

NOTA IMPORTANTE:

La entidad sólo puede hacer uso de esta norma para si misma, por lo que este documento NO puede ser reproducido, ni almacenado, ni transmitido, en forma electrónica, fotocopia, grabación o cualquier otra tecnología, fuera de su propio marco.

ININ/ Oficina Nacional de Normalización

NORMA CUBANA

NC

NC-ISO 10993-7: 2005
(Publicada por la ISO, 1995)

**EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE LOS EQUIPOS MÉDICOS—
PARTE 7: RESIDUOS DE LA ESTERILIZACIÓN POR ÓXIDO
DE ETILENO
(ISO 10993-7:1995, IDT)**

**Biological evaluation of medical devices—Part 7: Ethylene oxide
sterilization residuals**

ICS: 11.040; 11.100

1. Edición Octubre 2005
REPRODUCCIÓN PROHIBIDA

Oficina Nacional de Normalización Calle E No. 261 Vedado, Ciudad de La Habana.
Cuba. Teléfono: 830-0835 Fax: (537) 836-8048 Correo electrónico: nc@ncnorma.cu



Cuban National Bureau of Standards

Prefacio

La Oficina Nacional de Normalización (NC), es el Organismo Nacional de Normalización de la República de Cuba que representa al país ante las Organizaciones Internacionales y Regionales de Normalización.

La preparación de las Normas Cubanas se realiza generalmente a través de los Comités Técnicos de Normalización. La aprobación de las Normas Cubanas es competencia de la Oficina Nacional de Normalización y se basa en evidencia de consenso.

Esta Norma Cubana:

- Ha sido revisada y adoptada por el Comité Técnico de Normalización No. 11 de Equipos Médicos.
- El Comité Técnico de Normalización No. 11 de Equipos Médicos está representado por las siguientes instituciones:
 - Centro de Control Estatal de Equipos Médicos
 - Centro para el Control Estatal de la Calidad de Medicamentos
 - Grupo Nacional de Anestesiología
 - Grupo Nacional de Estomatología
 - Grupo Nacional de Cirugía
 - Grupo Nacional de Cirugía Plástica
 - Centro Nacional de Electromedicina
 - Instituto de Investigaciones en Normalización
 - Instituto de Investigaciones en Metrología
 - Instituto Central de Investigación Digital
 - Comisión Asesora de Equipos Médicos
 - Centro Nacional de Toxicología
 - Hospital William Soler
 - Red Funcional de Implantología
 - Centro de Biomateriales
 - Complejo Ortopédico "Frank País"
 - Oficina Nacional de Normalización
 - Centro Nacional de Investigaciones Científicas
 - MEDICUBA
 - Ministerio de Informática y las Comunicaciones

© NC, 2005

Todos los derechos reservados. A menos que se especifique, ninguna parte de esta publicación podrá ser reproducida o utilizada en alguna forma o por medios electrónicos o mecánicos, incluyendo las fotocopias, fotografías y microfilmes, sin el permiso escrito previo de:

Oficina Nacional de Normalización (NC)

Calle E No. 261, Vedado, Ciudad de La Habana, Habana 4, Cuba.

Impreso en Cuba.

ANTECEDENTES

El texto de la norma internacional del Comité Técnico ISO/TC 194 "Evaluación Biológica de los Equipos Médicos" de la Organización Internacional de Normalización (ISO), ha sido adoptado como Norma Cubana por el Comité Técnico Normalización # 11 "Equipos Médicos", cuya Secretaría desempeña el CCEEM

La Norma ISO 10993 comprende las partes siguientes, bajo el título general de "Evaluación biológica de los equipos médicos".

- Parte 1: Evaluación y Ensayos.
- Parte 2: Requerimientos para el bienestar de los animales.
- Parte 3: Ensayos de genotoxicidad, carcinogenicidad y toxicidad reproductiva.
- Parte 4: Selección de ensayos de interacciones con la sangre.
- Parte 5: Ensayos de Citotoxicidad: métodos "in vitro".
- Parte 6: Ensayos de efectos locales después de la implantación.
- Parte 7: Residuales de esterilización con óxido de etileno.
- Parte 8: Selección y calificación de los materiales de referencia para los ensayos biológicos.
- Parte 9: Sistema para la identificación y cuantificación de equipos de degradación potenciales.
- Parte 10: Ensayos de irritación e hipersensibilidad retardada.
- Parte 11: Ensayos de la toxicidad sistémica.
- Parte 12: Preparación de muestras y materiales de referencia.
- Parte 13: Identificación y cuantificación de equipos de degradación de polímeros.
- Parte 14: Identificación y cuantificación de equipos de degradación de cerámicas.
- Parte 15: Identificación y cuantificación de equipos de degradación de metales y aleaciones.
- Parte 16: Diseño de estudio toxicocinético para equipos de degradación y lixiviables.
- Parte 17: Residuos de glutaraldehído y de formaldehído en los equipos médicos esterilizados industrialmente
- Parte 18: Caracterización química de los materiales.

Partes posteriores de esta norma tratarán de otros aspectos de los ensayos biológicos.

Los anexos A y B son parte integrante de esta Parte de la ISO 10993. Los anexos C, D, E y F se dan únicamente a título informativo.

NOTA: Las referencias normativas a las publicaciones internacionales se citan en el anexo ZA (normativo).

Índice

	Página
1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN	6
2. NORMÁS PARA CONSULTA	6
3. DEFINICIONES.	6
4. REQUISITOS	7
4.1 Generalidades	7
4.2 Clasificación de los equipos	7
4.3 Límites admisibles	8
4.3.1 Equipos de contacto permanente	8
4.3.2 Equipos de exposición prolongada	9
4.3.3 Equipos de exposición limitada	9
4.3.4 Situaciones especiales	9
4.4 Determinación de la concentración residual de OE y ECH	9
4.4.1 Consideraciones de seguridad	10
4.4.2 Determinación del residuo	10
4.4.3 Obtención de muestras del equipo	11
4.4.4 Relaciones masa de muestra/volumen de fluido extractor	12
4.4.5 Tiempo y condiciones de extracción	12
4.4.6 Extracción del equipo	12
4.4.7 Análisis e interpretación de los datos	15
5. COMERCIALIZACIÓN DEL EQUIPO	17
5.1 Comercialización de los equipos en ausencia de los datos de las curvas de disipación	17
5.2 Procedimiento que permite comercializar el equipo, utilizando las curvas de disipación de los residuos	17

ANEXO A (Normativo) – Evaluación de los resultados de la cromatografía en fase gaseosa (cromatogramas)	20
ANEXO B (Normativo) - Determinación por cromatografía en fase gaseosa de OE y ECH	24
ANEXO C (Informativo) - Factores que influyen los residuos de esterilización del equipo	39
ANEXO D (Informativo) — Condiciones de extracción para la determinación de OE residual	41
ANEXO E (Informativo) — JUSTIFICACIÓN	42
ANEXO F (Informativo) — BIBLIOGRAFÍA	60
ANEXO ZA (Normativo) - Relación de las publicaciones internacionales con las publicaciones europeas correspondientes	67
ANEXO NACIONAL (Normativo)	68

**EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE LOS EQUIPOS MÉDICOS—
PARTE 7: RESIDUOS DE LA ESTERILIZACIÓN POR ÓXIDO DE ETILENO**

1 Objeto y campo de aplicación

Esta Parte de la Norma ISO 10993 especifica los límites permisibles de óxido de etileno (OE) y etilenclorohidrina (ECH), que como residuos de esterilización se encuentran en los equipos médicos individuales esterilizados con OE, así como los procedimientos para la medición de OE y ECH, y los métodos para determinar la conformidad de los equipos para que éstos puedan comercializarse. Se incluye también documentación y directrices suplementarias en anexos informativos.

Esta Norma Internacional no es aplicable a los equipos esterilizados con OE que no entran en contacto con el paciente (por ejemplo, los equipos para diagnóstico in vitro).

2 Normas para consulta

Las normas que a continuación se relacionan contienen disposiciones válidas para esta Norma Internacional. En el momento de la publicación las ediciones indicadas estaban en vigor. Toda norma está sujeta a revisión por lo que las partes que basen sus acuerdos en esta Norma Internacional deben estudiar la posibilidad de aplicar la edición más reciente de las normas indicadas a continuación. Los miembros de CEI y de ISO poseen el registro de las Normas Internacionales en vigor en cada momento.

ISO 10993-1:2003— Evaluación biológica de equipos médicos. Parte 1: Evaluación y ensayo.

ISO 10993-3:2003— Evaluación biológica de equipos médicos. Parte 3: Ensayos de genotoxicidad, carcinogenicidad y toxicidad sobre la reproducción.

ISO 10993-10:2002— Evaluación biológica de equipos médicos. Parte 10: Ensayos de irritación y de hipersensibilidad de tipo retardado.

3 Definiciones

A efectos de esta Parte de la Norma ISO 10993, son aplicables las definiciones dadas en la Norma ISO 10993-1 y las definiciones que se enumeran a continuación.

3.1 extracción con simulación de utilización: La extracción para demostrar la conformidad con los requisitos de esta parte de la Norma ISO 10993, mediante la evaluación de los niveles residuales aceptables para el paciente o el usuario, provenientes de un equipo durante la utilización de rutina del mismo, por medio de un método de extracción que utiliza el agua para simular la utilización del equipo.

NOTA 1: La carga de la validación sobre el laboratorio encargado del análisis es demostrar que la extracción con simulación de utilización se lleva a cabo bajo las condiciones más adversas que ponen a prueba la utilización a la que el equipo se destina. La simulación de la utilización del equipo debería llevarse a cabo

suponiendo que se asigna al equipo la clasificación más exigente probable para la duración de la exposición, y debería tenerse en cuenta tanto el (los) tejido(s) expuesto(s) como la temperatura de exposición.

3.2 extracción exhaustiva: La extracción necesaria para que la cantidad de OE o ECH presente en una extracción ulterior sea inferior al 10% de la detectada en la primera extracción, o hasta que no exista un aumento analíticamente significativo de los niveles acumulados residuales detectados.

NOTA 2: Dado que no es posible demostrar la naturaleza exhaustiva de la recuperación de los residuos, la definición de extracción exhaustiva adoptada es la expresada en el párrafo anterior.

4 Requisitos

NOTA 3: En los anexos informativos se encuentra información sobre la estimación de los límites en esta Parte de la Norma ISO 10993, así como otras indicaciones fundamentales y directrices relacionadas con la utilización de esta Parte de la Norma ISO 10993.

4.1 Generalidades

Este apartado especifica los residuos máximos permisibles de OE para cada equipo médico individual esterilizado con OE. Se especifican también los residuos máximos permisibles de ECH que pueden estar presentes en los equipos médicos esterilizados con OE.

Los límites de exposición para el etilenglicol (EG) no se especifican, porque la evaluación del riesgo indica que cuando se controlan los residuos de OE de acuerdo con los requisitos especificados en esta Parte de la Norma ISO 10993, no es probable que estén presentes cantidades biológicamente significativas de EG residual (véase E. 1).

Los requisitos especificados en esta Parte de la Norma ISO 10993, se añaden a los requisitos de ensayos biológicos especificados en la Norma ISO 10993-1. Para los equipos esterilizados con OE, deberá prestarse una atención particular a las normas ISO 10993-3 e ISO 10993-10. Todos los requisitos aplicables de la Norma ISO 10993-1, deberán tener en cuenta el nivel residual de OE en el momento de la liberación de cada equipo médico individual.

Los resultados de la evaluación biológica del equipo pueden exigir límites más estrictos que los especificados en el apartado 4.3, que son elaborados para la protección contra efectos sistémicos. Por ejemplo, deberán considerarse los efectos de irritación que puedan causar todos los equipos, en particular aquellos equipos de pequeño tamaño (véase el apartado E.2). Esta Norma Internacional no tiene en cuenta la posibilidad de los efectos agudos localizados, para los cuales existen datos insuficientes. Particularmente para los equipos de pequeño tamaño, debería prestarse atención a la posibilidad potencial de tales efectos y a la concentración de OE por unidad de superficie del equipo.

4.2 Clasificación de los equipos

Para establecer las dosis diarias máximas permitidas de OE y ECH que un equipo médico pueda desprender en contacto con un paciente, los equipos deberán clasificarse dependiendo de la duración del contacto.

Los equipos deberán clasificarse en una de las tres categorías de exposición siguientes especificadas en el apartado 5.2 de la Norma ISO 10993-1:2003:

- a) exposición limitada: equipos cuya utilización o contacto único o múltiple es probable que dure hasta un máximo de 24 h;
- b) exposición prolongada: equipos cuya utilización a largo plazo o contacto único o múltiple es probable que comprenda un período superior a 24 h pero no superior a 30 días;
- c) contacto permanente: equipos cuya utilización a largo plazo o contacto único o múltiple es superior a 30 días.

NOTA 4: Si un material o equipo puede ser clasificado en más de una categoría de exposición, conviene aplicar las exigencias de ensayo más rigurosas. En el caso de exposiciones múltiples, la decisión de clasificar a un equipo en una determinada categoría, debe tener en cuenta el efecto acumulativo potencial, considerando el período de tiempo durante el cual tienen lugar estas exposiciones.

NOTA 5: En esta Parte de la Norma ISO 10993, 'la utilización múltiple' se define como la utilización repetida de un mismo equipo.

4.3 Límites admisibles

Para cada equipo médico, las dosis máximas admisibles de OE y ECH que el equipo médico puede desprender en contacto con el paciente, no deberán ser superiores a los valores especificados en el apartado 4.3. 1 para cada categoría de exposición en que haya sido clasificado el equipo, de acuerdo con el apartado 4.2.

NOTA 6: Los límites para contacto permanente o contacto prolongado, se expresan como dosis medias diarias máximas. Estos límites conllevan también restricciones suplementarias para las primeras 24h de periodo de exposición, y en el caso de los equipos de contacto permanente, para los primeros 30 días. Estas restricciones imponen limitaciones a la cantidad de OE y ECH que puede liberarse al paciente durante estos períodos de tiempo iniciales. El procedimiento que fue utilizado para establecer los límites admisibles se describe en el apartado E.2.

4.3.1 Equipos de contacto permanente. La dosis media diaria de OE liberada al paciente no deberá ser superior a 0,1 mg/día. Además, la dosis máxima de OE no deberá ser superior a:

- 20 mg durante las primeras 24 h;
- 60 mg durante los primeros 30 días;
- 2,5 g durante el período de vida.

La dosis media diaria de ECH liberada al paciente no deberá ser superior a 2 mg/día. Además, la dosis máxima de ECH no deberá ser superior a:

- 12 mg durante las primeras 24 h;

60 mg durante los primeros 30 días;

50 g durante el período de vida.

4.3.2 Equipos de exposición prolongada. La dosis media diaria de OE liberada al paciente no deberá ser superior a 2 mg/día. Además, la dosis máxima de OE no deberá ser superior a:

20 mg durante las primeras 24 h;

60 mg durante los primeros 30 días.

La dosis media diaria de ECH liberada al paciente no deberá ser superior a 2 mg/día. Además, la dosis máxima de ECH no deberá ser superior a:

12 mg durante las primeras 24 h;

60 mg durante los primeros 30 días.

4.3.3 Equipos de exposición limitada. La dosis media diaria de OE liberada al paciente no deberá ser superior a 20 mg.

La dosis media diaria de ECH liberada al paciente no deberá ser superior a 12 mg.

NOTA 7: La utilización simultánea de más de un equipo o la utilización de equipos para el tratamiento de neonatos, puede dar lugar a una exposición mayor, según se describe en el apartado E.2. 1.1.

4.3.4 Situaciones especiales. Para sistemas constituidos por varios equipos, los límites deberán ser aplicables a cada equipo individual.

El residuo de OE en lentes intraoculares no deberá ser superior a 0,5 µg de OE por lente y por día, ni tampoco a 1,25 µg por lente.

Para oxigenadores de sangre y separadores de sangre, la dosis media de OE liberada al paciente no deberá ser superior a 60 mg.

Para sistemas extracorpóreos de purificación de sangre, son aplicables los límites de OE y ECH especificados anteriormente para los grupos de exposición limitada y prolongada, pero la dosis admisible de OE durante el período de vida puede ser superior.

NOTA 8: Las razones que justifican la especificación de límites de OE que discrepan de los requisitos generales para ciertos equipos, se exponen en el apartado E.2.1.3.

4.4 Determinación de la concentración residual de OE y ECH

El procedimiento para la determinación de la conformidad según el apartado 4.3, consiste en la extracción del residuo de las muestras, determinando la cantidad de éste, y analizando e interpretando los datos de los resultados.

4.4.1 Consideraciones de seguridad

PELIGRO — Los analistas y otros profesionales que toman las muestras, deberían llevar a cabo todo el trabajo de utilización de los equipos químicos y disolventes precisos para estos métodos, bajo una campana extractora de gases y estando provistos de ropa protectora apropiada, y deberían repasar la Información sobre la Seguridad en el Trabajo con Materiales referente a cada equipo químico antes de proceder a su utilización.

4.4.1.1 Óxido de etileno. El OE es un gas inflamable, con efectos irritantes sobre las superficies corporales y altamente reactivas. Es mutagénico bajo un amplio espectro de condiciones, posee propiedades fetotóxicas y teratogénicas, puede afectar adversamente la función testicular y puede producir daños a muchos órganos del cuerpo. En estudios sobre efectos cancerígenos en animales, la exposición por inhalación produjo varios tipos de cambios neoplásicos incluidos la leucemia, y los tumores cerebrales y mamarios, mientras que la ingestión o administración subcutánea produjo tumores solamente en la zona de contacto. Un investigador ha descrito tasas más elevadas de cáncer y de mortalidad entre operarios expuestos al OE. Sin embargo, los resultados de varios estudios recientes entre operarios no lo corroboran.

4.4.1.2 Etilenclorhidrida (ECH). La ECH es un líquido inflamable, con efectos irritantes sobre las superficies corporales, altamente tóxico y que se absorbe rápidamente a través de la piel en cantidades tóxicas. Posee un potencial mutagénico débil, posee un potencial moderado para producir cambios fetotóxicos y teratogénicos y puede producir daños a varios órganos del cuerpo, como son los pulmones, los riñones, el sistema nervioso central y el sistema cardiovascular. No presenta efectos en los estudios biológicos sobre cáncer realizados en animales.

4.4.2 Determinación del residuo. Deberá utilizarse un método validado de extracción y medición para determinar la cantidad de OE, y cuando sea necesario, de ECH que se desprende cuando el equipo está en contacto con el paciente.

NOTA 9: Si la ECH no se detecta analizando los resultados obtenidos con los métodos descritos en los apartados B.5.2 y B.5.7, no es necesario efectuar ninguna monitorización posterior del residuo de ECH.

Los métodos validados que cumplen este requisito, se describen en el anexo B. Sin embargo, puede utilizarse cualquier método que haya demostrado ser analíticamente válido, siempre que haya sido validado demostrando que el sistema cumple los requisitos descritos en el anexo A, y que haya sido evaluado frente a los métodos de referencia contenidos en el anexo B.

El principio a utilizar como guía para seleccionar los métodos de extracción apropiados (véase el apartado 4.4.6) para la determinación cuantitativa de OE, y cuando sea necesario, de ECH, es la evaluación de la dosis liberada al paciente para demostrar la conformidad con los requisitos descritos en el apartado 4.3.

Cuando la cantidad de residuos demuestre cumplir con los requisitos para los equipos sometidos a ensayo utilizando una extracción exhaustiva, no es necesario someter el equipo a la extracción con simulación de utilización, siempre que se cumplan todos los límites aplicables descritos en el apartado 4.3. Cuando se utilice una extracción exhaustiva, se deberá prestar especial atención a los límites especificados para las primeras 24 h y para los primeros 30 días, como se indica en el apartado 4.3.

Se han descrito muchos métodos analíticos para la determinación de estos residuos de esterilización con OE, y han sido recogidos en publicaciones al efecto (véase anexo F). Aquellos métodos que han sido comparados y evaluados en estudios entre laboratorios, realizados por personal bien informado en laboratorios adecuadamente equipados, se describen en el anexo B. Sin embargo, la gran diversidad de materiales y métodos de elaboración de equipos médicos estériles puede, en ciertos casos, presentar todavía problemas cuando se determinan los niveles de OE y ECH residuales utilizando los métodos del anexo B.

Por lo tanto, puede utilizarse cualquier método que haya demostrado ser analíticamente adecuado (es decir, haber demostrado su exactitud, precisión, linealidad, sensibilidad y selectividad), siempre que haya sido validado. El anexo A contiene los requisitos de validación generales, y el anexo B, describe los métodos de referencia que permiten la evaluación comparativa de métodos alternativos.

4.4.3 Obtención de muestras del equipo

4.4.3.1 Muestras representativas. Las muestras que vayan a utilizarse para el análisis de residuos de esterilización, se deberán seleccionar de forma que sean verdaderamente representativas del equipo. Cuando se seleccionan las muestras, se deberá prestar especial atención a los múltiples factores descritos en el anexo C. Dado que muchos de estos factores influyen no solamente los niveles iniciales de residuo contenidos en los componentes del equipo, sino también la tasa de disipación de los residuos, tales factores se deberán considerar también cuando se tomen las muestras de ensayo de una partida de equipo procesado, y se envíen al laboratorio para su correspondiente análisis.

La selección de muestras del equipo tomando una partida del mismo procesado inmediatamente después de completar un ciclo de esterilización, y enviándolo al laboratorio alejado del lugar de esterilización o almacenándola en el laboratorio para el análisis posterior, son factores que pueden comprometer las correlaciones de los niveles de residuo retenidos en las muestras de ensayo con respecto a los niveles del resto de la partida. Además, si las muestras no pueden tomarse de la partida y manipularse de forma que el efecto sobre las condiciones de aireación para la muestra de ensayo sea despreciable, deberá llevarse a cabo un experimento para establecer la relación entre la aireación de la muestra de ensayo y la aireación de la partida en varias estaciones del año.

