía, se le administre una dosis de 2.5 mg/kg de cloruro de calcio o 7.5 mg/kg de gluconato de calcio en infusión continua o en varias dosis durante esas 24 horas.

#### Tratamiento local

Pacientes en ayunas y siempre realizar la cura con anestesia general

Limpiar y debridar con suero fisiológico todo tejido desprendido y desvitalizado

Terapia local con sulfadiacina de plata al 1% en crema hidrosoluble con espectro antimicrobiano para gran negativos, granpositivos y levaduras en cura oclusiva. Dificultades: casos de hipersensibilidad, neutropenia y trombocitopenia, penetración limitada de la escala y tejidos desvitalizados. Además cura cada 24 horas lo que trae como consecuencia ayunos prolongados diarios, anestesia general diaria y estadía prolongada hospitalaria.

Gracias a la existencia de poliuretanos aplicados sobre la zona quemada y en cura oclusiva nos han permitido realizar las curaciones cada 4 o 5 días mejorando el estado general del paciente, la exposición a la hipotermia, a la anestesia, al ayuno y poderlos mantener en tratamiento ambulatorio.

Las curaciones son realizadas en condiciones adecuadas de esterilidad en una unidad especializada tanto del local, instrumental, material como del personal que la realiza.

La única cirugía de urgencia a considerar es la escarotomía en quemaduras profundas circulares.

- . Si S. compartimental -> Escarotomía de urgencia.
- . Si Q. Circular de tórax -> Escarotomía de urgencia.

#### Tipos especiales de quemaduras:

Por su importancia practica pasaremos a describir el tratamiento local de urgencia de algunos tipos especiales de quemaduras:

Ácidos: se deben aplicar 24 horas fomentos de una solución alcalina (bicarbonato de sodio al 5% ) con el fin de neutralizar el ácido.

Álcalis: cura de arrastre con agua y posteriormente fomentos ácidos durante 24 horas (ácido acético al 1% ).

Fosforo: eliminación mecánica previa aplicación de solución de sulfato de cobre al 3%, para facilitar la visualización de las partículas de fosforo, las que se tiñen de negro ante la presencia de esta sustancia.

Magnesio: eliminación mecánica del mismo.

Alquitran: dilución con petróleo o aceite mineral.

Fenol: lavado amplio con alcohol absoluto.

Eléctrica: La gravedad está condicionada por factores como:

Intensidad y voltaje.

Resistencia (+ resistencia, + lesión).

Nivel protección víctima.

Trayectoria (afectación de un órgano u otro).

¡Ojo! La lesión interna es mayor a la dérmica. Efecto “icerberg”.

Radiaciones: radiodermilis – radionecrosis – enfermedad radioactiva, tratamiento general, sistémico local con debridamiento y cirugía.

Resinas vegetales: eliminación mecánica y aplicación tópica de corticoides.

Lo que no debemos hacer:

- Apagar las llamas con tierra o arena → se contaminan las lesiones. Lo ideal es hacerlo con una manta o chaqueta, agua o un extintor.
- Enfriar las lesiones con hielo → podríamos aumentar el daño tisular.
- Refrigerar “a chorro”.
- Dar líquidos por vía oral.
- Dar corticoides (sólo permitidos en Q. en la cara para evitar cicatrices).
- Dar antibióticos de forma profiláctica.
- Aplicar cremas o remedios “caseros” (aceite, pasta de dientes...) en las lesiones.

DESCARTAR MALTRATO.

#### CRITERIOS PARA SOSPECHAR MALTRATO INFANTIL EN QUEMADURAS

Reacción inapropiada de los padres Tardanza en la búsqueda de atención Negar que la lesión es una quemadura Lesión incompatible con la historia clínica o cambios en la historia relatada Contradicciones entre informantes diferentes Ausencia de testigos Lesión incompatible con el nivel de desarrollo del niño Quemaduras a repetición Quemaduras en mano (dorso o muñeca), glúteos, piernas o pies (distribución en guante o en media) Quemaduras por contacto en sitios inusuales que muestran con claridad los márgenes de un objeto Quemaduras por cigarrillo Quemaduras por líquidos calientes con márgenes bien delimitados
---

MANEJO INTERDISCIPLINARIO DEL NIÑO QUEMADO.

En el Hospital Infantil Universitario “Rafael Henao Toro” existe un grupo interdisciplinario conformado por:

Cirugía Pediátrica  
Pediatria  
Cirugía Plástica  
Grupo de Soporte Metabólico y Nutricional  
Enfermería  
Salud Mental  
Fisioterapia  
Terapia ocupacional  
Terapia respiratoria  
Trabajo Social  
Auxiliares de Enfermería

PREVENCION

Las quemaduras pediátricas constituyen una catástrofe que afecta no sólo al niño sino a todo el grupo familiar.

El riesgo vital para el pequeño en ocasiones, es altísimo. En los sobrevivientes, las secuelas funcionales, estéticas y psíquicas son la consecuencia esperada.

Los costos financieros del tratamiento de un niño quemado tanto agudo como el de las secuelas son elevadísimos. Habitualmente los más afectados son los grupos sociales más desposeídos.

Lo más desalentador de toda esta situación es que la enorme mayoría de estos accidentes pueden ser evitados. Un ejemplo evidente lo constituyen los fuegos artificiales.

Si bien los progresos en el rescate y manejo de las quemaduras son estimulantes, el tratamiento más efectivo es y seguirá siendo la prevención. Con respecto a esta última, la educación pública es una de las responsabilidades ineludibles de cualquier miembro del equipo de salud que maneje este tipo de lesiones. Es allí donde debiera ser puesto el énfasis en la pediatría del futuro.

"La manera como una sociedad trata a sus niños refleja no sólo sus cualidades de compasión y cuidado protector, sino también, su sentido de justicia, su compromiso para con el futuro y su interés de mejorar la condición humana de las próximas generaciones. Esta es una verdad indiscutible, tanto para la comunidad de las naciones como para las naciones individuales".

Javier Pérez de Cuéllar  
Secretario General Naciones Unidas. 1990.