4.4.3.2. Manipulación de las muestras. Se deben tomar precauciones para reducir al mínimo o controlar los efectos de las condiciones del laboratorio sobre la tasa de aireación de las muestras de ensayo que han sido tomadas de una partida del equipo procesado (véase también el apartado C.1.5). Además, se debe asegurar la seguridad del operador y del analista.

Las muestras de ensayo deben permanecer con el resto de la partida hasta el día del análisis. El tiempo transcurrido entre la separación de las muestras de ensayo, tomadas de una zona de aireación controlada, y el comienzo de la extracción, debe ser el mínimo posible.

Las muestras de ensayo deberán sellarse herméticamente, transponerse y almacenarse congeladas cuando su análisis se retrase. Las muestras de ensayo deberán enviarse rodeadas de nieve carbónica por un servicio de entrega durante la noche. La nieve carbónica deberá permanecer en el recipiente de envío mientras dura el transpone y deberá estar presente cuando se abra el recipiente en el laboratorio. Como una alternativa, las muestras de ensayo se pueden

tomar directamente de la partida del equipo procesado durante el intervalo de aireación deseado, e introducir las inmediatamente en un fluido de extracción apropiado o en un vial con espacio muerto, que se sella herméticamente y luego se envía al laboratorio para su análisis.

Las muestras deberán prepararse siguiendo las indicaciones especificadas en las instrucciones de uso del equipo.

Las muestras que van a ser analizadas deben colocarse en una campana de gases, y allí sacarlas de su envase. Las extracciones deben dar comienzo tan pronto sea posible después de que el equipo ha sido sacado de su envase, o hayan sido completadas las preparaciones preliminares de las soluciones utilizadas para el análisis.

4.4.3.3 Muestra testigo. Con objeto de asegurar que no este presente ningún otro componente de la matriz de muestra con el mismo tiempo de retención que el de cualquiera de los residuos que se van a determinar, deberá evaluarse una muestra testigo para tener en cuenta la posible presencia de tales interferencias mediante la extracción de una muestra no esterilizada, utilizando un procedimiento idéntico al que se sigue con las muestras esterilizadas con OE. En el caso de materiales que están siendo extraídos de tal muestra testigo, con tiempos de retención contradictorios o picos del cromatograma que se solapan, se deberán modificar las condiciones cromatográficas para separar el pico de la interferencia del pico del analito, o deberá utilizarse un procedimiento analítico alternativo.

4.4.4 Relaciones masa de muestra/volumen de fluido extractor. El volumen de fluido utilizado para la extracción de los residuos de esterilización contenidos en los equipos, o secciones representativas de los mismos, deben ser suficiente para hacer máxima la eficacia de la extracción mientras se mantiene la sensibilidad de la detección. La naturaleza y el tamaño de la muestra del equipo determinan por tanto el volumen óptimo de fluido para la extracción. Las relaciones masa de muestra/volumen de fluido extractor para varios equipos oscilan dentro de un intervalo típico de 1:2 a 1:10 (es decir, desde 1g en 2 ml hasta 1g en 10 ml). Los equipos que están compuestos de materiales altamente absorbentes o aquellos equipos de los que se extraen los residuos mediante llenado de los mismos con fluido extractor pueden precisar relaciones masa de muestra/volumen de fluido extractor que reflejen un mayor volumen de fluido. En cualquier caso, las relaciones masa de muestra/volumen de fluido extractor no deberán menoscabar la sensibilidad de la detección.

4.4.5 Tiempo y condiciones de extracción. El objetivo de la extracción del equipo es indicar la cantidad que, en el peor de los casos, podría liberarse durante el contacto con el paciente en condiciones reales de utilización del equipo: Durante periodos de un día para equipos de exposición limitada, durante un día y hasta un mes para equipos de exposición prolongada, y durante un día, un mes y hasta todo el periodo de vida para equipos de contacto permanente. De acuerdo con lo indicado en el anexo E, la extracción exhaustiva según se describe en el siguiente apartado, puede ser una alternativa útil para equipos de contacto permanente, siempre que se cumplan las restricciones sobre el plazo más corto.

4.4.6 Extracción del equipo. Existen dos métodos de extracción básicos utilizados para la determinación de los residuos de esterilización con OE en equipos médicos: extracción con simulación de utilización, que es el método de referencia, y extracción exhaustiva, que representa una alternativa aceptable en ciertas situaciones. La elección del método de extracción deberá estar basada en la utilización a la que se destina el equipo. En el anexo D, se muestran ejemplos de métodos de extracción recomendados.

El método de extracción escogido deberá ser representativo de la utilización a la que se destina el equipo bajo las condiciones más adversas de contacto con el paciente, y no solamente representar un análisis expeditivo o reducir al mínimo la concentración aparente de residuos.

Las temperaturas y los tiempos de extracción deberán determinarse según la naturaleza de la exposición que sufra el paciente, y la duración del contacto del equipo con el paciente según se describe en los apartados 4.2 y 4.3.

4.4.6.1 Extracción con simulación de utilización (método de referencia)

4.4.6.1.1 La extracción acuosa que simula las condiciones de utilización es el método de referencia, por cuanto es el único método que produce resultados directamente comparables con los límites especificados en el apartado 4.3. Estos límites se expresan como la dosis de OE y ECH liberada al paciente.

Dado que es necesario evaluar los niveles residuales desprendidos del equipo durante su utilización de rutina y en contacto con el paciente u otro usuario final, se precisan métodos de extracción que simulen la utilización del equipo. La extracción con simulación de utilización deberá llevarse a cabo bajo las condiciones más adversas que pongan a prueba la utilización a la que el equipo se destina.

Por ejemplo, muchos equipos que están en contacto con la sangre, y otros para administración parenteral, pueden ser extraídos con agua u otros fluidos acuosos mediante el llenado de los mismos o el purgado de la vía de sangre o de fluido (según la que sea apropiada). Las muestras deberán extraerse durante un periodo de tiempo equivalente a la duración máxima de utilización (o que asegure la extracción total) o superior a esta duración, y a temperaturas que representen las condiciones más adversas de utilización a la que el equipo se destina. Una alternativa consiste en preparar una serie de extractos (se recomiendan tres como mínimo) que representen varios periodos de tiempo más cortos a partir de los cuales las tasas de extracción encontradas pueden utilizarse para calcular los efectos de exposiciones de mayor duración o de exposiciones diariamente repetidas.

Para determinar la dosis de OE y, cuando sea necesario, de ECH que se liberan en contacto con el paciente o usuario durante el periodo de utilización normal del equipo, se utilizan procedimientos de extracción acuosa con simulación de utilización. Deberá validarse un procedimiento de extracción con simulación de utilización para demostrar el nivel de exposición real de los pacientes.

NOTA 10: Las cantidades de OE (o de ECH) extraídas simulando la utilización normal del equipo, no son necesariamente similares al contenido total de residuo del equipo.

El agua y otros sistemas acuosos (Kroes *et al.*, 1985) se utilizan comúnmente como fluidos de extracción para la recuperación de OE y ECH residuales en extracciones con simulación de utilización. Estos fluidos acuosos se utilizan para la elusión de los residuos de OE de la muestra más que para disolver el propio material de muestra. Si el propósito es simular las condiciones de utilización del equipo por llenado de este, el equipo deberá llenarse completamente para eliminar cualquier bolsa de aire. Si la determinación analítica no se efectúa inmediatamente, el extracto deberá decantarse de la muestra y guardarse herméticamente tapado en un vial recubierto

interiormente de politetrafluoroetileno (PTFE) y dotado de septo.

El espacio muerto en la parte superior del vial que contenga cualquier solución patrón o extracto no deberá ser inferior al 10% del volumen total. El extracto puede almacenarse en el frigorífico durante varios días (véase el anexo E), pero si se utiliza extracción acuosa, deben procederse con precaución pues el OE puede reaccionar y convertirse en etilenglicol (EG), en etilenclorhidrina (ECH) (o en ambos) durante el almacenamiento del extracto (Chesler *et al.*, 1985). La responsabilidad de evaluar la posibilidad de que se produzca la reacción durante el almacenamiento en el lugar donde se efectúa el análisis, incumbe al analista.

4.4.6.1.2 La extracción exhaustiva representa una alternativa aceptable y puede proporcionar información útil. Produce resultados que tendrían tendencia a representar una dosis mayor o igual a la que recibe el paciente en contacto con el equipo. Dado que tal extracción hace innecesaria la medición de la dosis en función del tiempo, esta no asegura que la masa residual no se desprenda en contacto con el paciente durante el primer día o durante el primer mes del periodo de exposición. Sin embargo, cuando se cumplen todos los límites aplicables descritos en el apartado 4.3, y se comprueba que se cumplen los requisitos aplicables a los residuos para equipos sometidos a ensayo por extracción exhaustiva, no es necesario someter al equipo a una posterior extracción con simulación de utilización. Cuando se utiliza la extracción exhaustiva, deben prestarse especial atención a los límites expresados en el apartado 4.3 para las primeras 24 h y para los primeros 30 días.

4.4.6.2 Extracción exhaustiva (método alternativo aceptable)

4.4.6.2.1 Los métodos de extracción exhaustiva tienen por objeto recuperar el contenido completo de los residuos de esterilización que puede desprender un equipo. Para la determinación del OE, los procedimientos de extracción utilizados incluyen extracción térmica seguida de análisis del gas en el espacio muerto, y los procedimientos de extracción con disolvente, ya sea mediante análisis del gas en el espacio muerto del extracto realizado con el disolvente, mediante análisis cromatográfico del extracto realizado con el disolvente, o mediante la preparación del derivado bromhídrico del OE, que se determina utilizando un detector cromatográfico más sensible.

a) Óxido de etileno residual

Se ha utilizado una variedad de fluidos de extracción para la recuperación exhaustiva del OE residual. La desorción térmica seguida de análisis del gas en el espacio muerto, según se describe en el apartado B.5.3, es un ejemplo de procedimiento que no hace uso de un fluido de extracción. Cuando se lleva a cabo de la forma descrita, los métodos de análisis del gas en el espacio muerto se consideran exhaustivos dado que tienen por objeto recuperar todo el OE residual contenido en la muestra. Sin embargo, los métodos de análisis del gas en el espacio muerto, pueden no ser posibles o no ser los preferidos para ensayos no destructivos del equipo intacto cuando se trata de equipos complejos o grandes. El analista deberá proceder con precaución al utilizar métodos analíticos del gas en el espacio muerto cuando evalúe los niveles residuales de ECH en materiales poliméricos, tales como polimetilmetacrilato, para asegurar que se consigue la recuperación total del OE.

Para los procedimientos de extracción con disolvente, la selección de un fluido apropiado de extracción depende de la composición del material del equipo y de la de sus componentes. Para facilitar la recuperación completa del OE contenido en la muestra, generalmente se prefieren fluidos que disuelven el material de muestra en una extracción exhaustiva, siempre que las

substancias que interfieran no sean también disueltas durante el procedimiento. Los procedimientos de extracción con disolvente que se combinan con análisis del gas en el espacio muerto, se describen en el apartado B.5.4; tales procedimientos pueden permitir separar el OE de los equipos químicos extraídos conjuntamente con éste que interfieren el análisis de la matriz de la muestra. Los fluidos de extracción descritos en el apartado B.3.2 fueron evaluados mediante ensayos de comparación entre laboratorios (Marlowe, 1983; Marlowe et al., 1986a; Marlowe et al., 1986b). La eficiencia de extracción de otros fluidos deberá evaluarse frente a uno o más de los métodos descritos en esta Parte de la Norma ISO 10993, para establecer si son apropiados para efectuar procedimientos de extracción exhaustiva.

Para actuar de forma prudente, al efectuar el análisis inicial de un material determinado, deberá utilizarse más de un procedimiento para validar la recuperación cuantitativa siempre que vaya a realizarse una extracción exhaustiva. Para equipos que contienen una cantidad relativamente pequeña de OE residual, los métodos comúnmente utilizados pueden no ser capaces de extraer estas pequeñas cantidades, incluso después de tiempos de extracción relativamente largos.

b) ECH residual

El agua es el fluido típicamente utilizado para la extracción de la ECH residual contenida en los equipos médicos.

4.4.6.2.2 Los equipos de pequeño tamaño, deberán introducirse en un vial y someterse a extracción utilizando el equipo completo, mientras que para equipos más grandes pueden seleccionarse porciones representativas de los materiales que lo componen, cuando es necesario determinar los residuos de óxido de etileno en una parte del equipo. Deberá procederse con precaución en este último caso. Puede ser necesario tomar varias porciones representativas del equipo para asegurar un alto grado de confianza en los datos obtenidos a partir de muestras pequeñas de equipos más grandes.

Estas porciones representativas pueden seleccionarse de una de las dos formas siguientes. Si se utilizan materiales cuya composición es muy variada, la proporción de cada componente en la masa total de la muestra debería ser sensiblemente igual a la proporción del componente dado en la masa total, del equipo que está siendo sometido a ensayo. Un método alternativo consistiría en seleccionar uno de los componentes para el ensayo, seguido de una evaluación, para demostrar que tal componente representa las condiciones más desfavorables en relación al contenido residual. El método escogido deberá validarse.

4.4.7 Análisis e interpretación de los datos

4.4.7.1 Cálculo de la cantidad residual extraído. La concentración residual encontrada en los extractos, AE, se expresa como masa en miligramos, aplicando la fórmula siguiente:

$$AE = \sum_0^n ER \times EV$$

El residuo extraído con simulación de utilización puede calcularse de la forma siguiente:

$$AR = \frac{ER \times m}{\rho}$$

El residuo extraído con extracción exhaustiva puede calcularse de la forma siguiente:

$$AE = \frac{R_s \times m_D}{m_s}$$

donde

AE es la masa residual contenida en el extracto, en miligramos;

N es el número de extracciones;

ER es la concentración en miligramos de OE por mililitro de extracto, calculada a partir de la curva normal;

EV es el volumen del extracto, en mililitros;

AR es la masa residual recuperada, en miligramos;

m es la masa de extracto, en gramos;

ρ es la densidad del agua, en gramos por mililitro;

R_s es la masa residual extraída de la muestra, en miligramos;

m_D es la masa total del equipo, en gramos;

m_s es la masa de la muestra, en gramos.

4.4.7.2 Cálculo de la dosis media liberada por el equipo (ADD) para comparación con los límites admisibles descritos en el apartado 4.3. Para equipos de contacto permanente, la dosis media liberada por el equipo, ADD, en miligramos por día, es la siguiente:

$$ADD = \frac{AE}{25\,000}$$

donde

25 000 son los días correspondientes al período de vida;

AE es como se ha descrito en el apartado anterior.

Los equipos de contacto permanente, deberán también cumplir los límites de exposición limitada y de exposición prolongada, según se describe a continuación.

Para equipos de exposición prolongada,

$$ADD = \frac{AE}{30}$$

donde

30 es el número de días por mes;

AE es como se ha descrito en el apartado anterior.

Los equipos de exposición prolongada deberán también cumplir los límites de exposición limitada, según se describe a continuación.

Para equipos de exposición limitada,

$$ADD = AE$$

donde

AE es como se ha descrito en el apartado anterior.

5 Comercialización del equipo

Un equipo se declara conforme con esta parte de la Norma ISO 10993, cuando cumple los requisitos especificados para los residuos de OE, y si es aplicable, de ECH. Si se dispone de suficientes datos experimentales de la cinética de difusión de los residuos, puede ser posible agrupar los equipos para los ensayos de aseguramiento de la calidad basados en la similitud de materiales, los procesos de fabricación y la utilización del equipo (véase anexo C).

Para la liberación de lotes de equipo esterilizado, deberá utilizarse uno de los dos métodos descritos en los apartados 5.1 y 5.2.

5.1 Comercialización de los equipos en ausencia de los datos de las curvas de disipación

Cuando los datos de las curvas de disipación no están disponibles para un equipo dado, el equipo puede comercializarse si cumple los requisitos de esta parte de la Norma ISO 10993, y los datos se han obtenido a partir de ensayos llevados a cabo de acuerdo a procedimientos apropiados expuestos en el anexo B, y el equipo cumple los requisitos que limitan el residuo de OE, y si es aplicable, de ECH, según se describe en el apartado 4.3.

5.2 Procedimiento que permite comercializar el equipo, utilizando las curvas de disipación de los residuos

Las curvas de disipación se utilizan para estimar el tiempo después de la esterilización que deberá transcurrir para que los equipos o familias de equipos similares, alcancen concentraciones residuales de esterilización que cumplan con los límites residuales, principalmente para el OE, descritos en, el apartado 4.3. Los equipos deberán ponerse en el mercado en función de los tiempos de cuarentena después de la esterilización determinados de antemano, y con las

condiciones definidas por las curvas experimentales de disipación de tal forma que permita asegurar que se cumplen los límites residuales de OE para el equipo, establecidos en el apartado 4.3. Las condiciones de aireación del equipo documentadas en el anexo C, deben considerarse mediante la recopilación de datos de partidas de esterilización, tomadas después de la aireación del equipo almacenado en cuarentena, a diferentes períodos de tiempo durante el año, si las temperaturas de aireación no son constantes durante este período. La presencia de otros equipos médicos esterilizados con OE almacenados en áreas adyacentes, deberá también tenerse en cuenta cuando se obtengan datos experimentales para representar las curvas de disipación mencionadas.

La comercialización de los equipos fabricados y esterilizados bajo condiciones controladas, según se describe en la Norma ISO 11135 o EN 550 ([1] y [2]) puede llevarse a cabo si se recopilan los datos a partir de un mínimo de tres lotes de esterilización tratados a tiempos diferentes. La disipación del OE en la mayoría de materiales y equipos, sigue una cinética de primer orden, es decir, el equipo del logaritmo neperiano de la concentración de OE por el tiempo transcurrido después de la esterilización. Una representación gráfica del logaritmo neperiano de la concentración de OE, determinada experimentalmente frente al tiempo transcurrido después de la esterilización, es lineal. La comercialización deberá estar basada en el tiempo transcurrido después de la esterilización, leyendo este valor correspondiente al residuo máximo permisible sobre la recta de regresión media. Este enfoque puede utilizarse para equipos que no se esterilizan en cantidades suficientes (número de esterilizaciones) como para justificar la aplicabilidad del procedimiento descrito a continuación, o puede utilizarse mientras los datos de la curva de disipación descritos están siendo recopilados.

El análisis de regresión de los datos recopilados a partir de suficientes puntos de las curvas de concentración residual frente al tiempo, para al menos tres lotes del mismo equipo con objeto de establecer la naturaleza de la curva de disipación, permitirá asegurar la comercialización del equipo, después de un período de tiempo correspondiente al límite previsible LP, calculado para el intervalo de confianza del 95%, que satisface el límite del residuo permitido para el equipo. Las curvas de concentración-tiempo para equipos fabricados a partir de combinaciones de materiales no similares, son susceptibles de no responder fielmente a esta descripción para todos los casos, y pueden precisar ser tratadas de forma diferente.

Las fórmulas para calcular el límite previsible, LP, son:

$$x_o = \frac{y_o - a}{b}$$

$$PL = x_o + t_{\alpha} \times \sqrt{\frac{(s_{\alpha})^2}{b^2} \times \left[1 + \frac{1}{n} + \frac{(y_o - y_{\mu})^2}{b^2 \times \sum (x_i - x_{\mu})^2} \right]}$$

donde

x es el valor promedio calculado del tiempo de liberación, correspondiente al límite admisible de OE;

y_0 es el valor logarítmico del límite admisible de OE;

a es la ordenada en el origen de la recta de regresión;

b es la pendiente de la recta de regresión;

LP es el límite previsible para un solo equipo;

t_α es el valor de t-Student para un grado de significación α , con $(n-2)$ grados de libertad;

$(s_\alpha)^2$ es la varianza residual de la recta de regresión;

y_μ es la media de los logaritmos de las concentraciones de OE;

n es el número de valores;

x_i es el tiempo individual después de la esterilización, en el momento en el que se efectúan las mediciones;

x_μ es la media de los tiempos después de la esterilización;

$\Sigma(x_i - x_\mu)^2$ es la suma de los cuadrados para x (tiempo).

Todos los datos obtenidos para la comercialización de los equipos médicos que cumplen los requisitos de esta parte de la Norma ISO 10993 deberán obtenerse a partir de experimentos y análisis de datos llevados a cabo siguiendo procedimientos operativos normalizados que sean válidos.

Cuando se cambian los parámetros del proceso de esterilización enumerados en el anexo C, deberá realizarse una auditoría del residuo contenido en el equipo. Cuando esta auditoría muestre que existe un aumento en el nivel de OE residual, deberán obtenerse de nuevo las curvas de disipación del residuo, para asegurar la aceptabilidad del equipo. Cuando esta auditoría muestre un descenso del nivel de OE residual, sería entonces conveniente obtener de nuevo las curvas de disipación.

Anexo A
(normativo)

**EVALUACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LA CROMATOGRÁFICA
EN FASE GASEOSA (CROMATOGRAMAS)**

A.1 Generalidades

Este anexo trata de los requisitos mínimos aplicables a los procedimientos analíticos empleados para la medición cromatográfica de OE y ECH.

A.2 Documentación

Estos requisitos se tratan en libros de referencia sobre cromatografía en fase gaseosa (USP, 1989), y deberían ser consultados por los analistas antes de utilizar cualquiera de los procedimientos. También se recomienda que se consulten los artículos que tratan de los límites de detección (Ball, 1984; Chesler et al., 1985, Hubaux and Gilbert, 1970).

A.3 Símbolos

A efectos de este anexo, son aplicables los símbolos siguientes (véanse las figuras A. 1 y A.2).

R es la resolución;

T es el factor de cola;

t_1, t_2 son los tiempos de retención de los picos 1 y 2 del cromatograma, donde t_1 corresponde al OE (o a la ECH), y t_2 corresponde a un pico inmediatamente adyacente;

W_1, W_2 son las anchuras de pico respectivas extrapoladas hasta la línea base para los picos 1 y 2, expresadas en las mismas unidades que el tiempo de retención;

$W_{0,05}$ es la anchura de pico medida al 5% de la altura del mismo;

f es la distancia desde el máximo del pico hasta el borde frontal del pico;

k' es el factor de capacidad;

t_a es el tiempo de retención para un componente no retenido, como es el aire, que no sufre retención en su paso a través de la columna;

t es el tiempo de retención del pico residual, correspondiente al OE o a la ECH.

A.4 Requisitos mínimos

A.4.1 Para estos procedimientos, se recomienda que se cumplan los siguientes requisitos mínimos correspondientes a estos parámetros (véanse las figuras A.1 y A.2).

La Resolución, R , calculada de la forma descrita a continuación, deberá ser mayor o igual a 1,2:

$$R = 2 \frac{(t_2 - t_1)}{(W_2 + W_1)}$$

Esta ecuación se utiliza para la cuantificación de la altura o el área del pico.

De forma similar, la ecuación siguiente puede ser útil para calcular el factor de capacidad, k' , que deberá ser mayor o igual a 1,5:

$$k' = \frac{t}{t_a} - 1$$

El factor de cola, T , dado por la ecuación siguiente, deberá ser menor o igual a 1,5:

$$T = \frac{W_{0,05}}{2f}$$

Para la cuantificación a concentraciones bajas de OE y ECH, la relación señal/ruido debería ser al menos 10:1 (puede ser necesario ajustar la atenuación de la cromatografía en fase gaseosa a 1x1, para determinar la relación señal/ruido).

Para poder calcular con precisión la resolución y el factor de cola, la velocidad del sistema de registro debería ser al menos 10 cm/min, y la altura del pico debería ser al menos el 75% de la desviación de la escala completa.

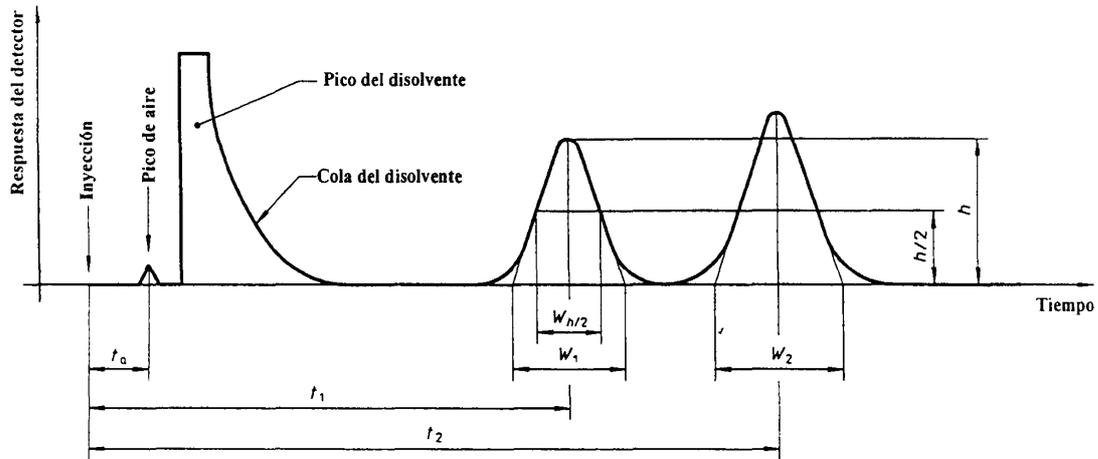


Figura A.1—Separación de dos sustancias por cromatografía

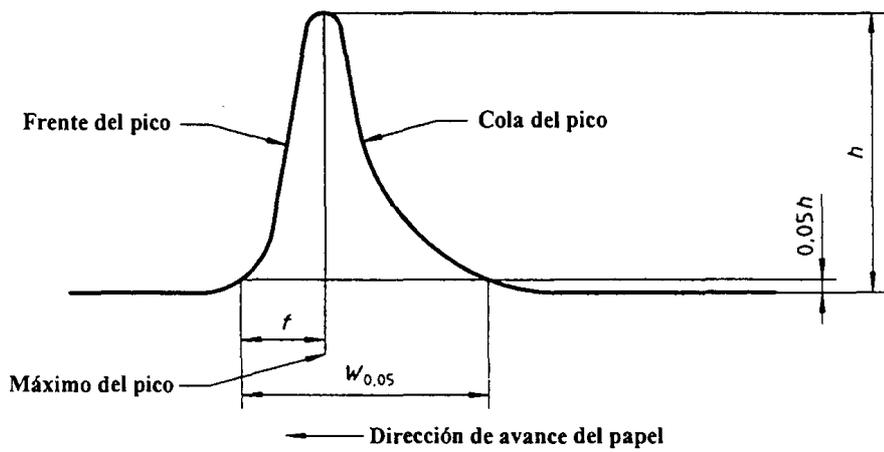


Figura A.2—Pico cromatográfico asimétrico

A.4.2 Es conveniente que el coeficiente de variación de la curva estándar, (CV) no exceda el 5% para el QE y la ECH, para la gama de patrones utilizados (AAMI, 1988 y AAMI, 1989):

$$RSD = \left(\frac{\sigma}{\lambda} \right) \times 100$$

$$\sigma^2 = \frac{\left[\sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n} \right] - S \times \left[\sum xy - \frac{(\sum x \sum y)}{n} \right]}{n - 2}$$

$$\lambda = \frac{y}{n}$$

donde

n es el número total de picos;

y es la superficie o la altura del pico cromatográfico;

x es la concentración del patrón;

S es la pendiente de la recta de regresión de mínimos cuadrados para la curva patrón;

λ es la media;

σ es la desviación estándar;

σ^2 es la varianza.

Estos criterios se calculan para el análisis por duplicado de al menos tres patrones, preparados para cubrir la gama lineal dinámica esperada de cada una de las curvas patrón utilizadas en el análisis de OE y ECH.

A.5 Línea base cromatográfica

Se recomienda además que la línea base del cromatograma, regrese a un 5% de su valor inicial entre un cromatograma y el siguiente.

A.6 Recursos

Se recomiendan las siguientes fuentes de información, cuando esté indicado efectuar cambios en estos procedimientos analíticos: el manual de instrucciones del fabricante del cromatógrafo utilizado, y los diversos libros de texto sobre cromatografía en fase gaseosa.

Anexo B
(normativo)

DETERMINACIÓN POR CROMATOGRAFÍA EN FASE GASEOSA DE OE Y ECH

B. 1 Procedimientos cromatográficos

B.1.1 Métodos de medición del residuo de OE

Son apropiados una multitud de métodos para el análisis cuantitativo de los extractos que contienen OE. Se han descrito varios procedimientos para la extracción exhaustiva y posterior análisis cromatográfico en fase gaseosa, que permiten la determinación de OE. En el anexo F se hace referencia a varios métodos publicados, así como a varios artículos para consulta. Probablemente existen otros tantos métodos no publicados para la determinación de niveles de OE residual, y debido a la gran diversidad de equipos médicos existentes, los métodos publicados pueden no ser apropiados para todos los equipos. Por lo tanto, puede igualmente utilizarse cualquier método que haya demostrado ser analíticamente correcto, y que haya sido evaluado frente a los métodos de referencia validados descritos en este documento.

“Analíticamente correcto” significa que el método demuestra tener suficiente precisión, selectividad, linealidad, y sensibilidad para determinar el nivel especificado de OE contenido en un equipo que se pretenda analizar, en relación con los límites residual indicados en 4.3, y que el método es aplicable al equipo que pretende analizarse.

Los métodos descritos en este anexo se proponen como métodos de referencia, frente a los cuales deberá evaluarse un método alternativo. Estos métodos se explican en el anexo, para que el analista pueda escoger el que sea más aplicable. Se recomienda consultar las publicaciones originales, para obtener una descripción más detallada de cada método. Los analistas deben probar la estabilidad de los patrones analíticos que utilizan para calibrar el (los) procedimiento(s) cromatográfico(s) utilizado(s), y asegurar que tales patrones no se utilizan después de su fecha de caducidad establecida.

B.1.2 Preparación de los patrones de OE

B.1.2.1 Generalidades. Los párrafos que siguen describen el procedimiento de preparación de los patrones para el análisis cromatográfico en fase gaseosa.

NOTA 11: Una alternativa es adquirir patrones que hayan sido preparados bajo el control de Normas de Correcta Fabricación, siempre que exista constancia de la estabilidad de tales patrones.

Los patrones pueden prepararse ya sea volumétricamente, diluyendo volúmenes conocidos de OE gaseoso, o gravimétricamente, diluyendo una masa conocida de OE líquido. En cualquier caso, se prepara una curva patrón de alturas o áreas de pico frente a la concentración de OE.

Se conecta la botella de gas que contiene el patrón de OE a un vial de suero (de aproximadamente 30 ml de capacidad) como se describe en la figura B. 1. Se descomprime el vial colocando una aguja hipodérmica a través del septo, manteniendo la punta cerca de la parte superior del vial. Se

conecta una cierta longitud de tubo de cloruro de polivinilo a la aguja que da salida al aire (2), y se sumerge el extremo del tubo en un vaso de precipitados que contiene agua.

PELIGRO — Con objeto de proteger al analista, es extremadamente importante que este procedimiento se lleve a cabo bajo una campana extractora de gases (véase el apartado 4.4.1).

Se conecta una cierta longitud de otro tubo a la llave reguladora de gas de la botella de OE, y se conecta este tubo a una aguja hipodérmica. Se inserta esta aguja (1) de entrada a través del septo del vial, y se empuja hasta que su extremo casi toque el fondo. Se inicia el flujo de OE a través del sistema, regulando la salida de gas para que el régimen de burbujeo observado a la salida del tubo sumergido sea de una burbuja por segundo. Se purga el vial durante 15 mm. Se retira la aguja de entrada del vial, y se deja que el gas en su interior se equilibre con la presión atmosférica, retirando del vial la aguja conectada al tubo sumergido de salida, en el momento en que la última burbuja sale de este tubo. Utilizando la ecuación de los gases perfectos, puede demostrarse que la concentración de OE en el vial es 1,83µg/µl a 760 mmHg¹ de presión y 20 °C de temperatura.

La concentración de OE, en microgramos por d, puede calcularse utilizando la ecuación de los gases perfectos para cualquier temperatura, t, en grados centígrados, y cualquier presión, p, en milímetros de mercurio, utilizando la ecuación siguiente:

$$\rho_{EO} = 0,706 \frac{p}{273 + t}$$

donde 0,706 es el inverso de la constante de los gases, R, para el OE, expresada en (gramos x °K)/(mmHg x 1).

¹ Un mmHg =133,322 Pa, ó 760mmH= 101,325 KPa

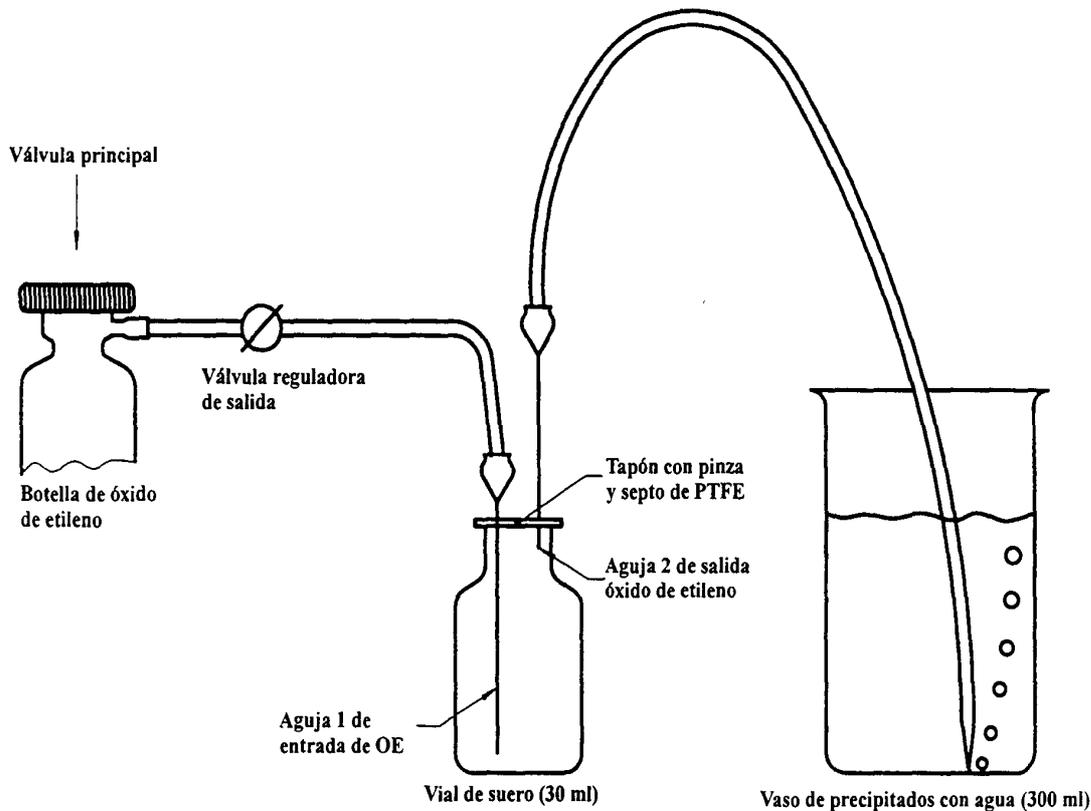


Figura. B.1 — Aparato para la preparación de patrones de OE

B.1.2.2 Diluciones patrón de OE para los métodos de análisis del gas en espacio muerto. Se diluye el patrón, preparado según se ha descrito en B.1.2.1, en un vial (volumen nominal 15 ml) cuyo volumen ha sido previamente determinado con una precisión de 0,01 ml (el mismo tamaño que se utilizará en el análisis de la muestra), y que se purga previamente con nitrógeno seco durante 1 min. Se toma aproximadamente 10 μl de OE gaseoso del primer vial, mediante una jeringuilla hermética. Se extrae la jeringuilla del vial y se empuja el émbolo hasta el trazo de volumen deseado de 10 μl con la aguja dirigida hacia arriba.

Se coloca el vial purgado con nitrógeno, en posición invertida sobre la aguja dirigida hacia arriba y se inyectan los 10 μl de OE en el vial. La jeringuilla no se purga y debe extraerse inmediatamente del vial. El vial contiene ahora 18,3 μg de OE a 20 °C y 760 mmHg. Se ajusta la concentración de OE para las condiciones reales de presión y temperatura, según se describe en el apartado B.1.2.1.

Se toman por duplicado alícuotas de 100 μl de gas extraídas del segundo vial patrón, y se inyectan estas alícuotas en la columna cromatográfica para calibrar la respuesta del aparato. Se preparan patrones de concentración mayor, diluyendo alícuotas de mayor volumen de OE gaseoso puro

tomadas del primer vial. Dado que los viales contienen OE gaseoso fácilmente disponible, los patrones no precisan calentarse, lo que sí es preciso cuando se trata de las muestras.

B.1.2.3 Diluciones patrón de OE para los métodos de extracción con disolvente

NOTA 12: Para transferir OE líquido, servirá de ayuda una jeringuilla previamente enfriada. Debería procederse con precaución para asegurarse de que la aguja de la jeringuilla no toca el disolvente.

NOTA 13: La experiencia ha demostrado que los errores de medición asociados con la preparación de las soluciones madre son constantes, y no dependen del volumen que se está preparando. El error porcentual se reducirá si se preparan volúmenes grandes, y se utilizan después según se necesitan.

NOTA 14: Este procedimiento también se utiliza para preparar patrones de OE en solución acuosa.

Se dispone una botella de gas que contenga OE patrón según se describe en el apartado B. 1.2.1 sobre el matraz aforado previamente purgado según se ha descrito y se coloca en un baño que contiene una mezcla frigorífica de nieve carbónica e isopropanol, u otra equivalente, para condensar el OE gaseoso al estado líquido. Conectados al vial están solamente el tubo de cloruro de polivinilo y la aguja hipodérmica a él fijada, que suministra OE desde la botella de gas. No es necesario descomprimir con una segunda aguja hipodérmica, dado que el OE se va a recoger en estado líquido.

Se llena el vial con un volumen adecuado de OE líquido, se cierra la llave reguladora de la botella de gas y se extrae la aguja hipodérmica unida al tubo de cloruro de polivinilo. Se retira el vial del baño frigorífico.

Se pesa un matraz aforado de 100 ml de capacidad tapado herméticamente (con una válvula de PTFE) que contenga 60 ml de disolvente, efectuando la pesada con una precisión de 0,1 mg. Se añaden cinco gotas de OE líquido dentro del matraz, y se pesa éste de nuevo. Se enrasa el matraz a 100 ml con disolvente, se invierte, y se agita intermitentemente².

Si resulta necesario almacenar temporalmente el matraz aforado, se ha encontrado que las soluciones patrón gozan de máxima estabilidad cuando el matraz aforado se almacena invertido.

Se preparan diluciones de la solución, diluyendo alícuotas con un volumen apropiado de disolvente. Si, por ejemplo, se han añadido exactamente 100 ml de OE a 100 ml de disolvente, la concentración resultante sería de 1 mg/ml. Si se diluye 1 ml de esta solución hasta 10 ml, ello da como resultado una disolución patrón de OE de 100 µg/ml de concentración. Las soluciones patrón de concentraciones mayores o menores de OE, se preparan de forma similar. La concentración de los patrones, se escoge para obtener la máxima detección cromatográfica para el intervalo esperado de niveles de OE contenidos en la muestra a ensayar.

Se inyecta por duplicados alícuotas de 1 µl a 5 µl de cada patrón en la columna del cromatógrafo, para obtener la respuesta de altura y área de pico.

² Si resulta necesario almacenar temporalmente el matraz aforado, se ha encontrado que las soluciones patrón gozan de máxima estabilidad cuando el matraz aforado se almacena invertido.

En la práctica de la cromatografía en fase gaseosa, la experiencia ha demostrado que al inyectar muestras en la columna del cromatógrafo, la precisión de la inyección aumenta cuando aumenta el volumen de inyección. El error constante asociado con las inexactitudes de calibración de la jeringuilla, se hace una fracción más pequeña del volumen a medir conforme éste aumenta. Para obtener una mayor exactitud, no debe escogerse una jeringuilla para la cual, el volumen a medir sea menor del 10% de la capacidad nominal de la jeringuilla.

B.1.3 Preparación de patrones de ECH. Se pesa con exactitud un matraz aforado de 100 ml que contenga aproximadamente 60 ml de agua, efectuando la pesada con una precisión del 0,1 mg. Se añade ECH (aproximadamente 100 µl) gota a gota dentro del matraz. Se pesa de nuevo el matraz y se calcula la diferencia entre las dos masas; se diluye después con agua hasta el enrase y se agita. Se almacenan las soluciones patrón preparadas en un frigorífico cuando no se estén utilizando (véase el anexo E). Se desechan de forma apropiada después de 14 días.

Se deja que los patrones de ECH alcancen la temperatura ambiente. Se preparan al menos tres concentraciones de patrones de trabajo. Se comprueba la linealidad de las respuestas cromatográficas para estos intervalos de concentración antes de representar la curva patrón. Se preparan los patrones para obtener la máxima detección cromatográfica para el intervalo esperado de niveles de ECH contenido en la muestra. Se inyecta por duplicado alícuotas de 1 µl a 5 µl de cada patrón en la columna del cromatógrafo, para obtener la respuesta de altura y área de pico.

B.2 Precisión de los métodos

B.2.1 Métodos de determinación de OE. Se llevó a cabo una evaluación interlaboratorio en 13 laboratorios, utilizando varios métodos de determinación de OE descritos en el anexo B (Marlowe et al., 1986a; Marlowe, 1986b; Marlowe et al., 1983), con una serie de muestras con valores analíticos distribuidos en un intervalo comprendido entre 40 ppm y 350 ppm aproximadamente. El coeficiente de variación total estimado de los métodos se muestra en la tabla B. 1.

Tabla B.1
Comparación de la variaciones intra- e interlaboratorio

Método de determinación de OE	Intralaboratorio %	Interlaboratorio %
Método de análisis del gas en el espacio muerto	3,7	21,3
Método con acetona	4,1	16,3
Método con DMF	2,9	8,3
Método con agua	2,7	17

Se llevó a cabo otra evaluación interlaboratorio del método de determinación de OE descrito en el apartado B.5.6. (Kikuchi et al., 1988). Los datos de regresión lineal se obtuvieron comparando resultados obtenidos en dos laboratorios para una serie de muestras con una distribución de valores analíticos comprendida entre 3,6 ppm y 26 ppm. La ecuación de regresión calculada fue la siguiente:

$y = 0,04 + 0,904x$; coeficiente de correlación (r) = 0,974 con $p < 0,000\ 01$. El coeficiente de variación intralaboratorio del método se estimó igual a 4,0% para una concentración de OE de 14 ppm, ó 8,3% para una concentración de OE de 30 ppm en la matriz de ensayo (datos no publicados proporcionados por A. Nakamura, H. Kikuchi, y K. Tsuji).