## REFERENCIAS

- Aleman M, Hadman "PROCEDIMIENTOS DEL PACIENTE QUEMADO" 1994; CUBA.
- Vega J, Contreras A, Agurto M. "Mortalidad por lesiones en accidentes y violencias en menores de 20 años". Rev Chil Ped 1990; 61:277-280.
- Sharp RJ. "Quemaduras" en Aschcraft KW; Holder TM (eds) Cirugía Pediátrica, 2ª Ed. México, Interamericana, Mc Graw Hill, 1995.
- Garcés M, Tapia L, Hoecher F et al. "Clasificación y pronóstico de los quemados" Asistencia Pública. 1971; 1:5-9.
- Carvajal HF. "A physiologic approach to fluid therapy in severely burned children. Surg Gynecol Obst. 1980; 150:379-384.
- Schiller WR. " Burn management in children". Pediatr Ann 1996; 25:431-8.
- Ayala R. "Tratamiento de urgencia del niño quemado agudo grave". Pediatr al Día 1991;7:234-8.
- Artigas R (Ed.) "Normas médico quirúrgicas para el tratamiento de las quemaduras". Santiago. Ed. Andrés Bello, 1984.
- Morrow SE, Smith DI et al. "Etiology and outcome of pediatric burns". J Pediatr Surg 1996; 31:329-333.
- Hansbrough JF et al. " Pediatric burn". Pediatr in Rev 1999; 20:117-123.
- Achauer B.M. "Atención del paciente quemado". México D.F.: Ed. El Manual Moderno, 1988. Pp. 67-78 y 92-120.
- Alderson P., Schierhout G., Roberts Y., Bunn F. "Colloids versus crystalloids for fluid resuscitation in critically ill patients". Cochrane Database Syst Rev; 2000: (2):CD000567.
- Baxter C.R., Shires G.T. "Physiological response to crystalloid resuscitation of severe burns". Ann N Y Acad Sci. 1968; 150: 874-94
- Bunn F., Roberts Y., Tasker R., Akga E. "Hypertonic versus isotonic crystalloid for fluid resuscitation in critically ill patients". Cochrane Database Syst Rev. 2000; 4: CD002045.
- Chiarelli A. "Very early nutrition supplementation in burned patients". Am J Clin Nutr. 1991; 51: 1035-1039
- Chrysopoulou M.T., Jeschke M.G., Dzwiewliski P. "Acute renal dysfunction in severely burned adults". J Trauma. 1999; Jan; 46(1): 141-4.
- Demling R.H. "Fluid resuscitation". En The art and Science of Burn Care: Editor: Boswick J A Jr. Rockville, Aspen, 1987. Pp. 189-202.
- Demling R.H., Lalonde C. "Topical ibuprofen decreases early postburn edema". Surgery. 1987 ; 102: 857.
- Du G., Slater H., Goldfarb I.W. "Influence of different resuscitation regimens on acute weight gain in extensively burned patients". Burns. 1991; 17: 147-50.
- Engraw L.H., Colescott P.L., Kemalyan N. et al. "A biopsy of the use of Baxter formula to resuscitate burns or do we do like Charlie did?". J Burn Care Rehabil. 2000; Mar-Apr: 21(2): 91-5.
- Evans E.I., Purnell O.J., Robinett P.W., et al. "Fluid and electrolyte requirements in severe burns". Am Surg. 1951 ;135. 804e
- Gómez-Cía T., Roa L. "A burn patient resuscitation designed by computer simulation (BET). Part 2: initial clinical simulation". Burns. 1993; 19 (4): 332-38.



- Gunn M.L., Hansbrough J.F., Davis J.W., Furst S.R., Field T.O. "Prospective randomized trial of hypertonic sodium lactate vs. lactated Ringer's solution for burn shock resuscitation". *J Trauma*. 1989; 29: 1261-7.
- Heggors J.P., Ko F., Rorson M.C., Heggors R. "Evaluation of burn blister fluid". *Plast Reconstr Surg*. 1980; 65: 798-804
- Herndon D.N. "Total Burn Care". London: Saunders Company LTD., 1996. Pp. 33-97.
- Holm C. "Resuscitation in shock associated with burns: Tradition or evidence-based medicine?". *Resuscitation*. 2000; May; 44(3): 157-64.
- Marinov Z., Kvalteni K., Koller J. "Fluid resuscitation in thermally injured pediatric patients". *Acta Chir Plast*. 1997; 39(1): 28-32.
- Monafo W.W. "The treatment of burn shock by the intravenous and oral administration of hypertonic lactated saline solution". *J Trauma*. 1970; 10: 575.
- Moyer C.A., Margraf H.W., Monafo W.W. "Burn shock and extravascular sodium deficiency: treatment with Ringer's solution with lactate". *Arch Surg*. 1965; 90: 799-811.
- Raff T., Germann G., Hartmann B. "The value of early enteral nutrition in the prophylaxis of stress ulceration in the severely burn patient". *Burns*. 1997; Jun; 23(4): 313-8.
- Schwartz S.I., Shires G.T., Spencer F.C. "Principios de cirugía. Vol Y". México D.F.: Mc Graw Hill, Inc., 1994. Pp. 231-255.
- Tanaka H., Matsuda T., Miyagantani Y. et al. "Reduction of resuscitation fluid volumes in severely burned patients using ascorbic acid administration: a randomized, prospective study". *Arch Surg*. 2000; Mar; 135(3): 326-31.
- Warden G.D. "Burn shock resuscitation". *World J Surg*. 1992; 16: 16-23.
- Wilson A.M., McGrouther D.A., Eastwood M., Brown R.A. "The effect of burn blister fluid on fibroblast contraction". *Burns*. 1997; Jun; 23(4): 306-12.
- Arturson G. Fluid Therapy of Thermal Injury. *Acta Anaesthesiol Scand*. Vol 29:55-59. 1985. Bendlin A. Tratamiento inicial de las quemaduras graves. En *Tratado de Quemaduras*. Bendlin A, Linares HA, Benaim F., eds. Interamericana McGraw-Hill. México. 1993. pp 149-160.
- Childs C. Fever in burned children. *Burns*. Vol 14:1-6. 1988.
37. Marsden AK. First Aid. En *Principles and Practice of Burns Management*. Settle JAD, ed. Churchill Livingstone. New York. 1996. pp 199-202.
38. Martínez CJ. Instructivo para el tratamiento del niño quemado. Primera edición. Pereira, Marzo de 1994.

## **2. HOSPITAL SAN JUAN DE DIOS: PROTOCOLO EN EL MANEJO DE QUEMADURAS EN ADULTOS**

Se presenta aquí una manera lógica y razonada científicamente para tratar a los pacientes con quemaduras, la cual nos obliga a estar constantemente en contacto con la fisiología, la fisiopatología, la bioquímica, las alteraciones en el ámbito de la biología celular y molecular para poder ofrecer a nuestros pacientes un adecuado tratamiento.

Se debe recordar que una quemadura de 2° y 3° de más del 15% al 20% de superficie corporal, produce una lesión multisistémica severa que debe ser tomada en consideración para tratar estos pacientes, pues incide directamente en la morbi-mortalidad de los pacientes quemados.

Al ingresar el paciente al servicio de emergencias se debe evaluar como cualquier paciente con trauma severo:

- 1- Vías respiratorias: deben estar permeables. Si ha habido inhalación severa se debe intubar.
- 2- Vías periféricas; una o dos buenas vías.
- 3- Ingresarlo a la Unidad de Quemados donde se procederá a hacer los exámenes de laboratorio y gabinete necesarios (electrolitos, hemograma, gases arteriales, orina, etc.)
- 4- Calcular el porcentaje de área quemada (Fig. 3) y su profundidad e iniciar de inmediato la resucitación hidroelectrolítica.
- 5- Lavar bajo anestesia en los tanques de Hubbard y cubrir con sulfadiazina de plata las áreas lesionadas.

- 6- Tétanos: si hay inmunización previa se administra toxoide, si no, se usará 250 u. de gammaglobulina humana, hiperinmune antitetánica.
- 7- Pasar al paciente a un cuarto a temperatura ambiente sin corrientes de aire.
- 8- Si hay quemadura de manos, colocar férulas con dedos en extensión.
- 9- No romper las vesículas, pues son un apósito biológico y evitan pérdida de líquido.

## CÁLCULO DE LÍQUIDOS

La fórmula que se usa es la de Parkland:  $4\text{cc Lactato de Ringer} \times \text{Kg} \times \% \text{ quemadura}$ . Se da la mitad en las primeras 8 horas y la otra mitad en las otras 16 horas restantes. Se usa así pues la pérdida masiva de plasma en las lesiones ocurre en las primeras 12 horas y en las siguientes 16 horas se utiliza menos líquido de reposición. Cuando se usan los líquidos de resucitación es necesario evaluar cuán eficaces son y para esto ayuda la medición del volumen de orina por hora (30-50cc), una frecuencia cardiaca en menos de 120 x minuto y la presión arterial normal. Se debe recordar que los niños frecuentemente desarrollan hipertensión.

Pacientes de edad avanzada y aquellos que toman bloqueadores, pueden no tener taquicardia y además si tienen problemas médicos agregados se podría necesitar una presión venosa central o una línea para presión capilar pulmonar y medicamentos inotrópicos.

El mejor indicador de perfusión de órganos vitales es el volumen urinario y se ha demostrado que el riñón puede tener una disminución del 50% de su flujo, mientras que los otros órganos tienen perfusión normal, esto quiere decir que, cuando el volumen de perfusión de los riñones es normal, también lo es el de los demás órganos.

Cuando se usa el volumen urinario como un parámetro para la adecuada resucitación, algunos problemas pueden presentarse como:

- 1- Los pacientes quemados pueden tener glucosa alta y glucosuria; en este caso se debe hacer mediciones frecuentes de glucosa urinaria, para determinar si el volumen urinario se debe a diuresis osmótica o a una resucitación adecuada.

- 2- El uso de soluciones salinas con Lactato, pueden producir orina por natriuresis y el volumen urinario va a reflejar una resucitación adecuada.

- 3- Pacientes con mioglobinuria, requerirán manitol, además de grandes volúmenes de líquidos de resucitación para prevenir la precipitación del pigmento en los túbulos renales y el paciente tendrá un volumen urinario mayor. Pacientes con lesiones severas por inhalación pueden requerir 40% más de líquido en las primeras 24 horas, y aquellos en los que se atrasa su resucitación inicial, pueden requerir más líquidos.

Pacientes que requieran escarotomías en varias áreas, para restaurar la circulación normal, pueden sufrir de un súbito aumento de volumen por disminución de edema en los sitios de la escarotomía o al contrario, pérdida de volumen por pérdida de sangre en estos sitios.

- 4- Pacientes con quemaduras eléctricas pueden requerir mayor cantidad de líquidos de resucitación, pues la lesión puede ser más profunda de lo que se ve y la lesión por porcentaje de superficie, es difícil de calcular.

- 5- Personas en tratamiento crónico con diuréticos por hipertensión o ascitis, tienen un déficit de volumen preexistente, que requerirá un aumento en las necesidades de restauración de ese volumen.

- 6- Pacientes en estado de intoxicación etílica, pueden requerir mayor cantidad de líquidos de resucitación y además el efecto diurético del alcohol puede interferir con la evaluación del volumen

urinario como guía para la resucitación. Los drogadictos pueden estar desnutridos y deshidratados, éstos requerirán una mayor cantidad de líquidos para su resucitación.

En la Unidad Nacional de Quemados, se usa la fórmula de Parkland en las primeras 24 horas. El volumen urinario por hora es evaluado y los líquidos se ajustan de acuerdo con éste. No se usan bolus de líquido pues puede aumentar el edema tisular y causar edema pulmonar. Un aumento o una disminución constante en el volumen de líquido administrado, es mejor que un bolus. El volumen urinario se debe mantener entre 30-60cc/hora en el adulto y 1 ml x kg x hora en los niños. Si hay hipoglicemia se debe cambiar el líquido a dextrosa 5% en Lactato de Ringer.

Cuando en el adulto se presenta mioglobinuria o hemoglobinuria se aumenta el volumen de líquidos y se añade bicarbonato para alcalinizar la orina, tratando de tener un volumen urinario de 100 a 150 cc por hora.

#### INDICACIONES PARA EL USO DE PRESIÓN VENOSA CENTRAL

- 1- Fracaso en resucitación.
- 2- Extremos de edad.
- 3- Enfermedad cardíaca preexistente.
- 4- Insuficiencia renal.
- 5- Lesión por inhalación (severa).
- 6- Uso de P.E.E.P. alta.
- 7- Historia de alcoholismo o cirrosis.
- 8- Quemaduras masivas sin vías periféricas permeables.
- 9- Quemaduras eléctricas severas.

#### RAZONES PARA EL USO DE LÍQUIDOS EN MAYORES CANTIDADES

- 1- Lesiones por inhalación.
- 2- Resucitación retardada.
- 3- Quemaduras eléctricas masivas.
- 4- Escarotomías.
- 5- Terapia crónica con diuréticos.
- 6- Uso de alcohol o drogas.
- 7- Uso de manitol en mioglobinuria.

#### REQUERIMIENTOS DE LÍQUIDOS PARA EL SEGUNDO DÍA

Durante las segundas 24 horas se administra una solución de albúmina al 5% en un volumen de 0.5cc x % de área quemada x peso en Kg. Se pasa en un período de 4 a 8 horas. Originalmente se usaba plasma fresco congelado, pero con el problema de transmisión de la hepatitis y VIH, esto se ha abandonado. Si hubiera enfermedad hepática preexistente o problemas de sangrado, podría usarse este plasma. Durante estas segundas 24 horas, el Na<sup>+</sup> total está elevado debido a los líquidos de resucitación y el paciente pierde agua y un poco de Na<sup>+</sup> a través de las quemaduras. Esta pérdida se debe reemplazar usando dextrosa al 5%, 25cc/hora + % de área quemada x superficie corporal en m<sup>2</sup> (Fig. 3). Se ajustará el Na<sup>+</sup> si hubiera cambios abruptos. Se debe evaluar el sodio urinario para diferenciar entre la sobrehidratación hipotónica y una depleción de Na<sup>+</sup>.

Medir el peso diariamente ayuda a evaluar la pérdida de líquidos o identificar aquellos casos que tienen problema en movilizar líquidos. A medida que se reabsorbe el Na<sup>+</sup> el paciente puede ser susceptible de presentar un edema pulmonar sobre todo si ha habido lesión por inhalación. El paciente debe ser monitoreado y examinado frecuentemente.

## CRITERIOS DE ADMISIÓN

Por tratarse de una Unidad Nacional se admiten de todo el país.

- Quemaduras de 2° (segundo grado) de más de 20% de superficie corporal.
- Quemaduras de 3° (tercer grado) de más de 5% de superficie corporal.
- Quemaduras de cualquier extensión que tengan lesión por inhalación.
- Quemaduras eléctricas (todas).
- Quemaduras en cara, cuello, genitales, manos y pies.
- Quemaduras por químicos (todas).

## MEDIDAS A TOMAR

A.- Asegure una vía aérea adecuada.

Sospeche lesión por inhalación en caso de:

1. Fuego en espacios cerrados.
2. Hollín en las fosas nasales, boca o en el esputo.
3. Pelo facial o nasal chamuscado.
4. Quemadura en la cara, lengua o faringe.
5. Estridor o ronquera.

B.- Sospecha de intoxicación por monóxido de carbono en caso de:

1. Lesión por inhalación.
2. Fuego en espacios cerrados.
3. Alteración del estado de conciencia.

¿Qué hacer en los dos casos anteriores?

- Administrar oxígeno en altas concentraciones.
- Buscar opinión del anestesista.
- Intubar si es necesario.

C.- Historia de examen físico:

- 1- Documente la historia de la lesión.
- 2- Patologías pre-existentes.
- 3- Tratamiento previo.
- 4- Use agua para lavar corrosivos y enfriar al paciente.
- 5- Determinar la causa del fuego y si es química buscar un antídoto (si hay).
- 6- Descartar otras lesiones.
- 7- Aplique la fórmula para determinar el % de área quemada (Fig. 3), excluyendo el eritema.

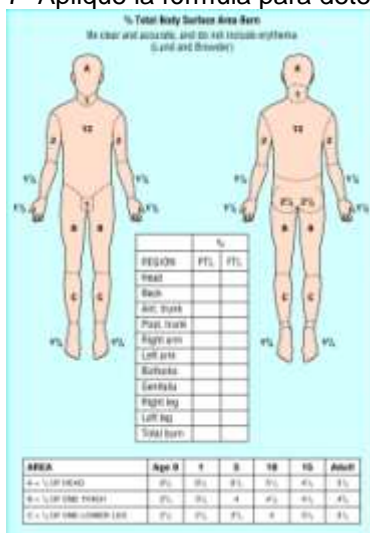


Fig. 3 Fórmula para el cálculo del área corporal quemada.