Los datos analíticos a partir de muestras de tres niveles diferentes de OE, se obtuvieron utilizando tanto el método de extracción con disolvente, seguido del procedimiento de análisis del gas en el espacio muerto descrito en el apartado B.5.4 (Oba et al., 1982), como el método de bromación descrito en el apartado B.5.6 (Kikuchi et al., 1988), en dos laboratorios. Se compararon los resultados utilizando análisis de regresión lineal, cuya ecuación de regresión calculada fue $y = -0,03 + 1,07x$; coeficiente de correlación (r) = 0,999. El coeficiente de variación interlaboratorio del procedimiento descrito en el apartado B.5.4 se estimó igual a 4,7%, 1,8% y 2,7% respectivamente correspondiente a las concentraciones de OE en la matriz de ensayo de 12 ppm, 25 ppm y 56 ppm (Nakamura et al., 1989).

B.2.2 Métodos de determinación de ECH. Se llevó a cabo una evaluación interlaboratorio utilizando los métodos de determinación de ECH descritos en el apartado B.5.7 (AAMI, 1989). El coeficiente de variación total estimado de los métodos fue el siguiente:

variación intralaboratorio: 7,46%

variación interlaboratorio: 10,99%

Estos datos se obtuvieron para concentraciones de ECH comprendidas en el intervalo entre 3,0 $\mu\text{g}/\text{rnl}$ y 100 $\mu\text{g}/\text{rnl}$.

B.3 Equipos y reactivos

B.3.1 Equipos

B.3.1.1 Cromatógrafo en fase gaseosa, equipado con detector de ionización de llama, o detector de captura electrónica.

NOTA 15: La presencia de un integrador electrónico permite asegurar la reproducibilidad de los resultados.

B.3.1.2 Agujas hipodérmicas y tubo de cloruro de polivinilo, según sea preciso para la preparación de las disoluciones patrón.

B.3.1.3 Recipientes de vidrio graduados, equipados con septos revestidos de PTFE o válvulas de cierre hermético de PTFE para la preparación de disoluciones patrón.

NOTA 16: El equipo de vidrio con cierre a presión también requiere una pinza al efecto.

NOTA 17: Se recomienda proceder con cuidado para seleccionar equipo de vidrio de volumen apropiado para reducir al mínimo el espacio muerto sobre la solución de extracción o solución patrón. Cuando se preparen extractos o patrones líquidos, se recomienda que el espacio muerto no sobrepase el 10% del volumen de extracción o del patrón.

B.3.1.4 Microjeringuilla (5 μl o 10 μl de capacidad), para inyectar alícuotas del extracto en el cromatógrafo en fase gaseosa.

B.3.1.5 Campana extractora de gases, para proporcionar ventilación adecuada mientras se preparan las soluciones patrón y las muestras.

B.3.1.6 Balanza analítica, capaz de medir con una precisión de la décima de miligramo.

B.3.1.7 Llave reguladora de gas, para regular la lectura a la salida de la botella que contiene OE.

B.3.1.8 Jeringuillas herméticas, de 10 µl, 50 µl, 100 µl y 1 000 µl de capacidad, utilizadas para preparar soluciones patrón, y para inyectar el gas contenido en el espacio muerto en la columna cromatográfica.

B.3.1.9 Estufa de laboratorio, capaz de calentar las muestras a 100 °C ± 2 °C

B.3.1.10 Estufa de laboratorio, capaz de calentar las muestras a 37 °C ± 1 °C

B.3.1.11 Baño de agua, capaz de mantener las muestras a 70 °C ± 2 °C

B.3.1.12 Agitador mecánico

B.3.1.13 Viales para el análisis del gas en el espacio muerto, dotados de septos herméticos revestidos de PTFE, y tapón con cierre a presión, de 20 ml de capacidad nominal, para la preparación de patrones de calibración.

NOTA 18: El equipo de vidrio con cierre a presión también requiere una pinza al efecto.

B.3.1.14 Vial dotado de tapón de rosca de fondo plano, de 4 ml de capacidad (15 mm de diámetro exterior) equipado con un septo de silicona revestida de PTFE y película fina de PTFE, utilizado para la extracción y reacción del OE.

B.3.1. 15 Aguja de inyección, de dimensiones 0,65 mm x 25 mm para la adición de ácido bromhídrico.

B.3.1.16 Filtro Milipore³ de 45 µm de tamaño de poro para la filtración de la mezcla de reacción antes de la cromatografía.

B.3.1.17 Frigorífico, capaz de mantener la temperatura de las muestras entre 2 °C y 8 °C.

B.3.2 Reactivos

B.3.2.1 Epoxietano (óxido de etileno), en botella de gas apropiada, pureza 99,7%.

B.3.2.2 2-cloroetanol (etilenclorhidrina), pureza ≥ 99%.

³ Milipore" es el nombre registrado de un producto. Esta información se estima conveniente para los usuarios de esta Parte de la Norma ISO 10993 y no constituye respaldo alguno del producto por ISO. Pueden utilizarse productos equivalentes si se demuestra que conducen a los mismos resultados.

B.3.2.3 1,2-epoxipropano (óxido de propileno), pureza reactivo para análisis.

B.3.2.4 Ácido bromhídrico recientemente bidestilado, preparado de la forma siguiente:

Se destilan 100 ml de ácido bromhídrico al 47% en presencia de 100 mg de cloruro de estaño (II). Se desechan los primeros 25 ml del destilado y se recogen los siguientes 50 ml del destilado. Se destilan de nuevo 50 ml del destilado en presencia de 50 mg de cloruro de estaño (II), se desechan los primeros 15 ml del destilado y se recogen los siguientes 20 ml de líquido incoloro (punto de ebullición comprendido entre 125 °C y 126 °C). Se almacenan en un recipiente de vidrio cerrado con tapón esmerilado y se utilizan antes de 1 semana.

B.3.2.5 Cloruro de estaño (II), pureza reactivo para análisis.

B.3.2.6 Agua, de pureza adecuada para la cromatografía en fase gaseosa.

B.3.2.7 Etanol, de pureza adecuada para la cromatografía en fase gaseosa.

B.3.2.8 Propanona (acetona), de pureza adecuada para la cromatografía en fase gaseosa.

B.3.2.9 Dimetilformamida (DMF), de pureza adecuada para la cromatografía en fase gaseosa.

B.4 Preparación de las soluciones patrón

B.4.1 Preparación de las soluciones patrón de OE

Cuando así se precise, se preparan las soluciones patrón como se describe en el apartado B. 1.2.

B.4.2 Preparación de las soluciones patrón de ECH

Cuando así se precise, se preparan las soluciones patrón como se describe en el apartado B.1.3.

B.4.3 Preparación de las soluciones patrón de óxido de propileno (OP)

Se prepara una solución patrón de óxido de propileno diluyendo óxido de propileno en etanol, para obtener una solución cuya concentración de óxido de propileno sea 0,5 µg/ml.

B.5 Extracción del equipo

B.5.1 Generalidades

Se preparan los extractos de acuerdo a los principios descritos en el apartado 4.4.6.

B.5.2 Extracción que simula la utilización del equipo

Para simular la utilización del equipo se utiliza agua. Se efectúa la extracción con simulación de utilización, bajo las condiciones más adversas que ponen a prueba la utilización a la que el equipo se destina.

Por ejemplo, se extraen los equipos que entran en contacto con la sangre y los equipos parenterales con agua, o con otros fluidos acuosos, llenando por completo o purgando la vía de sangre o de fluido (según la forma de contacto que sea apropiada).

NOTA 19: Cuando se proceda al llenado por completo, debe asegurarse que no quedan espacios vacíos.

Cuando no es posible llenar los componentes del equipo que entra en contacto con el paciente o usuario, se coloca todo, o una porción crítica y representativa del equipo, en un recipiente apropiado, utilizando una relación apropiada de masa de muestra/volumen del fluido de extracción. Se toman varias porciones representativas del equipo según sea necesario para asegurar la confianza en los datos, calculadas a partir de muestras pequeñas o de equipos grandes.

Se extraen las muestras durante un tiempo equivalente al tiempo máximo de un solo uso o superior a éste (o que garantice la extracción total), y a temperaturas que simulen las condiciones más adversas, según se describe en el apartado 4.4.6. De forma alternativa, se preparan una serie de extractos (se recomienda un mínimo de tres) que representen varios períodos más cortos de tiempo, y se utilizan estas tasas de extracción para calcular los efectos de una exposición de mayor duración o que se repita cotidianamente.

Si la determinación analítica no se hace inmediatamente, se decanta el extracto de la muestra y se cierra herméticamente en un vial cuyo septo esté recubierto de PTFE. El espacio muerto en el vial de cualquier solución patrón o extracto, deberá ser menor del 10% del volumen total. El extracto puede almacenarse en el frigorífico un máximo de 4 días. Se procede con precaución cuando se utiliza la extracción acuosa para determinar OE, pues el OE puede reaccionar y convertirse en EG o ECH, o ambos, durante el almacenamiento del extracto acuoso (Chesler, et al., 1989).

B.5.3 Procedimiento exhaustivo utilizando extracción térmica

Se pesa una muestra de 1 g con una precisión de 0,1 mg, y se introduce en un vial de 15 ml tapado con un tapón dotado de septo. Se coloca el vial sellado en una estufa a 100 °C y se calienta durante 60 min. Se retira el vial de la estufa, se deja enfriar a temperatura ambiente, y se agita vigorosamente antes de extraer las muestras. Se inyectan por duplicado alícuotas de 100 µl del gas en el espacio muerto del vial en la columna del cromatógrafo, y se determinan las áreas o las alturas de los picos de OE. Se calcula la media para las dos muestras.

Se quita el tapón del vial bajo una campana de gases, y se purga el vial con nitrógeno seco durante 30 segundos. Se vuelve a tapar el vial utilizando un septo nuevo, y se repiten el calentamiento y la inyección tantas veces sea necesario, hasta que una cantidad extraída de OE, sea menor del 10% de la cantidad extraída la primera vez. Se calcula la concentración de OE en la muestra con referencia a la curva patrón, sumando los valores de las concentraciones de OE correspondientes a las mediciones del área de pico o altura de pico media obtenidas en cada tratamiento de las muestras.

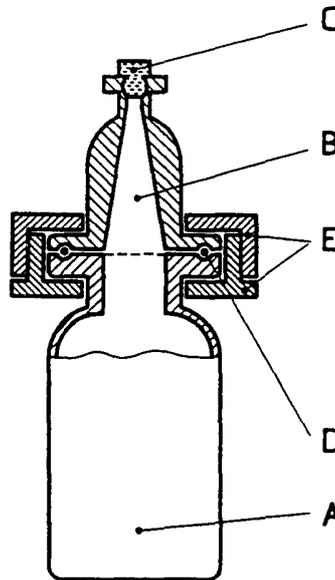
NOTA 20: El régimen de tiempo/temperatura descrito en este apartado es relativamente arbitrario. Una técnica experimental mejor consiste en variar el tiempo permitido para que se alcance la presión parcial de equilibrio del OE. Se procede con cuidado para que el material de relleno de la columna no se introduzca en la aguja durante la inyección. La experiencia ha demostrado que el someter a ensayo la muestra caliente inmediatamente después de haber sido retirada de la estufa, dará lugar a un error a menudo mayor del 20%, causado por pérdidas de material desde el interior de la jeringuilla, al extraerla del vial, y al equilibrarse la

presión dentro de la jeringuilla con la presión atmosférica del exterior. Algunos materiales reabsorben OE, al alcanzar su temperatura el equilibrio con la temperatura ambiente. Algunos materiales parecen también reabsorber completamente el OE del interior del vial si éste se deja enfriar. En el análisis de estos materiales, las muestras y los patrones pueden precisar ser inyectados en la columna mientras están todavía calientes o templados, y después ser purgados (según se describe en este apartado) sin enfriamiento posterior.

NOTA 21: Se están investigando procedimientos automáticos de análisis del gas en el espacio muerto, por el grupo de trabajo ISO/TC 194/WG 11, con vistas a su inclusión en futuras ediciones de esta parte de la Norma ISO 10993.

B.5.4 Extracción exhaustiva con etanol, seguida de análisis del gas en el espacio muerto sobre el extracto etanólico

B.5.4.1 Patrones de calibración. Se preparan los patrones de OE, diluyendo OE en etanol para la obtención de soluciones que contienen concentraciones de 0,4 µg/ml, 0,8 µg/ml, 1,2 µg/ml, 1,6 µg y 2,0 µg/ml. Se prepara una solución patrón que contenga óxido de propileno diluido en etanol con una concentración de 0,5 µg/ml, según se describe en el apartado B.4.3. Se enfrían estas soluciones patrón, y un número apropiado de las botellas especiales para análisis en espacio muerto (véase la figura B.2), en una mezcla frigorífica de nieve carbónica e isopropanol, u otra equivalente. Se transfieren alícuotas apropiadas de cada solución patrón de OE y el mismo volumen de la solución patrón de óxido de propileno, a las botellas especiales para análisis en espacio muerto. Estas botellas se calientan a 70 °C durante 30 min, y se inyectan por duplicado alícuotas de 100 µl a 1 ml del gas en el espacio muerto de cada botella en la columna del cromatógrafo. Se efectúa la medición de la altura o del área de los picos de OE y óxido de propileno, y se representa el cociente de las alturas de picos o las áreas de picos, frente a la concentración de OE para obtener la calibración.



- A Líquido
- B Espacio muerto
- C Septo
- D Anillo de estanquidad
- E Pinza

Figura B.2 — Botella especial para análisis en espacio muerto

B.5.4.2 Procedimiento analítico. Se pesa una muestra de 5 g (ó 0,5 g), se corta en trozos pequeños (5 mm de longitud para tubos, 10 mm para láminas), con una precisión de 0,1 mg, y se introducen en una botella especial para análisis en espacio muerto de 100 ml (ó 10 ml) de capacidad. Se añaden 50 ml (ó 5 ml) de solución patrón de óxido de propileno (0,25 µg/ml) al interior de la botella. Se tapa la botella, se aplica la pinza al tapón, y se calienta la botella así sellada a 70 °C durante 3 h con agitación suave. Se inyectan por duplicado muestras de 100 µl a 1 ml del gas en el espacio muerto en la columna del cromatógrafo, y se determinan las relaciones de pico de óxido etileno/óxido de propileno. Se calcula la media del contenido de OE para las dos muestras por referencia a la recta de calibración.

B.5.5 Extracción exhaustiva con disolvente

Se pesa con exactitud una muestra de equipo de aproximadamente 1 g, y se introduce en un matraz aforado de vidrio tapado, de capacidad apropiada para reducir al mínimo el espacio muerto.

Se pipetea 10 ml del disolvente escogido en el matraz aforado. Se tapa el matraz y se deja reposar durante 24 h a temperatura ambiente.

NOTA 22: Estas temperaturas y tiempos fueron los mismos que se utilizaron en la evaluación de referencia. Pueden substituirse por otras temperaturas y tiempos validados.

Se inyecta por duplicado alícuotas de 1 µl a 5 µl en la columna del cromatógrafo. Se calcula la concentración de OE en las muestras por referencia a la curva patrón, y se calcula la media para las dos muestras.

B.5.6 Extracción exhaustiva con etanol, seguida de preparación del derivado bromhidratado y cromatografía, utilizando el cromatógrafo en fase gaseosa equipado con detector de captura electrónica

B.5.6.1 Patrones de calibración. Se preparan patrones de OE, diluyendo OE en etanol para dar disoluciones que contengan las siguientes concentraciones de OE: 0,4 µg/ml, 0,8 µg/ml, 1,2 µg/ml, 1,6 µg/ml y 2 µg/ml. Se prepara un patrón que contenga óxido de propileno en etanol con una concentración de 0,5 µg/ml según se describe en el apartado B.4.3. Se preparan mezclas patrón mezclando volúmenes iguales de cada solución patrón de OE y la solución patrón de óxido de propileno.

Se transfiere 1 ml de cada mezcla patrón a un vial de tapón roscado. Se añaden dos gotas ($\approx 0,015$ g) de ácido bromhídrico a la mezcla a través del septo con una aguja de inyección. Se deja reposar el vial durante 1 h a temperatura ambiente. Se calienta el vial durante 1 h a 50 °C en un baño de agua con suave agitación, y después se deja enfriar a temperatura ambiente.

Se añaden 0,02 g de bicarbonato de sodio al vial, y se agita el vial longitudinalmente durante 30 min. Se deja reposar el vial durante 10 min. Se agita de nuevo horizontalmente durante 30 min. Se deja reposar el vial durante 10 min y se centrifuga a 3 000 r/min durante 5 min. Se filtra la mezcla a través de un filtro Milipore³⁴⁾ pequeño.

Se inyectan por duplicado alícuotas de 1 l de cada filtrado en la columna del cromatógrafo, para obtener respuestas de calibración para las alturas relativas de pico de etilenbromohidrina (EBH) frente a propilenbromohidrina (PBH).

Preparar una recta de calibración, representando los valores de las alturas relativas de pico EBH/PBH frente a las cantidades de OE, en microgramos.

B.5.6.2 Procedimiento de análisis. Este procedimiento se utiliza con los patrones preparados según se describe en el apartado B.5.6.1.

Se enfría la solución patrón de óxido de propileno (0,25 µg/ml) y un vial de tapón roscado en un baño de nieve carbónica e isopropanol, o mezcla frigorífica equivalente. Se transfiere 1 ml de la solución patrón de óxido de propileno al vial.

Se pesa una porción de muestra de 10 mg a 30 mg con una precisión de 0 mg y se coloca en el vial.

Se añaden dos gotas ($\approx 0,015$ g) de ácido bromhídrico al vial a través del septo, con una aguja de inyección. Se deja reposar el vial durante 1 h a temperatura ambiente, y después se calienta

durante 8 h a 50 °C en un baño de agua con agitación suave. Se calienta el vial durante 16 h más a 50 °C en una estufa de laboratorio, y después se deja enfriar a temperatura ambiente.

Se añaden 0,02 g de bicarbonato de sodio al vial, y se agita longitudinalmente durante 30 min. Se deja reposar el vial durante 10 min. Se agita de nuevo horizontalmente durante 30 min. Se deja reposar el vial durante 10 min y se centrifuga a 3 000 r/min durante 5 min. Se filtra la mezcla a través de un filtro Millipore^{3 4} pequeño.

Se inyectan por duplicado alícuotas de 1 µl de cada filtrado en la columna del cromatógrafo, para obtener respuestas de calibración para las alturas relativas de pico de etilenbromohidrina (EBH) frente a propilenbromohidrina (PBH).

Se calcula la media de las dos muestras y se determina la concentración de OE por referencia a la recta de calibración.

B.5.7 Extracción exhaustiva de ECH utilizando agua

Se pesa con exactitud una porción (o una muestra entera) de aproximadamente 1 g a 50 g en un recipiente de vidrio tapado de volumen apropiado para reducir al mínimo el espacio muerto. Se transfiere agua en una proporción entre 1:2 y 1:10 (masa de muestra en gramos, a volumen de agua en mililitros) al recipiente de vidrio y se tapa éste. Se deja reposar durante 24 h a temperatura ambiente. Se agita el recipiente y su contenido vigorosamente en un agitador mecánico durante aproximadamente 10 min.⁵

Se inyectan por duplicado partes alícuotas de 1 µl a 5 µl en la columna del cromatógrafo. Se calcula la concentración de etilenbromohidrina en la muestra, a partir de las relaciones de áreas relativas de pico o de las alturas relativas de pico del cromatograma, y se comparan con las de la curva de calibración patrón previamente obtenida.

B.6 Cromatografía en fase gaseosa

B.6.1 Generalidades

Se seleccionan los métodos más apropiados de los apartados B.5.2 al B.5.7. Se utiliza el procedimiento cromatográfico adecuado de entre aquellos enumerados en la tabla B.2.

NOTA 23: Puede ser necesaria la optimización de las condiciones.

B.6.2 Extracción para simular la utilización del equipo

Para el OE, conviene utilizar la condición número I con el horno a una temperatura entre 60 °C y 75 °C; para ECH, conviene utilizar la condición número I (véase la tabla B.2) con el horno a una

⁴ La utilización de viales con fondo en U o en V puede ocasionalmente causar una neutralización incompleta, lo que produce cromatogramas de calidad inferior.

⁵ Estas temperaturas y tiempos fueron aquellos utilizados en la evaluación de referencia (AAMI, 1989). Pueden utilizarse otras temperaturas y tiempos apropiados. Si fuese necesario, puede ser más adecuado agitar durante todo el tiempo. Algunos materiales pueden no necesitar agitación.

temperatura entre 150 °C y 170 °C, o la condición II. Se inyectan alícuotas de 1 µl a 5 µl del extracto acuoso.

B.6.3 Procedimiento exhaustivo utilizando extracción térmica

Se utiliza la condición número I con el horno a una temperatura de aproximadamente 125 °C. Se inyectan alícuotas de 100 µl del gas del espacio muerto.

B.6.4 Extracción exhaustiva con etanol, seguida de análisis de gas en el espacio muerto sobre el extracto etanólico.

Se utiliza la condición número IV.

B.6.5 Extracción exhaustiva con etanol, seguida de preparación del derivado bromhidratado y cromatografía, utilizando el cromatógrafo en fase gaseosa equipado con detector de captura electrónica

Se utiliza la condición número VI.