Nota: No se aplica la regla de los 9 porque tiene 50% de error

## EXÁMENES DE LABORATORIO

- Hemograma completa.
- NU y Creatinina.
- Electrolitos.
- Mioglobina en orina (Quemaduras eléctricas).
- Gases arteriales.
- Osmolaridad urinaria y plasmática.
- Carboxihemoglobina en casos de lesión por inhalación.

## TRATAMIENTO INMEDIATO

Si la quemadura es de más de 20% de superficie corporal:

- Vía aérea permeable.
- 1 ó 2 vías venosas.
- Lactato de Ringer 4cc/Kg x % área, la mitad en 8 horas y la otra mitad en 16 horas. (Si no hubiera Lactato de Ringer entonces utilizar: NaCl 0.9% 2CC/Kg x %.)
- Sonda Foley.
- Orina 20 a 40 cc por hora.
- Si es quemadura eléctrica 100 cc por hora.
- Fasciotomía si es necesario (vigilar circulación periférica) antes de 3 horas desde el inicio de la lesión.
- Escarotomía si es necesario, antes de 3 horas desde el inicio de la lesión.
- No romper flictemas (vesículas).
- Aplicar sulfadiazina de plata.
- Analgésicos IV (morfinas) 0.1 o 0.2 mg/Kg diluidos en 10cc cada 5 minutos.
- Intubación endotraqueal si hay lesión por inhalación severa (gases arteriales).

Comenzar todas estas medidas en el Servicio de Emergencias, e internar paciente inmediatamente en la Unidad Nacional de Quemados donde será evaluado por el asistente de cirugía plástica.

No pasar grandes volúmenes de líquido muy rápido tratando de recuperar el tiempo perdido por el atraso en la llegada del paciente de emergencias sin evaluar la condición general, edad, problemas médicos previos, lesión por inhalación, etc., pues se puede hacer daño en lugar de un bien.

Los miembros de la Cruz Roja no deben administrar grandes volúmenes de cristaloides rápidamente pues pueden agravar el estado del paciente en lugar de ayudarlo. Para el transporte, estos pacientes se deben cubrir con sábanas limpias (estériles si hay) y húmedas con suero salino (si hubiere).

Se debe trasladar de inmediato sin hacer escalas en el trayecto hacia el hospital. Durante el transporte es indispensable llamar al Hospital para avisar que llegará un paciente quemado. El servicio de emergencias se encargará de poner sobre aviso y llamar al cirujano plástico que esté en disponibilidad, quién se hará cargo del tratamiento inmediato del paciente.

El paciente debe pasar rápidamente por emergencias y ser internado en la Unidad de Quemados lo más pronto posible para recibir el tratamiento especializado que amerita.

Cuando se utilizan estos regímenes de resucitación se debe evaluar su eficacia, y una manera de hacerlo es con la presión arterial y el pulso. Si la presión arterial es normal y el pulso está en menos de 120 por minuto, esto refleja una adecuada resucitación. Sin embargo se puede producir hipertensión en algunos pacientes y una presión baja puede reflejar resucitación inadecuada.

Pacientes seniles o que toman betabloqueadores no tendrán taquicardia y algunos requerirán monitoreo de presión venosa y presión capilar pulmonar (sobre todo pacientes seniles con problemas médicos), y pueden requerir medicamentos inotrópicos como dopamina 5 o 10 microgramos por minuto o dobutamine 20 microgramos por minuto, si los líquidos utilizados no

logran optimizar la precarga ventricular izquierda y no aumenta el índice cardiaco, ni se restaura una adecuada circulación.

La terapia con vasopresores (drogas que aumentan las resistencias periféricas) tiene sus indicaciones especiales. No es adecuado usar drogas que aumenten la resistencia vascular sistémica a expensas de bajar el índice cardiaco a no ser que se pruebe que aumente el flujo a los órganos vitales. El uso de vasopresores no debe ser considerado antes de una adecuada terapia de reemplazo con líquidos de resucitación para obtener una adecuada pre-carga ventricular izquierda y así obtener un mejor índice cardiaco. Si el paciente no presenta signos de mejoría con 6cc por Kilogramo por porcentaje, se debe colocar un catéter en la arteria pulmonar para guiar la administración de líquidos. Se debe tomar en cuenta que un paciente quemado tiene una alta incidencia de complicaciones sépticas y trombóticas, debido a catéteres intravenosos y éstos deben ser usados con cuidado.

La mayoría de los pacientes y sobre todo los jóvenes no requieren vías centrales. El volumen urinario es el mejor parámetro para evaluar una adecuada perfusión de órganos vitales y debe ser de 0.5 cc por kilogramo por hora.

Los estudios han demostrado que aunque haya una disminución del 50% en la perfusión renal, el flujo al cerebro, brazo, hígado y estómago esta preservado; lo cual quiere decir que cuando se restablece un buen flujo a los riñones el resto del organismo está con buena perfusión por esta razón muchos pacientes requieren más y otros menos líquidos de lo esperado.

Pacientes con lesión por inhalación severa pueden requerir un 40% más de líquidos en las primeras 24 horas. Pacientes en tratamiento crónico por hipertensión, pacientes con ascitis, que toman diuréticos pueden requerir mayores volúmenes.

El Lactato de Ringer es isotónico y tiene menos problemas metabólicos cuando se usa en grandes volúmenes aunque produce muchos edemas e hipoproteinemia después de 24 horas. Lactato salino hipertónico (Monaffo) también resulta en una adecuada resucitación con menor volumen de líquido. Los electrolitos deben ser monitoreados más frecuentemente con este sistema.

## LÍQUIDOS EN LAS SEGUNDAS 24 HORAS

Se recomienda el uso de Lactato de Ringer pues en trabajos en los que se han usado cantidades masivas de líquidos de resucitación, se han reportado mayores complicaciones y mortalidad si se usa suero salino. Los problemas de coagulación que se creía existían al transfundir un paciente que estaba recibiendo Lactato de Ringer, no tienen fundamento. Se creía que el calcio Lactato de Ringer podría neutralizar la capacidad anticoagulante del citrato de la sangre y producir microcoágulos pero esto no es cierto. Además el Lactato de Ringer es similar al líquido intersticial pero con menos potasio. Como en nuestro hospital no hay Lactato de Ringer, se recomienda el uso de suero salino con la fórmula de Evans, mientras se hacen las gestiones para conseguirlo.

Las fórmulas poseen un buen comienzo para la resucitación hidroelectrolítica y por lo general se puede obtener una reanimación adecuada con las diferentes fórmulas. El volumen de líquido calculado inicialmente debe ser modificado de acuerdo con la respuesta de cada paciente, de ahí que el control de cada paciente debe ser estricto y personalizado.

Los parámetros de resucitación recomendados son:

- 1-Volumen urinario 1cc/Kg /hora.
- 2-Presión sistólica, menos de 100 mmHg.\*\*\*\*\*
- 3-Frecuencia cardiaca menos de 120 por minuto.
- 4-Ausencia de acidosis metabólica.

## MANEJO HIDROELECTROLÍTICO

Como se dijo anteriormente el paciente quemado sufre una serie de lesiones complejas que se deben tomar en cuenta y además la condición del paciente varía mucho durante la evolución de la lesión.

El periodo inicial se caracteriza por inestabilidad cardiopulmonar causada por el paso de líquido entre compartimentos, y en muchos casos por la lesión directa. La terapia debe ser dirigida conociendo estos cambios y tratando de predecirlos y prevenirlos.