Tabla B.2
Condiciones cromatográficas recomendadas

Condición N°	Columna		Gas portador	Temperatura °C			Volumen de Inyección μ l	Disolvente		
	Tamaño longitud (m) x d.i. (mm)	Material		Relleno	Caudal ml/min	Calefactor			Inyector	Detector
I	2 x 2	vidrio	3% Carbowax 20M sobre Chromosorb 10 ¹⁾ (malla 80 a 100)	Nitrógeno o Helio	20 a 40	60 a 75 para OE 150 a 170 para ECH	200 a 210	220 a 250	1,0 a 5,0	agua
II	2 x 2	vidrio	5% Igepal CO-990 sobre Chromosorb T ¹⁾ (malla 40 a 60)	Nitrógeno o helio	20 a 40	140 a 160	240 a 280	240 a 280	1,0 a 5,0	agua
III	3 x 3,2	acero inoxidable	20% Tricianoetinoxi-propano sobre Chromosorb W AW DMCS1) (malla 100 a 120)	Nitrógeno o helio	20	60	100	200	1 000	gas del espacio muerto (sobre el extracto acuoso)
IV	2 x 3	vidrio	25% Flexol 8N8 sobre Chromosorb W AW ¹⁾ (malla 80 a 100)	Nitrógeno	40	50	120	120	100 a 1 000	gas del espacio muerto (sobre el extracto acuoso)
V	2 x 2	vidrio	Chromosorb 102 ¹⁾ (malla 80 a 100)	Nitrógeno o helio	20 a 40	60 a 170	200 a 210	220 a 250	1,0 a 5,0	propanona o DMF
VI	2 x 3	vidrio	10% Carbowax 20 M sobre Chromosorb W AW ¹⁾ (malla 80 a 100) ²⁾	Nitrógeno	60	120	250	250	1,0	etanol

1) Estos nombres son marcas registradas. Esta información se ofrece para la conveniencia de los usuarios de esta Parte de la Norma ISO 10993, y no constituye un respaldo de ISO a estos productos. Pueden utilizarse productos equivalentes, si puede demostrarse que conducen a los mismos resultados.

2) Es necesario el acondicionamiento de la columna a 190 °C durante 7 días antes de utilizarla.

Anexo C (informativo)

FACTORES QUE INFLUENCIAN LOS RESIDUOS DE ESTERILIZACIÓN DEL EQUIPO

C.1 Parámetros del proceso de esterilización

Los parámetros del proceso de esterilización se definen en la Norma ISO 11135 o EN 550. Sin embargo, para analizar debidamente los residuos de equipos expuestos al OE, es necesario reconocer aquellos parámetros que tienen un efecto sobre el contenido residual. Una buena comprensión de la cinética del OE, permite evaluar una familia de equipos similares gracias al análisis de un representante del caso más desfavorable. El reconocimiento de una familia de equipos similares, es decir, similares en tamaño y utilización, en composición de sus materiales, en la forma de ser envasados, en exposición al OE, y en contenido en agua y grado de exposición a condiciones ambientales, puede hacer innecesario el someter a análisis a cada unidad de la línea de equipo. Los siguientes parámetros afectan al contenido residual, y pueden justificar el análisis de uno o varios equipos representativos del caso más desfavorable.

C.1.1 Composición del material

La capacidad de los materiales de absorber, retener y desprender OE, varía considerablemente. Cuando es posible la conversión de OE en ECH, dos equipos similares hechos de diferentes materiales, son susceptibles de exhibir perfiles residuales muy diferentes. Por ejemplo, los materiales que contienen una fuente de iones cloruro libres, exhiben un amplio grado de variación en la concentración de ECH formada.

De forma similar, un único equipo compuesto de dos materiales no similares, puede precisar una muestra representativa de ambos materiales, para garantizar la precisión del análisis. La composición y el tamaño pueden ser particularmente importantes cuando se considera la simulación de la utilización normal del equipo.

C.1.2 Envasado

La capacidad de los materiales de envasado de permitir la penetración y disipación tanto del OE gaseoso, como de otros residuos posibles, varía ampliamente, lo que a su vez puede afectar los niveles residuales de ECH. La densidad del acondicionamiento y la densidad del contenedor de transporte son otras fuentes de variabilidad.

C.1.3 Ciclo de esterilización con OE

Las condiciones del proceso en las que el equipo se expone al OE, afectan los niveles residuales. Estas condiciones incluyen la concentración de gas, el tiempo de exposición, la temperatura, el tipo de ciclo (o sea, OE puro o mezclado), la humedad (incluyendo la calidad del suministro de agua), re-evacuaciones y aireaciones, y la densidad de carga del equipo y la carga o la configuración de la carga del equipo en el esterilizador.

C.1.4 Aireación

La tasa de OE residual en los equipos es también una función de la temperatura de aireación, de la densidad de carga y configuración de la carga, del flujo de aire, del tipo de carga, de las superficies de los equipos que van a ser aireados y del tiempo de aireación. Algunos materiales tienen tasas de aireación que pueden hacerse dos veces mayores (el tiempo de aireación se reduce a la mitad) por cada 10 °C de aumento de la temperatura de aireación.

NOTA 24: Los factores tales como la humedad, la temperatura y el flujo de aire pueden influenciar la formación de ECH, dependiendo del contenido de OE en el equipo después de ser retirado del esterilizador.

NOTA 25: Se recomienda a los analistas que tengan en cuenta las variaciones estacionales en las tasas de aireación, cuando las muestras se almacenan en condiciones de laboratorio que difieren de las condiciones ambiente existente en el almacén. En algunos casos, que pueden determinarse mejor a través de la experiencia, puede ser necesario mantener las muestras antes de su análisis bajo condiciones representativas de la temperatura más baja a la que es probable que el equipo se almacene durante la aireación.

C.1.5 Recuperación de la muestra

Se recomienda proceder con precaución cuando se tomen rutinariamente de la carga de esterilización las muestras de equipo para su análisis, poco después de que haya concluido el proceso de esterilización. Se recomienda también precaución cuando las muestras del equipo o un extracto de las mismas, se envíen a un lugar de análisis lejos del lugar de esterilización. En tales casos, es conveniente reconocer los errores asociados con el intento de correlacionar las cantidades residual en las muestras y en el resto de la partida, y conveniente también realizar un experimento para establecer las relaciones entre estas condiciones.

C.2 Control de las variables

Cuando se dispone de datos experimentales suficientes sobre la cinética de difusión de los residuos (por ejemplo, la tasa de disipación del OE gaseoso desprendida del embalaje, para la gama de equipos dados), puede ser posible agrupar los equipos para un control del aseguramiento de la calidad, basándose en la similitud de los materiales, de los procesos de fabricación, y de la utilización. Para que tal sistema de clasificación sea eficaz, es preciso controlar las variables discutidas anteriormente. Una falta de control puede traducirse en datos de niveles residuales que sean aplicables solamente a las muestras analizadas.

Anexo D
(informativo)

CONDICIONES DE EXTRACCIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE OE RESIDUAL

Las condiciones de extracción para la determinación de OE residual, necesarias para demostrar el cumplimiento con esta Parte de la Norma ISO 10993, se muestran en el apartado 4.4. La tabla D1 representa las condiciones de extracción recomendadas, que podrían facilitar las operaciones de laboratorio. En el apartado 4.4.6 se dan definiciones específicas para la extracción con simulación de utilización y la extracción exhaustiva.

El principio que inspira la selección apropiada de los métodos de extracción para la determinación de OE, es la evaluación de la dosis a la que se expone el paciente, para demostrar el cumplimiento con los requisitos establecidos en el cuerpo de esta Parte de la Norma ISO 10993, empleando la utilización simulada siempre que sea posible. Para equipos en la categoría de exposición prolongada, es importante advertir que el equipo debe también cumplir los requisitos residuales de las categorías de exposición limitada, y que los equipos de la categoría de contacto permanente, deben también cumplir los requisitos residuales de las categorías de exposición prolongada y de exposición limitada, independientemente de la condición de extracción utilizada. Cuando se demuestre que los residuos cumplen con estos requisitos para equipos sometidos a ensayo por extracción exhaustiva, no es preciso efectuar otros ensayos posteriores por extracción con simulación de utilización.

Tabla D.1
Condiciones de extracción recomendadas

Duración del contacto con el producto (véase apartado 4.3)		
Contacto Permanente (> 30 días)	Exposición prolongada (24 h a 30 días)	Exposición limitada (< 24 h)
Extracción exhaustiva	Con simulación de utilización	Con simulación de utilización

Anexo E
(informativo)

JUSTIFICACIÓN

E. 1 Objeto y campo aplicación (capítulo 1)

El capítulo 1 especifica la justificación para establecer límites permisibles residuales de esterilización de OE en equipos médicos, basándose en la duración del contacto. Se incluye el fundamento para establecer los límites para el OE y la ECH. No es preciso establecer límites máximos permisibles para el EG. Cuando los residuos de OE se controlan ajustándose a los límites aquí especificados, es poco probable que quede retenida en un equipo una cantidad de EG biológicamente significativa (Danielson et al., 1990; Muzeni, 1985; Spitz and Weinberger, 1971).

Para algunos equipos para los cuales las reglas del arte reales impidan la conformidad con estos límites, es permisible una dosis mayor, por cuanto el beneficio que proporcionan al paciente. Estos equipos incluyen sistemas de diálisis extracorpórea, para los cuales la dosis diaria máxima de OE no deberá ser superior a 20 mg, ni la dosis máxima mensual de OE ser superior a 60 mg, pero la dosis máxima para el período de vida podría ser superior a 2,5 g, así como los oxigenadores de sangre y separadores de sangre para los cuales la dosis máxima de OE y la dosis máxima mensual de OE no deberá ser superior a 60 mg, y la dosis máxima para el período de vida, no deberá ser superior a 2,5 g. (Véase el apartado 4.3).

E.2 Límites permisibles [apartado 4.3]

E.2.1 Establecimiento de los límites residuales para el OE

E.2.1.1 Perspectiva histórica. Los límites residual para el OE en equipos médicos, se establecieron aplicando los métodos propuestos por la Asociación de Fabricantes Farmacéuticos de los Estados Unidos (PMA, 1989), con objeto de establecer límites residuales para las impurezas orgánicas volátiles presentes en equipos farmacéuticos administrados crónicamente. Se puso énfasis en los datos para equipos de aplicación oral y parenteral, dado que estos datos se correlacionan mejor con la exposición sistémica potencial al OE de equipos médicos, que los datos de inhalación. El procedimiento se modificó para tomar en cuenta los efectos sistémicos que resultan de la exposición limitada (<24 h), y efectos sistémicos que resultan de la exposición prolongada (>24 h hasta 30 días) (Conine et al., 1992). Esta vía de aproximación precisó que todos los datos relevantes se evaluaran en el proceso de establecimiento de tales límites. La vía estaba también basada en el concepto de que los datos que provienen de los estudios de administración aguda sean la base para los límites de toxicidad aguda, que los datos sobre efectos subcrónicos y los efectos sobre la reproducción deberían constituir la base para los límites de exposición prolongada, y que los datos crónicos y de carcinogenicidad deberían constituir la base para los límites de exposición permanente.

En el caso de que los datos de toxicidad aguda no proporcionasen información útil sobre la dosis/respuesta, a excepción de las dosis letales medias, los datos de toxicidad subcrónica y sobre la reproducción se utilizaron para justificar la conveniencia del límite residual derivado de los datos de toxicidad aguda.

Para establecer los límites sistémicos, se utilizaron los factores de seguridad mostrados en la tabla E.1., modificados según los tiempos de exposición. Incluidos en la consideración del margen de seguridad, están la extrapolación a humanos de datos obtenidos para animales, la calidad del estudio del que se obtienen los límites, la aplicación de estos límites a personas de masa corporal pequeña, y la utilización simultánea de varios equipos en un solo individuo. No se atribuyen valores específicos a ninguno de estos factores individualmente.

NOTA 26: Estos factores se establecen para esta Parte de la Norma ISO 10993 en el momento en que es aprobada. El Comité Técnico reconoce que estos factores pueden ser alterados por la adición de datos en el momento de la próxima revisión.

La fórmula general para calcular el límite, L, en miligramos por día, utilizando los factores de seguridad, fue la siguiente:

$$L = \frac{D \times BW}{SM}$$

donde

la dosis, D, en miligramos por kilogramo por día, puede ser una de las siguientes:

- NOEL es el nivel sin efecto observado;
- LOEL es el nivel con bajo efecto observado;
- NOAEL es el nivel sin efecto adverso observado;
- LOAEL es el nivel con bajo efecto adverso observado;
- LD₅₀ es la dosis letal media;
- LDLo es la dosis letal baja;
- TDL_o es la dosis tóxica baja;

BW es la masa corporal humana, en kilogramos;

SM es el margen de seguridad, igual al factor de seguridad multiplicado por el factor modificador.

Dado que el OE es genotóxico, y ha producido tumores en varios estudios en animales, y es considerado por las agencias regulatorias y grupos de consenso de todo el mundo como un cancerígeno humano, se utilizó también una evaluación cuantitativa estadística de los riesgos con los datos recogidos, para establecer los límites residuales para la exposición permanente. Dado las estimaciones del riesgo de cáncer para el OE han sido desarrolladas por muchos grupos, estas estimaciones fueron utilizadas para proporcionar un límite residual, que representaría la dosis diaria de OE durante el período de vida asociada a un aumento del riesgo de cáncer superior al 1 por 10 000, como ha propuesto la Asociación de Fabricantes Farmacéuticos (PMA) para el OE, considerándolo como una impureza orgánica volátil contenida en equipos farmacéuticos

administrados crónicamente (PMA, 1990). El nivel de riesgo de 10^{-4} es intermedio entre los niveles de riesgo recomendados o utilizados por varias agencias regulatorias. Este nivel refleja una consideración de riesgo/beneficio aplicable a equipos médicos, que es esencial para el bienestar humano. Ciertamente, existen otros riesgos mayores que la sociedad ha generalmente considerado apropiados, cuando existen beneficios para la salud que se obtienen de la utilización del equipo. Sin equipos médicos estériles, muchos procedimientos y equipos capaces de salvar vidas no estarían disponibles, y las infecciones nosocomiales aparecerían de nuevo como un riesgo mayor para la salud.

En resumen, los límites para el OE en equipos médicos, se establecieron sobre la evaluación de muchos informes publicados, y después de considerar varios artículos (Bruch, 1973; Cyr et al., 1989; Environ, 1987; EPA, 1985; Glaser, 1979; PMA, 1990). Dado que la capacidad de producir irritación potencial que posee un equipo médico esterilizado con OE se evalúa por medio de ensayos biológicos, los datos de toxicidad aguda, de los efectos sobre los órganos a los que va destinado, de carcinogenicidad en animales, y de tolerancia en humanos, fueron considerados los más apropiados para el cálculo de los límites residuales contenidos en el equipo que ofrecen protección frente a los efectos adversos potenciales derivados de la exposición al OE. Además, al evaluar la toxicidad potencial de OE, como se expone más adelante, se recomienda considerar la utilización simultánea de más de un equipo, y la utilización de equipos en el tratamiento de neonatos [Environ, 1987; ISO 10993-1:1992, subapartado 6.1 b) 5)].

Tabla E.1
Lista de los factores de seguridad utilizados para fijar los límites sistémicos para el OE

Límite residuales sistémicos	Tipo de estudio	Dosis	Factor de seguridad ¹⁾
Exposición permanente	Toxicidad crónica (> 12 meses de tratamiento/exposición)	NOEL o NOAEL	10
		LOEL o LOAEL	≥10
	Carcinogenicidad	NOEL o NOAEL	100
		LOEL o LOAEL	≥100
Exposición prolongada	Toxicidad subcrónica (≤6 meses de tratamiento/exposición)	NOEL o NOAEL	100
		LOEL o LOAEL	≥100
	Mutagenicidad/genotoxicidad	NOEL o NOAEL	100
		LOEL o LOAEL	≥100
Exposición limitada	Toxicidad aguda	LD ₅₀ animal	>100
		LDLo humana o animal	≥10 ó ≥100
		TDLo humana o animal	>1 ó >10

1) El factor de seguridad real utilizado, puede modificarse basándose en los datos bajo evaluación y en el juicio profesional. En cada caso, el factor modificador adicional puede estar comprendido entre 1 y 10. El margen de seguridad real es el resultado de multiplicar el factor de seguridad por el factor modificador.

E.2.1.2 Consideraciones generales. Los datos de toxicidad aguda y de dosis repetida, demuestran que el OE encuentra fácil acceso a la circulación sistémica una vez ha sido introducido en el cuerpo. La desviación de las dosis letales medias (los valores LD y de los niveles sin efecto observado (los valores NOEL), sugieren también que la potencia de OE a intervalos específicos de tiempo, para la exposición limitada, etc., es comparable cualquiera que sea la ruta de administración (oral, parenteral, e incluso por inhalación). Se han observado efectos adversos a dosis más bajas, conforme aumenta la duración de la exposición. Los efectos específicos sobre los órganos a los que el equipo va destinado, pueden ser sin embargo diferentes. Los límites de la dosis máxima permisible que se discuten en los apartados siguientes, reflejan estas observaciones generales.

E.2.1.2.1 Límite de exposición permanente. El límite para la exposición superior o igual a 30 días, y pudiendo durar una vida, es de 0,1 mg/día. Este límite no debe sobrepasar los 20 mg para un día, o 60 mg para un mes, o 2 500 mg durante una vida. Este límite se basó en datos de toxicidad crónica y de carcinogenicidad, que han sido publicados por muchos investigadores ((Dunkelberg, 1982; Snellings et al., 1984b; Lynch et al., 1983, 1984; NTP, 1987). Todos los

estudios, excepto el publicado por Dunkelberg (Dunkelberg, 1982) fueron estudios de inhalación. No se encontraron datos aceptables para la vía parenteral.

En el estudio de Dunkelberg, los animales se trataron oralmente, por medio de jeringuillas desechables equipadas con tubos para administrar el material en el estómago, es decir, alimentación por sonda. Las dosis administradas fueron superiores a 2,1 (mg/kg) día. En estos estudios de administración crónica, los efectos adversos sobre los órganos a los que va destinado el equipo, incluyeron función espermática disminuida, atrofia de la musculatura esquelética, y lesiones precancerosas del estómago. Por otra parte, se han encontrado muchos tipos de cánceres: leucemias de célula mononucleada, tumores cerebrales primarios, mesoteliomas peritoneales, fibromas subcutáneos, adenomas o carcinomas pulmonares, cistadenomas de las glándulas papilares de Harder, linfomas, adenocarcinomas uterinos o de las glándulas mamarias, y carcinoma de las células escamosas del cardias. En los estudios por vía oral, solamente se han descubierto tumoraciones estomacales, mientras que las otras modificaciones han sido descubiertas en los estudios por inhalación. Estos datos han sido evaluados con la ayuda tanto de los factores de seguridad, como de una técnica de evaluación estadística cuantitativa de los riesgos. Si bien el OE ha sido considerado como un agente carcinógeno genotóxico según su potencial mutagénico, y ha producido múltiples tipos de tumores significativos del ser humano observados en animales, la falta de relaciones epidemiológicas claras entre la exposición al OE en animales y en el hombre, y la falta de relaciones epidemiológicas claras entre la exposición al OE y la aparición de cánceres en el hombre, hizo imposible recurrir a técnicas de evaluación estadística cuantitativa de los riesgos, como el único medio de calcular el límite para una exposición permanente al OE. Como resultado, se han utilizado las dos evaluaciones (factor de seguridad y riesgo cuantitativo), para determinar los límites de exposición permanentes prospectivos. La comparación de los resultados obtenidos por ambos enfoques, ha servido como base para el límite de exposición permanente (PMA, 1990; Conine et al., 1992).

Los datos fundamentales sobre los cuales se basan los cálculos del límite de exposición permanente prospectivo utilizando los factores de seguridad, se resume en la tabla E.2.

La inspección de estos datos revela que las dosis LDLo para el OE para períodos de exposición permanente, es decir, desde 30 días hasta una vida, son comparables sin tener en cuenta las vías de administración o los efectos, si bien no se dispone de datos aceptables que permitan evaluar los efectos asociados a la vía parenteral.

Tabla E.2
Resumen de los datos utilizados para establecer el límite de exposición permanente para el OE

Tipo de estudio	Vía oral LOEL (mg/kg)/día [Referencia]	Inhalación LOEL (mg/kg)/día [Referencia]
Toxicidad crónica	2,1 – Estimado a partir de una dosis de 7,5 mg/kg dos veces por semana [Dunkelberg, 1982]	9,2 ¹⁾ [Lynch <i>et al.</i> , 1983]
Carcinogenicidad	2,1 – Estimado a partir de una dosis de 7,5 mg/kg dos veces por semana [Dunkelberg, 1982]	2,1 ²⁾ [Snellings <i>et al.</i> , 1984b]

- 1) Calculado a partir de un valor de LOEL de 50 ppm en un estudio de 2 años, utilizando monos *Macacus Cynomolgus* para evaluar la función espermática. El OE era administrado 7 h al día, 5 días a la semana. La tasa de ventilación se ha estimado en 1,2 m³ por día, y la masa corporal, en 2,7 kg.
- 2) Calculado a partir de un valor de LOEL de 10 ppm en un estudio de carcinogenicidad, utilizando ratas que habían recibido OE durante 6 h al día, 5 días a la semana. La tasa de ventilación se ha estimado en 290 l por día, y la masa corporal, en 0,5 kg.