#### CAMBIOS ELECTROLÍTICOS

- Período inicial de resucitación: 0 a 36 horas. Se caracteriza por hipernatremia e hiperkalemia.
- Período temprano de resucitación: 2 a 6 días. Se caracteriza por hipernatremia, hipokalemia, hipomagnesemia, hipocalcemia e hipofosfatemia.
- Periodo inflamatorio - infección: También conocido como hipermetabólico, es más evidente después de la primera semana, tiene muchos desbalances.

### 3. HOSPITAL MEXICO: PROTOCOLO EN EL MANEJO DE HERIDAS

#### PROTOCOLO # 1

Para el manejo de las úlceras por presión en Etapa II con exudado mínimo.

#### PRESENTACION DEL PROBLEMA

Paciente que presenta una pérdida parcial del espesor de la piel involucrando la epidermis y la dermis. La úlcera es superficial y se observa como una abrasión, ampolla o cráter poco profundo.

#### PROTOCOLO DE TRATAMIENTO

Realizar la limpieza según preferencia o recomendación del profesional tratante.

Colocar en el área afectada crema humectante

Seleccionar una de las opciones que se presenta a continuación:

Usar Aposito Hidrofílico

Aplicar una capa de Aposito Hidrofílico a la superficie completa del fondo de la herida.

Cubrir con un vendaje secundario adecuado y seguro.

Cambiar diariamente o como indique el profesional tratante.

Usar Aposito Hidrofílico

Colocar Aposito Hidrofílico.

Cubrir con un vendaje secundario adecuado y seguro.

Cambiar una vez al día o como indique el profesional tratante.

Revalorar periódicamente y/o cuando cambien las condiciones de la herida.

Eliminar los factores causantes de la lesión (presión, fricción y tensión).

Evaluar el estado nutricional del paciente y tomar las decisiones adecuadas según sea necesario.

#### PROTOCOLO # 2

Para el manejo de úlceras por presión en Etapa II con abundante exudado

#### PRESENTACION DEL PROBLEMA

Paciente que presenta una pérdida parcial del espesor de la piel involucrando la epidermis y la dermis. La úlcera es superficial y se observa como una abrasión, ampolla o cráter poco profundo con abundante exudado.

#### PROTOCOLO DE TRATAMIENTO

Realizar la limpieza según preferencia o recomendación del profesional tratante.

Colocar en el área afectada crema humectante.

Usar un Vendaje de Alginato

Seleccionar el tamaño adecuado del vendaje de Alginato.

Seleccionar el de fibra torcida si hay presencia de túneles o cavidades.

Cubrir con un vendaje secundario adecuado y seguro.

Cambiar diariamente, cuando esté sucia o cuando indique el profesional tratante.  
Un drenaje con mal olor y/o purulento puede indicar infección por lo que se debe informar al profesional tratante.  
Cuando el drenaje disminuya use el Aposito Hidrofílico.  
Eliminar los factores causantes:  
Presión, fricción y tensión.  
Postración: Establecer por escrito el horario de reposicionar al paciente. Si es posible evitar mover al paciente hacia el área comprometida.  
Posición Sentado: Si el paciente es capaz, debe cambiar la posición cada 15 minutos para distribuir el peso del cuerpo, de otra manera se debe reposicionar cada hora.  
Utilizar dispositivos de posicionamiento para mantener los talones fuera de la cama y prevenir el contacto directo con las prominencias óseas.  
Usar dispositivos o técnicas para facilitar el movimiento del paciente.  
Mantener la cabecera de la cama al menor grado de elevación posible de acuerdo a la condición médica del paciente.  
Evitar la maceración disminuyendo la exposición del paciente a los residuos del cuerpo como por ejemplo la incontinencia urinaria o fecal.  
Evaluar el estado nutricional del paciente y tomar decisiones adecuadas según sea necesario.

### **PROTOCOLO # 3**

Para el manejo de úlceras por presión en Etapa III y IV con exudado mínimo

#### **PRESENTACION DEL PROBLEMA**

Paciente con pérdida total del espesor de la piel y destrucción extensiva, tejido necrótico o daño a los músculos, huesos o estructuras de apoyo.

#### **PROTOCOLO DE TRATAMIENTO**

Realizar la limpieza según preferencia o recomendación del profesional tratante.

Colocar en el área afectada crema humectante.

Seleccionar una de las opciones que se presenta a continuación:

Usar Aposito Hidrofílico

Aplicar una capa de Aposito Hidrofílico a la superficie completa del fondo de la herida.

Cubrir con un vendaje secundario adecuado y seguro.

Cambiar diariamente o como indique el profesional tratante.

Usar Aposito Hidrofílico

Colocar Aposito Hidrofílico.

Cubrir con un vendaje secundario adecuado y seguro.

Cambiar una vez al día o como indique el profesional tratante.

Revalorar periódicamente y/o cuando cambien las condiciones de la lesión.

Eliminar los factores causantes:

Presión, fricción y tensión.

Postración: Establecer por escrito el horario de reposicionar al paciente. Si es posible evitar mover al paciente hacia el área comprometida.

Posición Sentado: Si el paciente es capaz, debe cambiar la posición cada 15 minutos para distribuir el peso del cuerpo, de otra manera se debe reposicionar cada hora.

Utilizar dispositivos de posicionamiento para mantener los talones fuera de la cama y prevenir el contacto directo con las prominencias óseas.

Usar dispositivos o técnicas para facilitar el movimiento del paciente.

Mantener la cabecera de la cama al menor grado de elevación posible de acuerdo a la condición médica del paciente.

Evitar la maceración disminuyendo la exposición del paciente a los residuos del cuerpo como por ejemplo la incontinencia urinaria o fecal necesaria.

Evaluar el estado nutricional del paciente y tomar decisiones adecuadas según sea necesario.



#### **PROTOCOLO # 4**

Para el manejo de las úlceras por presión en Etapa III y IV con abundante exudado

##### **PRESENTACION DEL PROBLEMA**

Paciente con pérdida total del espesor de la piel y destrucción extensa, tejido necrótico o daño a los músculos, huesos o estructuras de apoyo con abundante exudado.

##### **PROTOCOLO DE TRATAMIENTO**

Realizar la limpieza según preferencia o recomendación del profesional tratante.

Colocar en el área afectada crema humectante.

Usar un Vendaje de Alginato

Seleccionar el tamaño adecuado del vendaje de Alginato.

Seleccionar el de fibra torcida si hay presencia de túneles o cavidades.

Cubrir con un vendaje secundario adecuado y seguro.

Cambiar diariamente, cuando esté sucia o cuando indique el profesional tratante.

Un drenaje con mal olor y/o purulento puede indicar infección por lo que se debe informar al profesional tratante.

Cuando el vendaje disminuya utilizar Aposito Hidrofílico.

Revalorar periódicamente y/o cuando cambien las condiciones de la lesión.

Eliminar los factores causantes:

Presión, fricción y tensión.

Postración: Establecer por escrito el horario de reposicionar al paciente. Si es posible evitar mover al paciente hacia el área comprometida.

Posición Sentado: Si el paciente es capaz, debe cambiar la posición cada 15 minutos para distribuir el peso del cuerpo, de otra manera se debe reposicionar cada hora.

Utilizar dispositivos de posicionamiento para mantener los talones fuera de la cama y prevenir el contacto directo con las prominencias óseas.

Usar dispositivos o técnicas para facilitar el movimiento del paciente.

Mantener la cabecera de la cama al menor grado de elevación posible de acuerdo a la condición médica del paciente.

Evitar la maceración disminuyendo la exposición del paciente a los residuos del cuerpo como por ejemplo la incontinencia urinaria o fecal.

Evaluar el estado nutricional del paciente y tomar decisiones adecuadas según sea necesario.

#### **PROTOCOLO # 5**

Para el manejo de heridas de espesor parcial y exudado mínimo.