Para que la protección del paciente sea la mejor posible, el valor LOEL más bajo evidenciado en los estudios de carcinogenicidad realizados con ratas durante un período de 3 años, correspondiente a una dosis ponderal de 2,1 mg/kg administrada por vía oral, ha servido de base al siguiente cálculo del límite de exposición permanente prospectivo, L_p utilizando el enfoque del factor de seguridad:

$$L_p = \frac{D \times BW}{SM} = \frac{2,1 \times 70}{1\ 000} = 0,15 \text{ mg/día}$$

donde

D es el nivel LOEL más bajo en estudios de toxicidad crónica o de carcinogenicidad;

BW es la masa corporal de un adulto de 70 Kg;

SM es el margen de seguridad de 1 000 para referir al hombre los datos de los estudios de carcinogenicidad realizados con animales. El margen de seguridad tiene en cuenta la posibilidad de las diferencias entre las especies, la variabilidad inherente dentro de la población humana, la naturaleza, localización e incidencia de las respuestas observadas, la ausencia de datos parenterales, la ausencia de un nivel de efecto nulo establecido en los estudios apropiados, y el beneficio médico obtenido de la utilización de equipos médicos estériles.

Las evaluaciones de los riesgos cuantitativos están disponibles en diversas publicaciones. Estas estimaciones del riesgo de cáncer han sido calculadas para el OE por numerosos grupos de investigación, como lo menciona Environ (Environ, 1987). Estos grupos, incluida la FDA, la DHS de California, la OSHA y la USEPA, han recurrido a modelos de linearización de nivel múltiple o a métodos de linearización proporcional de Gaylor-Kodell, para producir estimaciones del riesgo carcinogénico unitario a partir de datos experimentales con animales, para la leucemia, el tumor cerebral, el tumor de estómago y el mesotelioma. Estas estimaciones del riesgo carcinogénico unitario estaban comprendidas entre 0,016 [(mg/kg)/día]⁻¹ y 0,35 [(mg/kg)/día]⁻¹. Traduciendo estos valores a las dosis medias diarias durante una vida para un adulto de 70 Kg., con una probabilidad, en el caso más desfavorable, de aumentar el riesgo de cáncer en un 1 por 10 000, conduce a una banda de 0,02 mg/día a 0,44 mg/día, con una media de 0,12 mg/día. Un ejemplo de estos cálculos para la dosis media, AD, utilizando una estimación del riesgo carcinogénico unitario de 0,016 [(mg/kg)/día]⁻¹ se describe a continuación:

$$AD = \frac{\text{Riesgo} \times BW}{UCR} = \frac{0,0001 \times 70}{0,016} = 0,44 \text{ mg/día}$$

donde

Riesgo es el aumento de riesgo de cáncer en un 1/10 000;

BW es la masa corporal de un adulto de 70 kg;

UCR es el riesgo carcinogénico unitario, expresado en unidades de [(mg/kg)/día]⁻¹.

A partir de una evaluación del límite prospectivo de 0,15 mg/día y de la dosis media correspondiente a un aumento del riesgo de cáncer de 1/10 000 de 0,12 mg/día, se ha determinado que una dosis de 0,1 mg/día, aseguraría una protección adecuada contra los efectos adversos que resultan de una exposición permanente al OE. Este límite para una exposición permanente, cubre una exposición potencial para un período de tiempo muy amplio, desde 30 días a 25 000 días durante una vida de 70 años. Así, la estimación real del riesgo de cáncer que resulta de la exposición al OE con este límite, podría ser muy inferior al 1/10 000 en muchos casos, dado que el límite supone una exposición diaria al OE durante 70 años. Un estudio de la utilización de equipos médicos esterilizados con OE, ha dado lugar a estimar que la probabilidad real de contraer cáncer por exposición al OE desprendido por equipos médicos, es bajo, alrededor de 7 en un millón. (Environ, 1987).

E.2.1.2.2 Límite de exposición prolongada. El límite para una exposición de 24 h a 30 días es de 2 mg/día, y no debe ser superior a 20 mg en un día dado, o 60 mg en un mes dado. Este límite ha sido establecido a partir de datos de estudios de toxicidad subcrónica y de efectos sobre la reproducción (teratogenicidad, función reproductiva, fetotoxicidad, etc.) obtenidos para varias especies de animales. Estos datos han sido publicados por muchos investigadores (Hollingsworth et al., 1956; Woodard and Woodard, 1971; Balazs, 1976; Northup et al., 1981; Snellings et al., 1984a; NTP, 1987; Jacobson et al., 1956; Jones-Price et al., 1982; LaBorde y Kimmel, 1980;

Hackett et al., 1982; Snellings et al., 1982a, 1982b). En los estudios de administración de OE por vía oral, parenteral y por inhalación durante tiempos variables de hasta 226 días de duración, el OE ha producido una amplia variedad de efectos adversos, tales como el vómito, temblores, irritación de las vías respiratorias, lesiones pulmonares, renales, testiculares, de las cápsulas suprarrenales, lesiones tóxicas, hepáticas y gastrointestinales, retraso del crecimiento y disminución de la masa corporal, disfunciones del sistema nervioso, parálisis y atrofia muscular (extremidad posterior), y anemia. Las dosis oscilaron desde 1 mg/kg hasta 100 mg/kg e incluso superiores: Los estudios sobre reproducción incluyeron la exposición de los animales hasta un máximo de 12 semanas antes del apareamiento, la exposición durante toda o parte de la gestación, y exposición hasta un máximo de 21 días después del parto. Las dosis oscilaron desde 5 mg/kg hasta 150 mg/kg e incluso superiores. En estos estudios, el OE produjo una toxicidad maternal, embriotoxicidad, fetotoxicidad, retrasos en el desarrollo fetal y malformaciones del esqueleto cervical y torácico. Este último efecto ha sido solamente observado en la descendencia de ratones, a los que se les había administrado OE por vía intravenosa a una dosis de 150 mg/kg, lo que representa aproximadamente los dos tercios de la dosis LD de OE para ratones hembra, de 260 mg/kg. Los datos fundamentales que sirvieron de base para el cálculo del límite para la exposición prolongada, se resumen en la tabla E.3.

El examen de estos datos de vía oral y parenteral sugiere que los valores de NOEL para el OE durante tiempos de exposición prolongados, es decir, desde 1 día hasta 30 días, son comparables, independientemente de la vía de administración, del tipo de efecto, del órgano destinado a recibir el equipo o del efecto sobre la reproducción. Los datos obtenidos de los estudios de inhalación son similares, aunque el valor NOEL subcrónico estimado parece ser menor que los valores NOEL calculados para las vías oral y parenteral. El valor NOEL en el estudio de inhalación subcrónica parece ser bajo, en parte por la concentración utilizada en el estudio. La concentración superior siguiente fue 50 ppm, una concentración a la cual los únicos efectos adversos registrados por los investigadores, fueron una actividad locomotora reducida, una postura encorvada al caminar y una masa testicular reducida. Dado que los datos para las vías oral y parenteral fueron los más apropiados para equipos médicos, se utilizó el valor NOEL más bajo por vía parenteral (9 mg/kg por vía intravenosa, en un estudio teratológico sobre conejos), que sirvió de base para el cálculo del límite para la exposición prolongada. El cálculo es el siguiente:

$$L = \frac{D \times BW}{SM} = \frac{9 \times 58}{250} = 2 \text{ mg/día}$$

donde

D es el valor NOEL más bajo, en (mg/kg)/día, observado en estudios de efectos subcrónicos o sobre la reproducción con administración parenteral;

BW es la masa corporal de una hembra de 58 Kg., ya que los datos seleccionados provenían de un estudio teratológico con animales gestantes;

SM es el margen de seguridad de 250 (factor de seguridad igual a 100, multiplicado por un factor modificador de 2,5) para referir al hombre los datos de los estudios realizados con animales, y reflejar las variaciones de las respuestas en función de las especies.

Este límite proporciona por lo tanto, un margen de seguridad aceptable para un adulto de 58 kg., a partir de los efectos adversos potenciales del OE para una exposición prolongada, según datos obtenidos en estudios con animales.

E.2.1.2.3 Límite de exposición limitada. El límite para la exposición durante menos de 24 h es 20 mg. Este límite está basado sobre datos de toxicidad aguda obtenidos en estudios con animales de varias especies. Estos datos han sido registrados por muchos investigadores (Carpenter et al., 1949; Smith et al., 1941; Bruch, 1973; Jacobson et al., 1956; Woodard and Woodard, 1971; RTECS, 1987). Aunque existe una cantidad limitada de datos de LDLo o TDLo (PMA, 1990), se utilizaron los valores LD ya que eran los únicos datos apropiados disponibles para la evaluación. Los datos disponibles relativos a la ausencia de LD incluyen tres valores LDL de en el intervalo comprendido entre 100 mg/kg y 200 mg/kg. Los únicos datos dosis/respuesta han sido encontrados en el estudio de inhalación aguda en ratones (NTP, 1987). En este estudio, 9 de 10 ratones murieron después de una exposición al OE con una concentración de 800 ppm (V/V) durante 4 h mientras 0 de 10 ratones murieron después de una exposición al OE con una concentración de 400 ppm (V/V). Así, en los datos sobre los efectos de dosis limitadas que sí existen, las curvas de respuesta de dosis para estos efectos biológicos agudos, y las dosis letales y no letales, tienen valores bastante similares y difieren en un factor menor de 2. Los datos relativos a LD₅₀ se resumen en la tabla E.4.

Tabla E.3
Resumen de los datos utilizados para establecer el límite de exposición prolongada al OE

Tipo de estudio	Vía oral NOEL (mg/kg)/día [Referencia]	Vía Parenteral NOEL (mg/kg)/día [Referencia]	Inhalación NOEL (mg/kg)/día [Referencia]
Toxicidad subcrónica	30 [Hollingsworth, <i>et al.</i> , 1956]	25 [Northup <i>et al.</i> , 1981]	5 ¹⁾ [Snellings <i>et al.</i> , 1984a]
Toxicidad sobre la reproducción	No existen datos	9 [Jones-Price <i>et al.</i> , 1982]	13 ²⁾ [Snellings <i>et al.</i> , 1982a]

1) Calculados a partir de un valor NOEL de 10 ppm en un estudio de 10 a 11 semanas en ratones a los que se les administró OE 6 h por día, 5 días a la semana. La tasa de ventilación se ha estimado en 43 l por día, y la masa corporal en 30 g.

2) Calculado a partir de un valor de NOEL de 33 ppm en un estudio teratológico en ratas gestantes, a las que se les administró OE durante 6 h por día, durante los días 6 al 15 de gestación. La tasa de ventilación se estimó en 290 l por día, y la masa corporal, en 0,35 kg.

Tabla E.4
Resumen de los datos utilizados para establecer el límite de exposición limitada

Miligramos por kilogramo

Vía Oral LD ₅₀	Vía Intravenosa LD ₅₀	Vía Intraperitoneal LD ₅₀	Vía subcutánea LD ₅₀	Inhalación LD ₅₀ ¹⁾
rata: 72	conejo: 175	rata: 150	ratón: 130	10 155 a 773 (estimado)
rata: 240	conejo: 178	ratón: 175	rata: 140	
cobaya: 270	conejo: 180	ratón: 178	rata: 187	
rata: 280	ratón: 260	rata: 178	ratón: 190	
ratón: 280	ratón: 290	rata: 180	conejo: 200	
rata: 330	rata: 350	ratón: 180	ratón: 260	
ratón: 360	rata: 355	conejo: 251		
conejo: 631	rata: 380			

1) Calculados a partir de valores LD₅₀ para 4 h de 800 ppm en ratas (con valores intermedios para otras especies) utilizando una masa corporal (BW) de 250 g y una tasa de ventilación de 290 l/24 h.

La observación de estos datos sugiere que la toxicidad del OE para períodos de exposición limitada, es decir, inferiores a 24 h, es comparable con un factor de aproximadamente tres, independientemente de la vía de administración. Dado que los datos reflejan dosis letales medias y no dosis letales bajas o dosis tóxicas bajas, se utilizó el valor más bajo de los valores LD₅₀ de 72 mg/kg para ratas, en vez de un valor intermedio, que sirvió de base para el cálculo del límite para la exposición limitada, como se indica a continuación:

$$L = \frac{D \times BW}{SM} = \frac{72 \times 70}{250} = 20 \text{ mg}$$

donde

D es la dosis letal media más baja en miligramos por kilogramo;

BW es la masa corporal de un adulto de 70 kg;

SM es el margen de seguridad de 250 para referir los datos de los estudios de exposición aguda realizados en animales, a una exposición única en el hombre. Esto tiene en cuenta las posibles diferencias entre las especies, la variabilidad inherente a la población humana, el hecho que los datos relativos a la dosis media letal (LD₅₀) fueron utilizados en vez de los datos de nivel sin efecto, la calidad de los datos disponibles y el beneficio médico resultante de la utilización de equipos médicos estériles.

El límite por tanto, permite disponer de un margen de seguridad de un factor mínimo de 250 para un adulto de 70 kg, contra los efectos adversos potenciales del OE para una exposición límite, según los datos obtenidos con animales. Otros efectos agudos, tales como la hemólisis de células sanguíneas, no parecen representar un problema incluso si la dosis diaria máxima de 20 mg fuese

administrada en unos pocos minutos (Tanaka et al., 1982; Ohba, 1986). Además, el límite es aceptable en el contexto del valor NOEL derivado a partir de los datos de toxicidad subcrónica y sobre la reproducción, basados sobre el valor NOEL parenteral de una dosis de 9 mg/kg por día, o de 522 mg por día administrados a una mujer de 58 kg, en el curso de administraciones repetidas.

E.2.1.3 Situaciones especiales. Existen circunstancias especiales, por ejemplo las intervenciones quirúrgicas importantes, en las que la naturaleza de la terapia aplicada para salvar la vida, altera significativamente el análisis de riesgos frente a beneficios. Los límites de exposición dados están basados en los riesgos y beneficios asociados con circunstancias menos críticas. En consecuencia, existe la posibilidad de apartarse de los límites en situaciones en las que está en peligro la vida, cuando no es posible cumplir los límites especificados.

Durante el desarrollo de esta Parte de la Norma ISO 10993, se reconocieron tres situaciones especiales para las que los límites del apartado 4.3 no serían prácticos, debido a las limitaciones de los equipos mismos, o a los datos de estudios realizados en el hombre, que mostraron que las dosis prescritas en el apartado 4.3 no eran aplicables. Así, en los estudios realizados en humanos, se averiguó que deberían revisarse las especificaciones relativas a los residuos presentes en los lentes intraoculares. Durante el tratamiento de la sangre con oxigenadores o separadores de los componentes sanguíneos, se reconoce que el beneficio médico compensa el riesgo, y ésto se tiene en cuenta al considerar los límites permisibles a corto plazo para estos equipos. En el caso de los equipos de diálisis extracorpórea, la utilización a largo plazo podría potencialmente conducir a sobrepasar la dosis máxima autorizada para una vida, lo que es igualmente tenido en cuenta.

E.2.1.3.1 Límite para las lentes intraoculares. El límite residual para las lentes intraoculares (equipos implantados en el ojo) es 0,5 µg de OE por lente por día. Este límite no está basado en el límite de contacto permanente con una dosis media diaria de 0,1 mg (100 µg) por día sobre el período de vida. Esta es una situación particular, en la cual la dosis máxima liberada, no puede ser superior a un valor tope de 0,5 µg por lente y por día. Esto es necesario para evitar las irritaciones de los tejidos oculares debidas al OE (Shimizu et al., 1986; McDonald et al., 1977; Edelhauser et al., 1983 y Patel, 1993).

E.2.1.3.2 Oxigenadores de sangre y separadores de los componentes sanguíneos. El límite de exposición limitada para tales equipos es 60 mg en un período de 24 h. Estos equipos se utilizan en intervenciones drásticas, tales como operaciones a corazón abierto. Este límite tiene en cuenta la necesidad acuciante del paciente durante tales procedimientos, pero manteniendo aún un factor de seguridad superior a 80. En tales circunstancias, esta diferencia de límites está garantizada.

E.2.1.3.3 Equipos de diálisis extracorpórea. La dosis máxima admisible de OE de 2,5 g para una vida puede sobrepasarse, con la condición de que se cumpla tanto la dosis diaria máxima (20 mg) como la dosis máxima mensual (60 mg) de OE. Para sobrepasar la dosis de OE para una vida (2,5 g), un paciente cuya sangre necesite purificarse, necesitaría estar expuesto a 2 mg de OE tres veces a la semana, y tal exposición precisaría continuar durante ocho años. Si esta exposición continuase durante 70 años - y nadie se ha sometido a tal tratamiento tanto tiempo - el riesgo de cáncer aumentaría del 1 por 10 000 hasta el 1 por 1 000. Este aumento del riesgo de cáncer se compensa por el beneficio de la diálisis extracorpórea de la sangre durante una vida.

E.2.2 Establecimiento de los límites residuales para la ECH

E.2.2.1 Perspectiva histórica. Los límites residuales para la ECH contenida en equipos médicos, se establecieron utilizando la metodología presentada en el apartado E.2.1 para el OE, salvo que la metodología de evaluación estadística cuantitativa de los riesgos para establecer un límite residual, en el caso de la exposición permanente con una probabilidad del 1 por 10 000 de aumento del riesgo de cáncer, no se ha aplicado. La ECH no ha exhibido ningún potencial de producir cáncer en estudios biológicos realizados en animales, y no está apenas considerada como un posible agente carcinógeno humano por las agencias de reglamentación o grupos de consenso. Los límites para la ECH en equipos médicos, se establecieron sobre la evaluación de muchos informes publicados. Los datos de toxicidad aguda, los datos de los efectos sobre los órganos con los que entra en contacto y los datos de toxicidad crónica animal, fueron considerados los más apropiados para el cálculo de los límites mismos, como se expone en el apartado E.2.2.2.

E.2.2.2 Consideraciones generales. Los datos de toxicidad aguda y los datos de administración repetida, demuestran que la ECH alcanza con facilidad la circulación sanguínea, una vez que penetra en el organismo. La observación de las dosis letales medias (LD_{50}) y de los niveles sin efecto observado (valores NOEL), sugieren también que la potencia de la ECH para intervalos de tiempos de administración específicos, exposición limitada, etc., es comparable cualquiera que sea la vía de administración (oral, parenteral e incluso por inhalación). Según los datos de toxicidad subcrónica y crónica, la ECH no parece hacerse más potente según aumenta la duración de exposición. Si bien la ECH no presenta una toxicidad orgánica real, los efectos que ejerce sobre ciertos órganos específicos, pueden variar con la vía y la duración de la exposición. Las dosis límites diarias admisibles que se discuten en los apartados que siguen, reflejan estas observaciones generales.

E.2.2.2.1 Límite de la exposición permanente. El límite para una exposición superior a 30 días, y pudiendo alcanzar hasta el periodo de vida es de 2 mg por día. No debe sobrepasar 12 mg en ningún día dado, ni 60 mg en ningún mes dado, ni 50 000 mg en una vida. Este límite se obtuvo a partir de datos de toxicidad crónica y de carcinogenicidad, que han sido registrados por Johnson (1976b), Mason et al., y NTP (1985). En estos estudios, las ratas recibieron la ECH en el agua de bebida hasta los 24 meses de edad, otros grupos de ratas recibieron la ECH por inyección subcutánea dos veces por semana durante al menos un año, y otros grupos de ratas y ratones recibieron la ECH por aplicación dérmica durante 103 a 104 semanas. Las dosis estuvieron comprendidas entre 0,086 (mg/kg)/día y 71 (mg/kg)/día, o incluso fueron mayores a éstas. Estos estudios, no han revelado ningún aumento de la frecuencia de cánceres relacionados con la administración de la ECH, ni la presencia de una toxicidad crónica [exceptuando una posible disminución de las tasas de supervivencia (Johnson, 1976b)]. Los datos fundamentales que sirvieron de base para el cálculo de los límites de exposición permanente prospectivos, se resumen en la tabla E.5.

La observación de estos datos sugiere que los valores de NOEL de la ECH para los tiempos de exposición permanentes, es decir, desde 30 días hasta el período de vida, son comparables, independientemente de la vía de administración (oral o parenteral), y son comparables a los evidenciados en los estudios de toxicidad subcrónica y sobre la reproducción. Los animales son más sensibles a la toxicidad general sistémica de la ECH que a la capacidad potencial de ésta, si existe, de ser carcinógena.

Para que la protección del paciente sea la mejor, se han utilizado los valores NOEL más bajos para la toxicidad crónica con dosis de 2,9 (mg/kg)/día administradas por vía subcutánea a ratas durante al menos un año, y para los estudios de carcinogénesis, con dosis de 16 (mg/kg)/día administrados por vía oral a ratas hasta la edad de 24 meses. Estos valores sirvieron de base para el cálculo de un límite de exposición permanente prospectivo, $L_{p,crónico}$, según se indica a continuación:

$$L_{p, crónico} = \frac{D \times BW}{SM} = \frac{2,9 \times 70}{100} = 2 \text{ mg/día}$$

Tabla E.5
Resumen de los datos utilizados para establecer el límite de exposición permanente para la ECH

Tipo de estudio	Vía oral NOEL (mg/kg)/día [Referencia]	Vía Parenteral NOEL (mg/kg)/día [Referencia]	Aplicación dérmica NOEL (mg/kg)/día [Referencia]
Toxicidad crónica	4 LOEL [Johnson, 1976b]	2,9 estimado a partir de 10 mg/kg dos veces por semana [Mason <i>et al.</i> , 1971]	No existen datos
Carcinogenicidad	16 ¹⁾ [Johnson, 1976b]	No existen datos	71 estimado a partir de 100mg/kg cinco veces por semana ¹⁾ [NTP, 1985]

1) La ECH no produjo aumento de la frecuencia de tumores para las dosis más altas estudiadas.

donde

D (dosis) es el valor NOEL más bajo, en miligramos por kilogramo por día, para efectos crónicos;

BW es la masa corporal de un adulto de 70 kg;

SM es el margen de seguridad de 100 (factor de seguridad de 10, multiplicado por un factor modificador de 10) que refleja una traducción conservadora de los datos animales a los humanos.

$$L_{p, cancer} = \frac{D \times BW}{SM} = \frac{16 \times 70}{100} = 11 \text{ mg/día}$$

donde

- D (dosis) es el valor NOEL más bajo, en miligramos por kilogramo por día, observado en los estudios de carcinogénesis (de hecho, no ha aumentado la frecuencia de aparición de tumores);
- BW es la masa corporal de un adulto de 70 kg;
- SM es el margen de seguridad de 100 (factor de seguridad de 10, multiplicado por un factor modificador de 10) producción tumoral en dos controles biológicos realizados con animales.

Al observar estos límites prospectivos (2 mg/día y 11 mg/día), se determinó que 2 mg/día sería una protección suficiente contra los efectos de la ECH que resultan de la exposición permanente. El límite entonces, proporciona un margen de seguridad de al menos 100 para un adulto de 70 kg, contra los efectos adversos potenciales de la ECH que resultan de la exposición permanente, según datos basados en experimentación con animales.

E.2.2.2.2 Límite de la exposición prolongada. El límite para una exposición desde 24 h hasta 30 días es de 2 mg/día, y no debe sobrepasar 12 mg en ningún día, ni 60 mg en ningún mes. El límite se obtuvo a partir de datos de toxicidad subcrónica y de datos sobre efectos sobre la reproducción (teratogenicidad), obtenidos para varias especies de animales. Estos datos han sido registrados por muchos investigadores (Ambrose, 1950; Oser et al., 1975; Balazs, 1976; Alleva citado en Balazs, 1976; Woodard and Woodard, 1971; Courtney et al., Jones-Price et al., 1985a y 1985b).

Los estudios de administración repetida de ECH, por vía oral o parenteral, durante tiempos variables que pudieron alcanzar hasta 403 días, han mostrado que se produjeron una variedad de efectos adversos, que incluyeron la muerte (con un aumento de las masas relativas de los órganos, el hígado moteado con sombras oscuras, hemorragia en las cápsulas suprarrenales en la glándula pituitaria y en el conducto gastrointestinal, miocarditis, congestión tiroidea, y una congestión pulmonar en un estudio), la disminución de masa corporal y un retardo en el crecimiento, un aumento de la masa cerebral, de las cápsulas suprarrenales, de los riñones, pulmones y tiroides, testículos de pequeño tamaño o lesiones testiculares, vómitos, la disminución de la hemoglobina y del hematocrito, lesiones hepáticas, hematopoyesis ectópica y proliferación medular ósea, así como hiperlinfocitosis. Las dosis estuvieron comprendidas entre 2,7 (mg/kg)/día y 93 (mg/kg)/día aproximadamente, o dosis incluso mayores. Los estudios sobre la reproducción fueron exclusivamente teratológicos, en los que la ECH fue administrada durante varios períodos de tiempo de gestación. En estos estudios, la ECH produjo toxicidad maternal, toxicidad fetal, y en un estudio, un aumento de las malformaciones fetales. Este último efecto fue observado solamente en la descendencia de ratones a los que se les administró la ECH por vía intravenosa, con una dosis de 120 (mg/kg)/día, que está por demás comprendida en el intervalo de dosis letales agudas (Jones-Price et al., 1985b). Los datos fundamentales que sirvieron de base al cálculo del límite para la exposición prolongada, se resumen en la tabla E.6.

Tabla E.6
Resumen de los datos utilizados para establecer el límite de exposición permanente para la ECH

Tipo de estudio	Vía oral NOEL (mg/kg)/día [Referencia]	Vía Parenteral NOEL (mg/kg)/día [Referencia]
Toxicidad subcrónica	13 [Oser <i>et al.</i> , 1975]	2,7 estimado a partir de 6,4 mg/kg tres veces por semana [Lawrence <i>et al.</i> , 1971b]
Toxicidad sobre la reproducción	50 [Courtney, <i>et al.</i> , 1982]	9 [Jones-Price <i>et al.</i> , 1985a]

La observación de estos datos, sugiere que los valores NOEL de la ECH para períodos de exposición prolongada (de 1 a 30 días) son comparables, independientemente de la vía de administración, del órgano específico con el que la ECH entra en contacto o de los efectos sobre la reproducción. El valor NOEL más bajo para la administración parenteral de 2,7 mg/kg a partir de un estudio intraperitoneal en ratas, se utilizó como base para el cálculo del límite, L, para la exposición prolongada, como se indica a continuación:

$$L = \frac{D \times BW}{SM} = \frac{2,7 \times 70}{100} = 1,9 \text{ mg/día}$$

Donde

- D (dosis) es el valor NOEL más bajo, en miligramos por kilogramo por día, obtenido de estudios de efectos subcrónicos y de efectos sobre la reproducción por administración parenteral;
- BW es la masa corporal de un adulto de 70 kg;
- SM es el margen de seguridad de 100 (factor de seguridad de 100, multiplicado por un factor modificador de 1).

Si bien el límite calculado es ligeramente menor que el límite real mismo (1,9 mg/día frente a 2 mg/día), el último de los dos límites citados se considera como adecuadamente protector, cuando se tiene en cuenta que la ECH no aumenta en toxicidad, comparando la exposición crónica frente a la prolongada. El límite por lo tanto, proporciona un margen de seguridad casi de 100 para un adulto de 70 kg, contra los efectos adversos potenciales de la ECH que resultan de una exposición prolongada, según datos de la experimentación con animales.

E.2.2.3 Límite de la exposición limitada. El límite para un tiempo inferior a 24 h es 12 mg. Este límite se obtuvo a partir de datos de toxicidad aguda recopilados de varias especies de animales. Estos datos han sido registrados por varios investigadores (Rowe y McCollister, 1982; Woodard y Woodard, 1971; Lawrence *et al.*, 1971a y 1972; RTECS, 1990; Mason *et al.*, 1971; Weil, 1972). Si

bien representan una cantidad limitada de datos de toxicidad aguda diferentes de las dosis letales medias que estaban disponibles y podrían haber sido tenidos en cuenta, estos datos no se consideraron apropiados para esta evaluación. Los datos relativos a los valores LD₅₀ se resumen en la tabla E.7.

Tabla E.7
Resumen de los datos utilizados para establecer el límite de exposición limitada para la ECH

Miligramos por kilogramo

Vía Oral LD ₅₀	Vía Intravenosa LD ₅₀	Vía Intraperitoneal LD ₅₀	Vía subcutánea LD ₅₀	Otros LD ₅₀
				Piel
rata: 50	rata: 67	rata: 44	rata : 60	
rata: 60	conejo: 80	rata: 58	rata: 72	conejo: 67,8
conejo: 600	rata: 84	rata: 60	conejo: 100	cobaya: 84
rata: 70	rata: 100	rata: 63	ratón: 120	
rata: 71,3	rata: 110	rata: 64	ratón: 150	
rata: 72	ratón: 120	rata: 70		
ratón: 80		conejo: 80		
ratón: 81,4		conejo: 84,6		
ratón: 91		cobaya: 85		
ratón: 95		cobaya: 85,5		
cobaya: 110		conejo: 90		
ratón: 150		ratón: 97		
ratón: 180		ratón: 98,4		
		ratón: 120		
		ratón: 130		

La inspección de los datos de la tabla E.7, sugiere que la toxicidad de la ECH para la exposición limitada, es decir, menor de 24 h, es casi idéntica, independientemente de la vía de administración. Dado que los datos reflejan dosis letales medias, y no las dosis letales bajas o las dosis tóxicas bajas, se utilizó el valor más bajo de los LD₅₀ 44 mg/kg por vía peritoneal en ratas, en lugar de un valor intermedio, como la base que sirvió para el cálculo del límite de exposición limitada, L, según se indica a continuación:

$$L = \frac{D \times BW}{SM} = \frac{44 \times 70}{250} = 12 \text{ mg/día}$$

donde

D (dosis) es la dosis letal media más baja, en miligramos por kilogramo;

BW es la masa corporal de un adulto de 70 kg;

SM es el margen de seguridad de 250 para referir los datos de toxicidad aguda obtenidos con animales, a la exposición única en el caso humano. Esto tiene en cuenta la posibilidad de las diferencias entre las especies, la variabilidad inherente a la población humana, el hecho que las dosis relativas a la dosis letal media (LD₅₀) fuesen utilizadas en vez de los datos del límite sin efecto observado, la calidad de los datos disponibles, y el beneficio médico que resulta de la utilización de equipos médicos estériles.

Este límite proporciona un margen de seguridad de al menos 250, para un adulto de 70 kg, contra los efectos adversos potenciales de la ECH que resultan de la exposición limitada, según datos de la experimentación con animales. Además, el límite es aceptable en el contexto de los valores NOEL que provienen de datos sobre toxicidad subcrónica y sobre la reproducción, basados sobre el valor NOEL parenteral más bajo de una dosis de 2,7 (mg/kg)/día, o de 189 mg estimados para un adulto de 70 kg en el curso de administraciones repetidas.

E.2.3 Establecimiento de los límites residuales para el EG

La evaluación del riesgo para el EG, realizada mediante el mismo método que el utilizado para el OE y la ECH, ha sido ampliamente discutida. La evaluación indicó que las exposiciones limitadas a dosis de 435 mg/día a 588 mg/día, serían aceptables basándose en datos de exposición aguda realizadas con animales (Rowe y Wolf, 1982; Woodard y Woodard, 1971; Latven y Molitor, 1939; Yin et al., 1986; Karel et al., 1947; Mason et al., 1971; RTECS, 1990), y con humanos (Rowe y Wolf, 1982); estas exposiciones prolongadas de 30 mg/día o 900 mg/mes, serían aceptables basándose en exposiciones subcrónica y sobre la reproducción en animales (Gaun al., 1971; Woodard y Woodard, 1971; Tyl, 1988); y las exposiciones permanentes de 30 mg/día ó 750 g para una vida, serían aceptables basándose en los datos de toxicidad crónica y de carcinogenicidad (Blood, 1956; DePass et al., 1986; Mason et al., 1971; Monis et al., 1942). No existe especificación de los límites máximos admisibles para residuos de EG. Cuando los residuos de OE cumplen los límites especificados en esta norma, es poco probable que existan cantidades biológicamente significativas de EG presentes en el equipo (Danielson et al., 1990; Muze ni, 1985, Spitz y Weinberger, 1971).

E.3 Determinación de los residuos de OE y de ECH [apartado 4.4]

E.3. 1 Extracción del equipo

El parámetro crítico en la regulación de los residuos de esterilización con OE, es la dosis que el paciente o usuario pueden recibir por la utilización de los equipos así esterilizados. Para evaluar esta dosis para el paciente o usuario, se requieren procedimientos de extracción que simulen la utilización normal del equipo. En algunos casos, esto puede lograrse simplemente por llenado del equipo con agua, mientras que en otros casos, pueden ser necesarias simulaciones más complicadas, incluyendo el flujo continuo de fluido a través del equipo. Se admite que si se cumplen los requisitos por determinación del residuo presente en el equipo mediante extracción exhaustiva, puede no ser necesario el simular la utilización del equipo.

La definición de extracción exhaustiva utilizada, incluye el concepto de que la extracción debería continuar hasta que la última etapa de extracción realizada, produzca un rendimiento del analito que sea menor del 10% del rendimiento del analito en la primera extracción de la muestra. Este

concepto falla cuando el rendimiento de la primera extracción es muy pequeño, como es el caso de un equipo que retiene una pequeña cantidad de residuo o una muestra que libera al analito a una velocidad muy baja. En tales casos, se recomienda continuar la extracción hasta que el aumento del total acumulado del analito extraído en varias etapas de extracción sea pequeño, comparado con las incertidumbres analíticas.

E.3 .2 Método analítico

E.3.2.1 Estabilidad del OE en etanol. Durante el estudio de comparación interlaboratorio del método de determinación de OE descrito en el apartado B.6.4 (Oba et al., 1982), se llevó a cabo un estudio de la estabilidad de las soluciones patrones de OE en etanol. Se prepararon disoluciones de OE a concentraciones de 25 µg/ml, 50 µg/ml y 100 µg/ml y se almacenaron tanto en el frigorífico como a 40 °C. Estas disoluciones se analizaron a tiempos diferentes durante períodos de hasta 6 semanas. El estudio mostró que a 40 °C, la concentración de OE se redujo al 70% de la concentración original después de 2 semanas para los patrones de 50 µg/ml y 100 µg/ml, mientras que todos los patrones estudiados fueron estables, dentro del 10% de la concentración original, si se almacenaban en frigorífico a una temperatura de 5 °C hasta un máximo de 60 días.

E.3.2.2 Estabilidad de la ECH. Antes de realizar el estudio comparativo interlaboratorio sobre la ECH (y el EG), participaron 11 laboratorios en el estudio de la estabilidad de las soluciones patrón de ECH. Las soluciones acuosas de ECH se prepararon en un laboratorio, y se enviaron después a todos los demás participantes. Las soluciones se almacenaron en frigorífico al ser recibidas. Estas soluciones se analizaron en diferentes períodos de tiempo, tales como inmediatamente después de ser recibidas, 1 semana después, y 2, 3, 4, 8 y 12 semanas después de su recepción, utilizando varios tipos de columnas cromatográficas. El estudio mostró que no existe diferencia significativa en la concentración durante las dos primeras semanas. La conclusión que se adoptó fue que las disoluciones patrón de ECH son estables cuando se almacenan a temperaturas de frigorífico durante al menos 14 días.

E.3.2.3 Linealidad de la curva patrón. Idealmente, los procedimientos descritos en esta Parte de la Norma ISO 10993 serían aplicables a toda la gama de concentraciones necesarias par cumplir los límites especificados en el apartado 4.3. Sin embargo, durante los estudios comparativos interlaboratorio realizados sobre estos procedimientos, el intervalo de dependencia lineal para el OE que se estudió, fue el comprendido entre 2 /2µg/ml y 50 µg/ml, y el intervalo de dependencia lineal para la ECH que se estudió, fue el comprendido entre 3 µg/ml y 15 µg/ml. Basándose en las experiencias personales de los participantes en estos estudios interlaboratorio, el intervalo de dependencia lineal de estos procedimientos analíticos puede extenderse de forma fiable hasta la concentración de 100 µg/ml para el OE y la ECH. No existen actualmente datos disponibles que permitan determinar si los intervalos de dependencia lineal pueden extenderse a concentraciones patrón más bajas.

E.3.3. Análisis e interpretación de los datos [apartado 4.4.7]

El tratamiento apropiado de los datos, se presenta para permitir al analista el cálculo del nivel residual en el equipo, y conocido éste, la dosis potencial recibida por el paciente. Esto permite liberar el equipo, basándose en la conformidad con los requisitos enumerados en apartado 4.3.

ANEXO F (Informativo)

BIBLIOGRAFÍA

- [1] ISO 11135:1994 – *Medical devices. Validation and routine control of ethylene oxide sterilization.*
- [2] EN 550:1994 – *Sterilization of medical devices. Validation and routine control of ethylene oxide sterilization.*
- [3] AAMI EO-VRSU 3/81; superseded by AAMI GVR-1987, *Good hospital practice: Ethylene oxide gas. Ventilation recommendations and safe use.* Arlington, VA:AAMI, 1981.
- [4] ADLER,N. Residual ethylene oxide and ethylene glycol in ethylene oxide sterilized pharmaceuticals. *J. Pharm. Sci.* 54(5) 1965; pp. 735-742.
- [5] ALLEVA, F. (Cited in Balazs, 1976).
- [6] AMBROSE, A. Toxicological studies of compounds investigated for use as inhibitors of biological processes. II Toxicity of ethylene chlorohydrin. *Arch. Ind. Hyg. Occup. Med.* 2 1950; pp. 582-597.
- [7] ANDERSEN, S. Ethylene oxide toxicity. *J. Lab. Clin. Med.* 77(2) 1971; pp. 346-356.
- [8] ANSI/AAMI ST29-1988, *Recommended practice for determining residual ethylene oxide in medical devices.* Arlington, VA: AAMI, 1988.
- [9] ANSI/AAMI ST30-1989, *Determining residual ethylene chlorohydrin and ethylene glycol in medical devices.* Arlington, VA: AAMI, 1989.
- [10] ASTM E691:1979, *Standard practice for conducting an interlaboratory comparison study to determine the precision of test methods.* Philadelphia, PA: ASTM, 1979.
- [11] BALAZS, T. Toxicity of ethylene oxide and chloroethanol. *FDA By-lines No. 3.* 1976; pp. 150-155.
- [12] BALL, N.A. Determination of ethylene chlorohydrin and ethylene glycol in aqueous solutions and ethylene oxide in associated plastics. *J. Pharm. Sci.* 73(9) 1984; pp. 1305-1307.
- [13] BLOOD, F. Chronic toxicity of ethylene glycol in the rat. *Fd. Cosmet. Tox.* 3 1965; pp. 229-234.
- [14] BROBST, K.M. and HAN, T. Determination of chlorohydrins in hydroxypropyl starch ethers. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 54(5) 1971; pp. 1093-1094.
- [15] BROWN, D.J. Determination of ethylene oxide and ethylene chlorohydrin in plastic and rubber surgical equipment sterilized with ethylene oxide. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 53(2) 1970; pp. 236-267.
- [16] BRUCH, C.W. *Industrial Sterilization.* Philips, G.B., Miller, W.S. (Eds.) Durham, NC: Duke University Press, 1973; pp. 49-77.
- [17] CARPENTER, C., SMYTH, H. and POZZANI, U. The assay of acute vapor toxicity, and the grading and interpretation of results on 96 chemical compounds. *J. Ind. Hyg. Toxicol.* 31 1949; pp. 343-349 (Cited in EPA, 1985).
- [18] CHESLER, S.N., REBBERT, R.E. and ENAGONIO, D.P. *Evaluation of AAMI EO residues recommended practice and a determination of EO kinetics in water.* Washington, DC: National Bureau of Standards, Department of Commerce, Oct. 1985.

- [19] CONINE, D., NAUMANN, B. and HECKER, L. Setting health-base residue limits for contaminants in pharmaceuticals and medical devices. *Quality Assurance: Good Practice, Regulation, and Law*. 1 1992; pp.171-180.
- [20] COURTNEY, K., ANDREWS, J. and GRADY, M. Teratogenic evaluation of ethylene chlorohydrin (Ech, 2-chloroethanol) in mice. *J. Environ. Sci. Health*. B17(4) 1982; pp. 381-391.
- [21] CYR, W.H., GLASER, Z.R. and JACOBS, M.E. CDRH risk assesment of EO residues on sterilized medical devices. In: Jorkasky, J. (Ed.) *Sterilization in the 1990s* (Health Industry Manufacturers' Association Report No. HIMA 89-1). Washington, DC: HIMA, 1989; pp. 269-285.
- [22] DANIELSON, J.W., SNELL, R.P. and OXBORROW, G.S. Detection and quantitation of ethylene oxide, 2-chloroethanol, and ethylene glycol with capillary gas chromatography. *J. Chromatogr.* 28 1990; pp. 97-101.
- [23] DEPASS, L., GARMAN, R., WOODSIDE, M., GIDDENS, W., MARONPOT, R. and WEIL, C. Chronic toxicity and carcinogenicity studies of ethylene glycol in rats and mice. *Fund. Appl. Tox.* 7 1986; pp. 547-565.
- [24] DUNKELBERG, H. Carcinogenicity of ethylene oxide and 1,2-propylene oxide upon intragastric administration to rats. *Br. J. Cancer*. 46 1982; pp. 924-933.
- [25] EDLHAUSER, H., ANTOINE, M., PEDERSON, H., HIDDEMAN, J. and HARRIS, R. Intraocular safety evaluation of ethylene oxide and sterilant residues. *J. Toxicol. Cut. and Ocular Toxicol.* 2 1983; pp. 7-39.
- [26] Environ. *Ethylene Oxide Residues on Sterilized Medical Devices*. Washington, DC. Environ Corporation, 1987. (Also in: Health Industry Manufacturers' Association, *HIMA Report 88-6*. Washington, DC: HIMA, 1988).
- [27] ETTRE, L.S. and JONES, E. Quantitative analysis with headspace gas chromatography using multiple headspace extraction. *Chromatography Newsletter*. 12(1) July 1984.
- [28] GAUNT, J., HARDY J., GANGOLLI, S., BUTTERWORTH, K. and LLOYD, A. *BIBRA*, 14 1975; p. 109. (Cited in Rowe and Wolf, 1982 and Environ, 1987).
- [29] GLASER, Z.R. Ethylene oxide: Toxicology review and field study results of hospital use. *J. Environ. Path. Tox.* 2 1979; pp. 173-208.
- [30] GOLBERG, L. *Hazard Assesment of Ethylene Oxide*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1986.
- [31] GUESS, W. Tissue reactions to 2-chloroethanol in rabbits. *Tox. Appl. Pharm.* 16 1970; pp. 382-390.
- [32] Guidelines for data acquisition and data quality evaluation in environmental chemistry. *Anal. Chem.* 52(14) 1980.
- [33] HACKETT, P., BROWN, R., BUSCHBOOM, R., CLARK, M., MILLER, R., MUSIC, R., ROWE, S., SCHIRMER, R. and SIKOV, M. *Teratogenic Study of Ethylene Oxide and Propylene Oxide and n-Butyl Acetate* (NIOSH Contract No. 210-80-0013). Richland, WA: Battelle Pacific Northwest Laboratories, 1982. (Cited in EPA, 1985).
- [34] HANDLOS, V. Determination of gas residuals in ethylene oxide sterilized materials - A literature survey. *Archiv. Pharm. Chemi. Sci.* 4 1976; pp. 73-80.
- [35] HANDLOS, V. The hazards of ethylene oxide sterilization. *Arch. Pharm. Chemi. Sci.* 7 1979; pp. 939-949.