##### **PRESENTACION DEL PROBLEMA**

Paciente con una herida abierta y mínimo exudado.

##### **PROTOCOLO DE TRATAMIENTO**

Realizar la limpieza según preferencia o recomendación del profesional tratante.

Colocar en el área afectada crema humectante.

Seleccionar una de las opciones que se presenta a continuación:

Usar Aposito Hidrofílico

Aplicar una capa de Aposito Hidrofílico a la superficie completa del fondo de la herida.

Cubrir con un vendaje secundario adecuado y seguro.

Cambiar diariamente o como indique el profesional tratante.

Usar Aposito Hidrofílico

Utilizar Aposito Hidrofílico.

Cubrir con un vendaje secundario adecuado y seguro.

Cambiar una vez al día o como indique el profesional tratante.

Evaluar semanalmente y/o cuando cambien las condiciones de la lesión.

Evaluar el estado nutricional del paciente y tomar decisiones adecuadas según sea necesario.

## **PROTOCOLO # 6**

Para el manejo de heridas de espesor parcial o completo y exudado abundante.

### **PRESENTACION DEL PROBLEMA**

Paciente con una pérdida del espesor de la piel que presenta un drenaje de moderado a abundante.

### **PROTOCOLO DE TRATAMIENTO**

Realizar la limpieza según preferencia o recomendación del profesional tratante.

Colocar en el área afectada crema humectante.

Usar un Vendaje de Alginato

Seleccionar el tamaño adecuado del vendaje de Alginato. Seleccionar el de fibra torcida si hay presencia de túneles o cavidades.

Cubrir con un vendaje secundario adecuado y seguro.

Cambiar diariamente, cuando esté sucia o cuando indique el profesional tratante.

\* Un drenaje con mal olor y/o purulento puede indicar infección por lo que se debe informar al profesional tratante.

Cuando el drenaje disminuya, usar Aposito hidrofílico.

Evaluar el estado nutricional del paciente y tomar decisiones adecuadas según sea necesario.

## **PROTOCOLO # 7**

Para el manejo de una incisión post-quirúrgica

### **PRESENTACION DEL PROBLEMA**

Paciente que presenta una incisión post-quirúrgica.

### **PROTOCOLO DE TRATAMIENTO**

Realizar la limpieza según preferencia o recomendación del profesional tratante.

Colocar en el área afectada crema humectante.

Seleccionar una de las opciones que se presenta a continuación:

Herida no infectada, usar crema humectante

Aplicar una capa de crema humectante a la superficie completa de la herida.

Cubrir con un vendaje secundario adecuado y seguro.

Cambiar diariamente o como indique el profesional tratante.

Herida infectada, usar Aposito Hidrofílico

Colocar Aposito Hidrofílico

Cubrir con un vendaje secundario adecuado y seguro.

Cambiar una vez al día o como indique el profesional tratante.

\* Un drenaje oloroso y/o purulento puede indicar infección por lo que se debe informar al profesional tratante.

Evaluar el estado nutricional del paciente y tomar decisiones adecuadas según sea necesario.

## **PROTOCOLO # 8**

Para el manejo de úlceras venenosas con un exudado mínimo

### **PRESENTACION DEL PROBLEMA**

Paciente que presenta una úlcera venenosa en la pierna.

### **PROTOCOLO DE TRATAMIENTO**

Realizar la limpieza según preferencia o recomendación del profesional tratante.

Colocar en el área afectada crema humectante.

Usar Aposito Hidrofílico

Aplicar Aposito Hidrofílico

Cubrir con un vendaje secundario adecuado y seguro en el lugar.

Cambiar una vez al día o como indique el profesional tratante.  
Para ayudar a disminuir el edema en las extremidades inferiores:  
Eleva las piernas cuando el paciente esté sentado.  
Mantener las extremidades inferiores en alto durante la noche.  
Disminuir el tiempo sentado.  
No caminar durante periodos prolongados.  
No utilizar medias que produzcan presión sobre la extremidad.

**Precauciones:**

No usar terapia compresiva si la herida está infectada o si hay componentes arteriales.  
Si la herida presenta un exudado abundante usar un vendaje de Alginato y el protocolo para exudado abundante. Puede usar Aposito Hidrofílico o vendaje de Alginato bajo terapia compresiva.  
Puede usar crema humectante en el perímetro de la herida para tratar los síntomas de dermatitis.  
Evaluar el estado nutricional del paciente y tomar decisiones adecuadas según sea necesario.

**PROTOCOLO # 9**

Para el manejo de la úlcera de pie diabético con exudado mínimo

**PRESENTACION DEL PROBLEMA**

Paciente que presenta úlcera de pie diabético con exudado mínimo.

**PROTOCOLO DE TRATAMIENTO**

Realizar la limpieza según preferencia o recomendación del profesional tratante.  
Colocar en el área afectada crema humectante.  
Usar Aposito Hidrofílico  
Aplicar Aposito Hidrofílico  
Cubrir con un vendaje secundario adecuado y seguro.  
Cambiar una vez al día o como indique el profesional tratante.  
Consejos para el cuidado del pie  
No remojar los pies.  
No usar cinta adhesiva en los pies (curitas).  
Inspeccionar los pies diariamente, buscando: ampollas, cortaduras o grietas. En caso de dificultad utilizar un espejo para ayudarse.  
Mantener el pie humectado pero no colocar humectante entre los dedos.  
Lavar los pies diariamente.  
Secar cuidadosamente entre los dedos.  
No permitir al paciente caminar con los pies descalzos o ponerse zapatos sin medias.  
No usar parches o bolsas de agua caliente en los pies.  
No usar agentes químicos para remover callos o rugosidades.  
Si el paciente es ambulatorio, preferiblemente utilizar calzado terapéutico.  
\* Un drenaje oloroso y/o purulento puede indicar infección por lo que se debe informar al profesional tratante.  
Evaluar el estado nutricional del paciente y tomar decisiones adecuadas según sea necesario.

**PROTOCOLO # 10**

Para el manejo de las úlceras arteriales abiertas no infectadas y con exudado mínimo

**PRESENTACION DEL PROBLEMA**

Paciente con una úlcera arterial abierta no infectada con exudado mínimo.

**PROTOCOLO DE TRATAMIENTO**

Realizar la limpieza según preferencia o recomendación del profesional tratante.  
Aplicar en el área afectada crema humectante.  
Seleccionar una de las opciones que se presenta a continuación:

Usar Aposito Hidrofílico  
Aplicar Aposito Hidrofílico  
Cubrir con un vendaje secundario adecuado y seguro.

Cambiar una vez al día o como indique el profesional tratante

Usar Aposito Hidrofílico

Aplicar una capa de Aposito Hidrofílico a la superficie completa de la herida.

Cubrir con un vendaje secundario adecuado y seguro.

Cambiar diariamente o como indique el profesional tratante.

Evitar la compresión

Realizar diariamente una evaluación de la herida.

Evaluar el estado nutricional del paciente y tomar decisiones adecuadas según sea necesario.

#### **PROTOCOLO # 11**

Para el manejo de heridas necróticas con un exudado mínimo

##### **PRESENTACION DEL PROBLEMA**

Paciente con lesión necrótica con exudado mínimo.

##### **PROTOCOLO DE TRATAMIENTO**

Realizar la limpieza según preferencia o recomendación del profesional tratante.

Aplicar en el área afectada crema humectante.

Obtener el criterio del médico tratante o considerar una debridación aguda del tejido necrótico.

Tratamiento para la estimulación de la debridación autolítica o post debridación.

Usar Aposito Hidrofílico

Aplicar Aposito Hidrofílico

Cubrir con un vendaje secundario adecuado y seguro.

Cambiar una vez al día o como indique el profesional tratante

Evaluar diariamente los signos o síntomas de infección.

Evaluar el estado nutricional del paciente y tomar decisiones adecuadas según sea necesario.

#### **PROTOCOLO # 12**

Para el manejo de piel agrietada o con resequead extrema.

##### **PRESENTACION DEL PROBLEMA**

Paciente con piel agrietada o con resequead extrema.

##### **PROTOCOLO DE TRATAMIENTO**

Realizar la limpieza según preferencia o recomendación del profesional tratante.

Colocar en el área afectada crema humectante.

Usar crema humectante

Aplicar una capa de crema humectante a la superficie agrietada o con resequead.

Cubrir con un vendaje secundario adecuado y seguro.

Cambiar el mismo diariamente o como indique el profesional tratante.

Evaluar el estado nutricional del paciente y tomar decisiones adecuadas según sea necesario.

## ANEXO 7 DOCUMENTOS ENTREGADOS AL CENDEISS

Se incluyen las portadas de cada uno de los documentos presentados a CENDEISS. Una vez que se reciba noticia de la aprobación se entregará una copia completa de los documentos a la VIE, considerando la posibilidad de que haya que realizar correcciones.



CAJA COSTARRICENSE DE SEGURO SOCIAL  
Centro de Desarrollo Estratégico e Información  
en Salud y Seguridad Social  
Área de Bioética  
Subárea de Bioética en Investigación  
Teléfono: (506)2-519-3044  
[www.cendeiss.sa.cr](http://www.cendeiss.sa.cr)

Para uso administrativo

### FORMULARIO AP-I SOLICITUD DE REVISIÓN DE PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

<b>Título del proyecto:</b> "Consolidación de un sistema de producción <i>in vitro</i> de piel humana para pacientes en Costa Rica con diversas afecciones cutáneas"	
<b>Nombre del investigador principal:</b> Miguel Rojas Chávez	Grado académico: PhD
Número de cédula: 4-118-924	Número de investigaciones dirigidas: 8
Lugar de Trabajo: Instituto Tecnológico de Costa Rica, Escuela de Biología	
Dirección:	Santa Lucía, Barba de Heredia
Teléfono: 2-550-2285	Correo electrónico: <a href="mailto:mirojas@itcr.ac.cr">mirojas@itcr.ac.cr</a>
Fax: 2-550-2700	Beeper:

<b>Nombre del subinvestigador del protocolo:</b> Silvana Alvarenga Venutolo	Grado académico: Maestría
Lugar de trabajo: Instituto Tecnológico de Costa Rica	
Dirección:	Barrio Los Ángeles, Cartago
Teléfono: 8-893-4025	Correo electrónico: <a href="mailto:salvarenga@itcr.ac.cr">salvarenga@itcr.ac.cr</a>
Fax: 2-550-2700	Beeper:

<b>Nombre del subinvestigador del protocolo:</b> Mario Sancho Torres	Grado académico: Doctorado
Lugar de trabajo: Hospital Nacional de Niños	

INICIALES IP \_\_\_\_\_



**CAJA COSTARRICENSE DE SEGURO SOCIAL**  
**Centro de Desarrollo Estratégico e Información**  
**en Salud y Seguridad Social**  
**Área de Bioética**  
**Subárea de Bioética en Investigación**  
**Teléfono: (506) 2-519-3044**  
[www.cendeisss.sa.cr](http://www.cendeisss.sa.cr)

Para uso administrativo

**FORMULARIO AP-II**  
**RESUMEN DE LA PROPUESTA DE INVESTIGACIÓN INTERVENCIÓN**

Título del estudio:	Proyecto de Cooperación Técnica para la Implementación de un Sistema de Producción de Piel Humana <i>In Vitro</i> para Mejorar la Recuperación de Pacientes con Afecciones Cutáneas en Costa Rica.
Entidades participantes:	Instituto Tecnológico de Costa Rica Hospital Nacional de Niños Hospital San Juan de Dios Hospital México
Investigador principal:	Miguel Rojas Chávez, Ph.D.
Centro asistencial donde se realizará el estudio:	Hospital Nacional de Niños Hospital San Juan de Dios Hospital México
Justificación de la importancia del estudio:	En este momento Costa Rica no cuenta con un material para el tratamiento de pacientes con afecciones epidérmicas que permita una verdadera reepitelización y una rápida y efectiva recuperación. Ejemplo de lo anterior, son los traslados de niños quemados al Centro Médico de Galveston, Texas, los cuales podrían tratarse en el país si existiese un programa para la producción y trasplante de células epidérmicas. Los pacientes adultos, tienen aún una menor posibilidad de recibir tratamiento en el exterior, así pues los beneficiados directos de este proyecto serían los pacientes de diversos centros hospitalarios de la Caja Costarricense de Seguro Social. El cultivo de células epidérmicas se realiza con éxito en otros centros de investigación y empresas biomédicas, no solo a nivel de investigación, sino de producción comercial (Falanga & Sabolinsk 1999, Fraunhofer Institute, 2003). Básicamente, consiste en cultivar queratinocitos, que son las células más externas de la piel, sobre una base de fibroblastos 3T3 irradiados con Rayos Gamma, para posteriormente injertar estas células al mismo paciente. Si se produce e injerta un cultivo celular de la piel humana a pacientes que sufren afecciones epidérmicas, su recuperación sería más rápida y efectiva, lo que incidiría en mejorar su calidad de vida y en la disminución de costos hospitalarios.
Pregunta de investigación o hipótesis:	Disminución de la morbilidad, reducción de los costos hospitalarios y mejoramiento de la calidad de vida en pacientes con quemaduras o úlceras sometidos a la aplicación de células autólogas cutáneas cultivadas <i>in vitro</i> .
Objetivos:	Contribuir con la disminución de la morbilidad y promover el mejoramiento de la calidad de vida de pacientes que sufren pérdidas cutáneas en Costa Rica. Desarrollar el protocolo de producción <i>in vitro</i> de queratinocitos y fibroblastos. Mejorar el tratamiento de pacientes con diversas patologías cutáneas.



CAJA COSTARRICENSE DE SEGURO SOCIAL  
Centro de Desarrollo Estratégico e Información  
en Salud y Seguridad Social  
Área de Bioética  
Subárea de Bioética en Investigación  
Teléfono: (506)2-519-3044  
[www.cendeisss.sa.cr](http://www.cendeisss.sa.cr)

Para uso administrativo

## FORMULARIO AP-III REQUISITOS DEL PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

**TITULO DEL PROYECTO:** Proyecto de Cooperación Técnica para la Implementación de un Sistema de Producción de Piel Humana *in vitro* para Mejorar la Recuperación de Pacientes con Afecciones Cutáneas en Costa Rica.

### 1. INTRODUCCIÓN

#### 1. Antecedentes

En el año 1950, Billingham logró la separación enzimática de la epidermis y la dermis utilizando tripsina sin destruir la viabilidad de las células epiteliales. A inicios de 1960, Karasek demostró que los queratinocitos pueden sobrevivir en cultivo de tejidos y en 1975 Rheinwald y Green publicaron un trabajo sobre el crecimiento y la proliferación de células cutáneas *in vitro*, a partir del cual lograron desarrollar un epitelio trasplantable (Brychta *et al.*, 1994).