- [36] HARTMAN, P.A. and BOWMAN, P.B. Simple GLC determination of ethylene oxide and its reaction products in drug and formulations. *J. Pharm. Sci.* **66**(6) 1977; pp.789-792.
- [37] Health Industry Manufacturers' Association. *Guidelines for the Analysis of Ethylene Oxide Residues in Medical Devices* (HIMA Document No. 1, Vol.2). Washington, DC: HIMA, 1980.
- [38] HOLLINGSWORTH, R., ROWE, V., OYEN, F., McCALLISTER, D. and SPENCER, H. Toxicity of ethylene oxide determined on experimental animals. *AMA Arch. Ind. Health.* **13** 1956; pp. 217-227.
- [39] HUBAUX, A. and GILBERT, V. Decision and detection limits for linear calibration curves. *Anal. Chem.* **42**(8) 1970; pp. 849-855.
- [40] *Improved detection and separation of glycols and ethylene oxide residues using GC.* (Bulletin 789), Supelco, Inc.; 1980.
- [41] JACOBSON, K., HACKLEY, E. and FEINSILVER, L. The toxicity of inhaled ethylene oxide and propylene oxide vapors. *AMA Arch. Ind. Health.* **13** 1956; pp.237-244.
- [42] Japan Association of Disposable Medical Device Industries. *Guideline for ethylene oxide sterilization of disposable medical devices* (second edition). Dec. 1989.
- [43] JOHNSON, M. Metabolism of chloroethanol in the rat. *Biochem. Pharmacol.* **16** 1967a; pp. 185-199.
- [44] JOHNSON, M. Detoxication of ethylene chlorohydrin. *Fd. Cosmet. Tox.* **5** 1967b; p. 499.
- [45] JONES-PRICE, C., KIMMEL, T., MARKES, T., LEDOUX, T., REEL, J., FISCHER, P., LANGHOFF-PASCHKE, L. and MARR, M. *Teratologic Evaluation of Ethylene Oxide (CAS No. 75-78-8) in New Zealand White Rabbits* (Final report RB80_EO, NIEHS Contract No. 1-ES-2127). Research Triangle Park, NC: National Institute of Environmental Health Sciences, 1982. (Cited in EPA, 1985).
- [46] JONES-PRICE, C., MARKS, T., LEDOUX, T., REEL, J. FISCHER, P., LANGHOFF-PASCHKE, L., MARR, M. and KIMMEL, C. *Teratologic Evaluation of Ethylene Chlorohydrin (CAS No. 107-07-3) in New Zealand White Rabbits* (PB85-170959). Research Triangle Park, NC: National Institute of Environmental Health Sciences, 1985a.
- [47] JONES-PRICE, C., MARKS, T., LEDOUX, T., REEL, J. FISCHER, P., LANGHOFF-PASCHKE, L., MARR, M. and KIMMEL, C. *Teratologic Evaluation of Ethylene Chlorohydrin (CAS No. 107-07-3) in CD-1 mice* (PB85-172104). Research Triangle Park, NC: National Institute of Environmental Health Sciences, 1985b.
- [48] KAREL, L., LANDING, B. and HARVEY, T. The intraperitoneal toxicity of some glycols, glycol ethers, glycol esters and phthalates in mice. *Fed. Proceedings.* **6** 1947; p. 342.
- [49] KASHTOCK, M. Use of specific retention volumes in evaluation of various types of columns for use in the trace determination of ethylene glycol by gas chromatography. *J. Chromatogr.* **176** 1979; pp. 25-35.
- [50] KAYE, M.M. and NEVELL, T.G. Statistical evaluation of methods using headspace gas chromatography for the determination of ethylene oxide. *Analyst.* **110** 1985; pp. 1067-1071.
- [51] KIKUCHI, H., NAKAMURA, A. and TSUJI, K. Gas chromatographic determination with electron capture detection of residual ethylene oxide in intraocular lenses. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **71** 1988; pp. 1057-1062.
- [52] KROES, R., BOCK, B. and MARTIS, L. *Ethylene oxide extraction and stability in water and blood.* Personal communication to the AAMI Committee, Jan. 1985.

- [53] KULKARNI, R.K., BARTAK, D., OUSTERHOUT, D.K. and LEONARD, F. Determination of residual ethylene oxide in catheters by gas-liquid chromatography. *J. Biomed. Mat. Res.* **2** 1968; pp. 165-171.
- [54] LABORDE, J. and KIMMEL, C. The teratogenicity of ethylene oxide administered intravenously to mice. *Tox. Appl. Pharm.* **56** 1980; pp. 16-22.
- [55] LANDEN, W.O., THOMPSON, D.W. and FLOYD, K.M. Determination of ethylene glycol in wet surgical dressings. *FDA By-Lines*, No. 2, 1971.
- [56] LATVEN, A. and MOLITOR, H. Comparison of the toxic, hypnotic and irritating properties of eight organic solvents. *J. Pharm. Exp. Ther.* **65** 1939; pp. 89-94.
- [57] LAWRENCE, W., TURNER, J. and AUTIAN, J. Toxicity of ethylene chlorohydrin I: Acute toxicity studies. *J. Pharm. Sci.* **60**(4) 1971a; pp. 568-571.
- [58] LAWRENCE, W., ITOH, K., TURNER, J. and AUTIAN, J. Toxicity of ethylene chlorohydrin II: Subchronic toxicity and special tests. *J. Pharm. Sci.* **60**(8) 1971b; pp. 1163-1168.
- [59] LAWRENCE, W., DILLINGHAM, E., TURNER, J. and AUTIAN, J. Toxicity profile of chloroacetaldehyde. *J. Pharm. Sci.* **61**(1) 1972; pp. 19-25.
- [60] LEE, H.T., DANIEL, A. and WALKER, C. Conformance test procedures (CTP) for verifying the labeling claims for precision, bias, and interferences in *in-vitro* diagnostic devices used for the quantitative measurement of analytes in human body fluids. In: *Bureau of Medical Devices Biometrics Report 8202*. Silver Spring, MD: Food and Drug Administration, Apr. 1982.
- [61] LONG, G.L. and WINEFORDNER, J.D. Limit of detection - A closer look at the IUPAC definition. *Anal. Chem.* **55**(7) 1983; pp. 712A-724A.
- [62] LYNCH, D., LEWIS, T., MOORMAN, W., SABHARWAL, P. and BURG, J. Toxic and mutagenic effects of ethylene oxide and propylene oxide on spermatogenic functions in Cynomolgus monkeys. *Toxicologist*. **3**:60.
- [63] LYNCH, D., LEWIS, T., MOORMAN, W., BURG, J., GROTH, D., KHAN, A., ACKERMAN, L. and COCKERELL, B. Carcinogenic and toxicologic effects of inhaled ethylene oxide and propylene oxide in F344 rats. *Tox. Appl. Pharm.* **76** 1984; pp. 69-84.
- [64] MALANOSKI, A.J. Analyst performance standards: Determination for and from collaborative studies. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **65**(6) 1982; pp. 1333-1338.
- [65] MANIUS, G.J. Determination of ethylene oxide, ethylene chlorohydrin, and ethylene glycol residues in ophthalmic solution at proposed concentration limits. *J. Pharm. Sci.* **68**(12) 1979; pp. 1547-1549.
- [66] MARLOWE, D.E., LAO, N.T., LAO, C.S. EATON, A.R. and PAGE, B.F.J. *Interlaboratory Comparison of Ethylene Oxide Residue Analysis Test Methods* (HHS Publication FDA 86-4204). Mar. 1986.
- [67] MARLOWE, D.E. *Summary of results from interlaboratory comparison of ethylene oxide residue analysis test methods*. Paper presented at AAMI Conference on In-hospital EO Sterilization, Arlington, Virginia, Nov. 1983.
- [68] MARLOWE, D.E., LAO, N.T., EATON, A.R., PAGE, B.F.J. and LAO, C.S. An interlaboratory comparison of analytical methods for ethylene oxide. *J. Pharm. Sci.* **76** 1986; pp. 333-337.

- [69] MASON, M., CATE, C. and BAKER, J. Toxicology and carcinogenesis of various chemicals used in the preparation of vaccines. *Clin. Toxicol.* 4(2) 1971; pp. 185-204.
- [70] MATSUMOTO, T., HARDAWAY, R.M., PANI, K.C., SATER, C.M., BARTAK, D.E. and MARGETIS, P.M. Safe standard of aeration for ethylene oxide sterilized supplies. *Arch. Surg.* 96 1968; pp. 464-470.
- [71] McDONALD, T., ROBERTS, M. and BORGMANN, A. Ocular toxicity of ethylene chlorohydrin and ethylene glycol in rabbit eyes. *Tox. Appl. Pharm.* 21 1972; pp. 143-150.
- [72] McDONALD, T., KASTEN, K., HERVEY, R., GREGG, S., BORGMANN, A. and MURCHENSON, T. Acute ocular toxicity of ethylene oxide, ethylene glycol and ethylene chlorohydrin. *Bull. Parent. Drug Assoc.* 27(4) 1973; pp. 153-164.
- [73] McDONALD, T., KASTEN, K., HERVEY, R., GREGG, S., and BUTTON, B. Acute ocular toxicity for normal and irritated rabbit eyes and subacute ocular toxicity for ethylene oxide, ethylene chlorohydrin and ethylene glycol. *Bull. Parent. Drug Assoc.* 31(1) 1977; pp. 25-32.
- [74] MOGENHAN, J.A., WHITBOURNE, J.E. and ERNST, R.R. Determination of ethylene oxide in surgical materials by vacuum extraction and gas chromatography. *J. Pharm. Sci.* 60(2) 1971; pp. 222-224.
- [75] MORRIS, T., NELSON, M. and CALVERY, A. Observations on the chronic toxicities of propylene glycol, ethylene glycol, diethylene glycol, ethylene glycol mono-ethyl-ether, and diethylene glycol mono-methyl-ether. *J. Pharm. Exp. Ther.* 74 1942; pp. 266-273.
- [76] MUZENI, R.J. Rapid gas chromatographic determination of ethylene oxide, ethylene chlorohydrin, and ethylene glycol residues in rubber catheters. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 68(3) 1985; pp. 506-508.
- [77] NAKAMURA, A., KIKUCHI, H. and TSUJI, K. Determination of ethylene oxide residue in commercially available intraocular lenses by new sensitive method (Electron capture detection/gas chromatography). *IOL.* 3 1989; pp. 4-8.
- [78] NORTHUP, S., WEINCKOWSKI, D., MARTIS, L. and DARBY, T. Toxicity caused by acute and subacute intravenous administration of ethylene oxide in the rat. *J. Environ. Pathol. Toxicol.* 5 1981; pp. 617-623.
- [79] National Toxicology Program. *Toxicology and Carcinogenicity Studies of 2-Chloroethanol (Ethylene Chlorohydrin) (CAS. No. 107-07-03) in F344/N Rats and Swiss CD-1 Mice (Dermal Studies)* (NTP TR275, NIH Publication 86-2531). Research Triangle Park, NC: NTP, 1985.
- [80] National Toxicology Program. *Toxicology and Carcinogenicity Studies of Ethylene Oxide (CAS. No. 75-21-08) in B6C3F1 Mice (Inhalation Studies)* (NTP Technical Report 326, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Services, National Institute of Health). Research Triangle Park, NC: NTP, 1987.
- [81] OBA, T., TSUJI, K., MIZUMACHI, S., KIKUCHI, H., SHINTANI, H., IIDA, K. and MEGURO, K. Studies on residual ethylene oxide in medical devices (I) - Gas chromatographic determination of ethylene oxide in plastics. *Ikakikai-gaku.* 52(3) 1982; pp. 134-139.
- [82] OHBA, T. Safety of residual ethylene oxide concentrations in the working environment of sterilization facilities. In: Gaughren, E., Morrisey, R.; You-sen, W., (Eds.). *Sterilization of Medical Products Volume IV*. Montreal, Canada: Polyscience Publications, Inc., 1986; pp. 172-177.
- [83] OSER, B., MORGAREIDGE, K., COX, G. and CARSON, J. Short-term toxicity of ethylene chlorohydrin (ECH) in rats, dogs, and monkeys. *Fd. Cosmet. Tox.* 13 1975; pp. 313-315.

- [84] PATEL, A. (unpublished data presented to ISO/TC 194/WG 11 by A. Patel, Alcon Laboratories, Inc. and his colleagues at the WG meeting in Minneapolis, MN, Sept. 1993).
- [85] Pharmaceutical Manufacturers' Association. *Procedures for setting limits for volatile organic solvents with methylene chloride as an example of the process*. Committee on Rational Specifications for Impurities in Bulk Drug Substances - Pharmaceutical Manufacturers' Association. In: *Pharmacopeial Forum*. Washington, DC: PMA, Nov.-Dec. 1989; pp. 5748-5759.
- [86] Pharmaceutical Manufacturers' Association. Application of the PMA procedure for setting residue limits for organic volatile solvents in pharmaceuticals to ethylene oxide. Prepared by D.L. Conine and the PMA subcommittee of Industrial Toxicologists. *Procedures for setting limits for organic volatile solvents with chloroform, 1,4-dioxane, ethylene oxide, and trichloroethylene as examples of the process*. Committee on Rational Specifications for Impurities in Bulk Drug Substances - Pharmaceutical Manufacturers' Association. In: *Pharmacopeial Forum*. Washington, DC: PMA, May-June 1990; pp. 557-572.
- [87] RAGELIS, E.P., FISHER, B.S. KIMECK, B.A. and JOHNSON, C. Isolation and determination of chlorohydrins in foods fumigated with ethylene oxide or propylene oxide. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 51(3) 1968; pp. 709-717.
- [88] ROMANO, S.J. and RENNER, J.A. Comparison of analytical methods for residual ethylene oxide analysis. *J. Pharm. Sci.* 64(8) 1975; pp. 1412-1417.
- [89] ROMANO, S.J., RENNER, J.A. and LEITNER, P.M. Gas chromatography determination of residual ethylene oxide by head space analysis. *Anal. Chem.* 45(14) 1973; pp. 2327-2330.
- [90] ROWE, V. and McCOLLISTER, S. Alcohols. Chapter Fifty-Five. In: Clayton, G., Clayton, F. (Eds.). *Patty's Industrial Hygiene and Toxicology* (3rd ed. Vol 2C Toxicology). New York, NY: John Wiley & Sons, Inc. 1982; pp. 4675-4684.
- [91] ROWE, V. and WOLF, M. GLYCOLS. Chapter Fifty. In: Clayton, G., Clayton, F. (Eds.). *Patty's Industrial Hygiene and Toxicology* (3rd ed. Vol 2C Toxicology). New York, NY: John Wiley & Sons, Inc. 1982; pp. 3817-3832.
- [92] RTECS. *Registry of Toxic Effects of Chemical Substances 1985-1986*. National Institute for Occupational Safety and Health. DHHS (NIOSH) Publication No. 87-114. Rockville, MD. 1987; pp. 2361-2362.
- [93] RTECS. *Registry of Toxic Effects of Chemical Substances*. National Institute for Occupational Safety and Health. On line. Rockville, MD. 1990.
- [94] SCUDAMORE, K.A. and HEUSER, S.G. Ethylene oxide and its persistent reaction products in wheat flour and other commodities, residues from fumigation or sterilization, and effects of processing. *Pesticide Science.* 2; pp. 80-81.
- [95] SHIMIZU, H., OHARA, K. and SAWA, M. Sterile anterior segment inflammation presumably due to absorbed ethylene oxide to the implanted intraocular lens. *Rinsho Ganka* (Japanese J. Clin. Ophthalmol.) 40(11) 1986; pp. 1219-1225.
- [96] SNELLINGS, W., MARONPOT, R., ZELENÁK, J. and LAFFOON, C. Teratology study in Fischer 344 rats exposed to ethylene oxide by inhalation. *Tox. Appl. Pharm.* 64 1982a; pp. 476-481.
- [97] SNELLINGS, W., ZELENÁK, J. and WEIL, C. Effects on reproduction in Fischer rats exposed to ethylene oxide by inhalation for one generation. *Tox. Appl. Pharm.* 63 1982b; pp. 382-388.
- [98] SNELLINGS, W., WEIL, C. and MARONPOT, R. A subchronic inhalation study on the toxicologic potential of ethylene oxide in B6C3F1 mice. *Tox. Appl. Pharm.* 76 1984a; pp. 510-518.

- [99] SNELLINGS, W., WEIL, C. and MARONPOT, R. A two-year inhalation study on the carcinogenic potential of ethylene oxide in Fischer 344 rats. *Tox. Appl. Pharm.* 75 1984b; pp. 105-117.
- [100] SNYDER, L.R. A rapid approach to selecting the best experimental conditions for high-speed liquid column chromatography - Part 1 - Estimating initial sample resolution and the final resolution required by a given problem. *J. Chromatogr. Sci.* 10 1972; pp. 201-212.
- [101] SPITZ, H.D. and WEINBERGER, J. Determination of ethylene oxide, ethylene chlorohydrin and ethylene glycol by gas chromatography. *J. Pharm. Sci.* 60(2) 1971; pp. 271-274.
- [102] TANAKA, S., NAKURA, S., KAWASHIMA, K., KASUYA, Y. and OMORI, Y. Studies on the hemolytic activity and dermal irritability of ethylene oxide and its reaction products. *Jap. J. Med. Instrum.* 52(1) 1982; pp. 21-28.
- [103] TYL, R. *Developmental Toxicity Evaluation of Ethylene Glycol Administered by Gavage to DC(R)-1 Mice: Determination of a "No-Observable-Effect Level" (NOEL)*. Report 51-591. Bushy Run Research Center. Union Carbide Corporation, Export, PA. (Study sponsored by Ethylene Glycol Panel.) Washington, DC: Chemical Manufacturers' Association, 1988.
- [104] U.S. Environmental Protection Agency. *Health Assessment Document for Ethylene Oxide* (EPA 600/8-84-009F). Research Triangle Park, NC: EPA, 1985.
- [105] U.S. Food and Drug Administration. EO, ECH & EG, Proposed maximum residue limits and maximum levels of exposure (HEW/FDA). *Federal Register*. Washington, DC. 43(122) 1978.
- [106] U.S. Pharmacopeia. *Chromatography (Section 621)*. United States Pharmacopeial Convention In: United States Pharmacopeia (22nd ed). Easton, PA: Mack Publishing Co., 1989.
- [107] WARREN, B. The determination of residual ethylene oxide and halogenated hydrocarbon propellants in sterilized plastics. *J. Pharm. Pharmacol.* 23(suppl.) 1971; pp. 170S-175S.
- [108] WEIL, C. Statistics vs. safety factors and scientific judgement in the evaluation of safety for man. *Tox. Appl. Pharm.* 21 1972; pp. 454-463.
- [109] WOODARD, G. and WOODARD, M. Toxicity of residuals from ethylene oxide gas sterilization. *Proceedings of the health Industry Association Technical Symposium*. Washington, DC.; 1971; pp. 140-161.
- [110] WEINBERGER, J. GLC Determination of ethylene chlorohydrin following co-sweep extraction. *J. Pharm. Sci.* 60(4) 1971; pp. 545-547.
- [111] WESLEY, F., ROURKE, B. and DARBISHIRE, O. The formation of persistent toxic chlorohydrins in foodstuffs by fumigating with ethylene oxide and propylene oxide. *J. Food. Sci.* 30 1965; pp. 1037-1042.
- [112] WHITBOURNE, J.E., MOGENHAN, J.A. and ERNST, R.R. Determination of 2-chloroethanol in surgical materials by extraction and gas chromatography. *J. Pharm. Sci.* 58(3) 1969; pp. 1024-1025.
- [113] WHITE, J.D. and BRADLEY, T.J. Residual ethylene oxide in methyl methacrylate polymer powders by GLC. *J. Pharm. Sci.* 62(10) 1973; pp. 1623-1637.
- [114] YIN, L., LIU, C., SHIH, L. and PO, K. A study of the teratogenic action of the ethylene glycol in rats. *Zhonghua Yugangyixue Zazhi.* 20(5) 1986; pp. 289-290.
- [115] ZAGAR, L.A. Determination of residual ethylene oxide in methyl methacrylate polymer powders by GLC. *J. Pharm. Sci.* 61(11) 1972; pp. 1801-1803.

Anexo ZA
(normativo)

**RELACIÓN DE LAS PUBLICACIONES INTERNACIONALES CON
LAS PUBLICACIONES CUBANAS CORRESPONDIENTES**

Esta Norma Cubana incorpora disposiciones de otras publicaciones por su referencia, con o sin fecha. Estas referencias normativas se citan en los lugares apropiados del texto de la norma y se relacionan a continuación. Las revisiones o modificaciones posteriores de cualquiera de las publicaciones citadas con fecha, sólo se aplican a esta Norma Cubana cuando se incorporan mediante revisión o modificación. Para las referencias sin fecha se aplica la última edición de esa publicación (incluyendo sus modificaciones).

Normas Internacionales	Año	Título	NC/ISO	Año
ISO 10993-1	2003	Evaluación biológica de los equipos médicos. Parte 1. Evaluación y ensayo.	NC 10993-1	2005
ISO 10993-3	2003	Evaluación biológica de los equipos médicos. Parte 3. Ensayos de genotoxicidad, carcinogenicidad y toxicidad reproductiva.	NC 10993-3	2004

Anexo Nacional
(normativo)

Las siguientes Normas Internacionales, citadas en esta Norma Cubana, están adoptadas como normas NC:

Norma Internacional	Norma Cubana
ISO 10993-1: 2003	NC/ISO 10993-1: 2005
ISO 10993-3: 2003	NC/ISO 10993-3: 2004