En la actualidad, el paciente al cual se le realiza un injerto de piel experimenta una revolución en el contexto del proceso de cicatrización de sus heridas gracias a las técnicas de ingeniería de tejidos. Se han realizado muchos esfuerzos para desarrollar "sustitutos de piel" sin necesidad de donantes y que permitan aumentar la disponibilidad de piel para injertar en caso de emergencias (quemaduras masivas). Hasta ahora, la compleja estructura de la piel no se ha podido reconstruir, pero se han producido equivalentes monocapa o multicapa (técnica de sándwich). La monocapa más simple es equivalente a una hoja o a una suspensión de queratinocitos autólogos (Herner *et al.*, 2005). Estas capas de queratinocitos cultivados *in Vitro* permiten hoy en día que las heridas sanen mucho más rápido (Herner *et al.*, 2005).

Los queratinocitos autólogos cultivados *in Vitro* han sido utilizados exitosamente durante más de 30 años, aunque se necesitan tres semanas para producir el tejido de los pacientes. En todo caso, tiene la ventaja de que el tratamiento es más exitoso debido a que actúa como apósitos biológicamente activos, interactuando con las células en el lecho de la herida, promoviendo la liberación de citoquinas y factores mitogénicos que aceleran el proceso de cicatrización y la reepitelización ocurre de una manera más natural (Herner *et al.*, 2005; Svensjo *et al.*, 2001).

El cultivo de queratinocitos ha sido exitoso y se estableció utilizando cocultivos con células tales como los fibroblastos y en la actualidad se aplica el uso extensivo de una línea de fibroblastos murinos (células 3T3). Estos fibroblastos, que sirven como fuente de nutrientes al tiempo que favorecen la sobrevivencia de los queratinocitos, posibilitan el subcultivo, ya que proveen estímulos biológicos (factores de crecimiento) que permiten la expansión del tejido celular y promueven la proliferación basal así como la diferenciación celular (Rheinwald y Green, 1975). Además, al tener presentes tipos celulares proliferativos y diferenciales, disminuyen la contaminación por otras células (Barrandon y Green, 1985). Otra ventaja del uso de esta técnica es que favorece su aplicación, en el cultivo de otros epitelios, dado que estos cultivos también son injertables en seres humanos (Clancy *et al.*, 1988).

Estudios más recientes han llegado a establecer que los queratinocitos cultivados, pierden su capacidad antigénica, razón por la cual el posible fenómeno de rechazo no ocurre. El no rechazo se ha evidenciado por la pérdida casi o total de los complejos de histocompatibilidad de tipo II y I, apoyando la posibilidad de que las láminas y geles producidos en el laboratorio sean exitosamente aplicadas (García *et al.*, 2000).



CAJA COSTARRICENSE DE SEGURO SOCIAL  
 Centro de Desarrollo Estratégico e Información  
 en Salud y Seguridad Social  
 Área de Bioética  
 Subárea de Bioética en Investigación  
 Teléfono: (506)2-519-3044  
[www.cendeiss.sa.cr](http://www.cendeiss.sa.cr)

Para uso administrativo

**FORMULARIO AP-IV  
 PRUEBAS DE LABORATORIO A UTILIZAR EN EL ESTUDIO**

**Título del estudio:** Proyecto de Cooperación Técnica para la Implementación de un Sistema de Producción de Piel Humana In Vitro para Mejorar la Recuperación de Pacientes con Afecciones Epidérmicas en Costa Rica.

**Nombre del investigador principal:** Miguel Rojas Chávez, PhD.

Nombre de la prueba	Nombre del laboratorio donde se analizarán las pruebas (si el laboratorio no es parte de la CCSS, agregue la dirección y el teléfono)	Número de veces por sujeto que el estudio requiere que se realice la prueba	Número total de participantes propuestos en el estudio	Costo total presupuestado por prueba
HIV	Laboratorio Clínico, HNN Laboratorio Clínico, HSJD Laboratorio Clínico, HMEC	1	7 7 6	( $€3529 \times 7$ )=24703 ( $€3529 \times 7$ )= 24703 ( $€3529 \times 6$ )=21177 Subtotal $€$ 70580
Hepatitis B y C	Laboratorio Clínico, HNN Laboratorio Clínico, HSJD Laboratorio Clínico, HMEC	1	7 7 6	( $€3529 \times 7$ )=24703 ( $€3529 \times 7$ )= 24703 ( $€3529 \times 6$ )=21177 Subtotal $€$ 70580
Hemograma completo	Laboratorio Clínico, HNN Laboratorio Clínico, HSJD Laboratorio Clínico, HMEC	1	7 7 6	( $5041 \times 7$ )=35287 ( $5041 \times 7$ )= 35287 ( $5041 \times 6$ )=30246 Subtotal $€$ 100820
Pruebas de función Hepática y renal	Laboratorio Clínico, HNN Laboratorio Clínico, HSJD Laboratorio Clínico, HMEC	1	7 7 6	( $16635 \times 7$ )=111645 ( $16635 \times 7$ )= 111645 ( $16635 \times 6$ )=99810 Subtotal $€$ 332700
Perfil metabólico	Laboratorio Clínico, HNN Laboratorio Clínico, HSJD Laboratorio Clínico, HMEC	1	7 7 6	( $10082 \times 7$ )=70574 ( $10082 \times 7$ )=70574 ( $10082 \times 6$ )=60492 Subtotal $€$ 201640
Orina general	Laboratorio Clínico, HNN Laboratorio Clínico, HSJD Laboratorio Clínico, HMEC	1	7 7 6	( $2806 \times 7$ )=19642 ( $2806 \times 7$ )= 19642 ( $2806 \times 6$ )=16836 Subtotal $€$ 56120





**CAJA COSTARRICENSE DE SEGURO SOCIAL**  
 Centro de Desarrollo Estratégico e Información  
 en Salud y Seguridad Social  
 Área de Bioética  
 Subárea de Bioética en Investigación  
 Teléfono: (506) 2-519-3044  
[www.cendeisss.sa.cr](http://www.cendeisss.sa.cr)

PERIODO  
ESTABLECIDO

De: 01/06/2008

Hasta: 12/12/2011

**FORMULARIO AP-V**  
**PRESUPUESTO INICIAL (Intervencional)**

**Título del estudio: Proyecto de Cooperación Técnica para la Implementación de un Sistema de Producción de Piel Humana *in vitro* para Mejorar la Recuperación de Pacientes con Afecciones Cutáneas en Costa Rica**

**Nombre del investigador principal: Miguel Rojas Chaves**

**Nombre del centro asistencial: HNN, HSJD y MEX**

Equipo Investigador		Número de veces que atiende al participante	Salario en su institución	Remuneración por realizar el estudio		
Nombre	Función en el estudio			Salarios	Otros Beneficios <sup>1</sup>	Total
Miguel Rojas	Investigador principal, ITCR	Ninguna	1.000.000	NA	NA	NA
Silvana Alvarenga	Investigador, ITCR	Ninguna	1.200.000	NA	NA	NA
Carolina Centeno	Investigador, ITCR	Ninguna		NA	NA	NA
Laura Calvo	Investigador, ITCR	Ninguna		NA	NA	NA
Marta Martínez	Investigador, ITCR	Ninguna		NA	NA	NA
Mario Sancho	Médico HNN	Rutina	1.100.000	NA	NA	NA
Patricia Venegas	Microbiólogo HNN	Ninguna		NA	NA	NA
Carlos Siri	Médico HNN	Rutina	1.100.000	NA	NA	NA
Yaneth Prada	Médico HSJD	Rutina		NA	NA	NA
Gilberto Reyna	Médico HSJD	Rutina		-	-	-
Gisella Fonseca	Médico HSJD	Rutina		-	-	-
Hugo Recinos	Radio-oncólogo HSJD	Ninguna		-	-	-
Marín Rodríguez	Físico-médico HSJD	Ninguna		-	-	-
Benjamín Hidalgo	Médico, HMEX	Rutina		-	-	-
						-

<sup>1</sup>Otros beneficios económicos o en especie que reciben el investigador o sus colaboradores por realizar el estudio.