

3) MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras utilizadas para las determinaciones realizadas en el presente trabajo fueron:

Sutura de Nylon 0.25 elaborada artesanalmente.

Sutura de Nylon 0.25 con aguja, elaborada artesanalmente.

Sutura de Lino 40 elaborada artesanalmente.

Sutura de Lino 100 con y sin aguja elaborada artesanalmente.

i) Descripción de la elaboración artesanal de suturas de nylon.

Suturas de nylon 0.25 elaboradas artesanalmente

La sutura de nylon elaborada artesanalmente se compone de una hebra de nylon de 0.25 mm que puede o no presentar color aunque generalmente es incolora a diferencia de la hebra comercial teñida de negro. El hilo de nylon se presenta en un carretel de 100 m de largo y en todos los casos ha sido fabricado para ser usado como línea de pescar. De este carretel se cortan hebras de distinta longitud, dependiendo el uso previsto. Si bien su elaboración depende de las tradiciones ó costumbres de cada lugar lo habitual es que la longitud del corte no surja de una medida realizada con sistema de regla ó similar sino que se corte el largo que existe entre la mano izquierda del operador y su hombro opuesto.

Las hebras se acondicionan de diferentes maneras según uso y costumbre del lugar, pudiendo enrollarse alrededor de un rectángulo de cartón fino ó papel para luego ser envasados en empaque adecuado para su esterilización ó bien enrollarlas en forma circular y envasarlas para esterilizar directamente.

Las hebras antes mencionadas no se encuentran ensambladas con agujas y deberán enhebrarse al momento del uso. En el rótulo figura el material de la hebra, calibre y fecha de esterilización.

Suturas de nylon 0.25 con aguja elaboradas artesanalmente.

Las suturas atraumáticas (nylon con aguja ensamblada) se elaboran con hebras de nylon monofilamento, habitualmente denominado tanza de pescador, y agujas de jeringas. En este trabajo las muestras ensayadas se encontraban ensambladas a una aguja hipodérmica 50-8 . El ensamble ó estampado artesanal consiste en hacer pasar la hebra de nylon a través del lumen que poseen estas agujas, desde la punta biselada hacia el lado opuesto, hasta sobresalir unos 2-3 cm. (Foto 1). Es ahí cuando se extrae el adaptador plástico de la aguja con movimientos suaves del mismo hacia un lado y el otro. (Foto 2) Una vez desprendido, se desecha y se continúa pasando la hebra de nylon hasta que desaparezca a nivel del extremo biselado de la aguja, cuidando de que quede este extremo de la hebra ocupando gran parte del lumen para así poder fijarla en un ensamblado que se realiza con pinza, oprimiendo a 0.5 cm del extremo distal de la aguja de manera de que quede ensamblada pero sin provocar mayor daño en la misma. En ocasiones y dependiendo de la pinza utilizada se realizan dos compresiones con una diferencia de 2-4 mm entre sí.

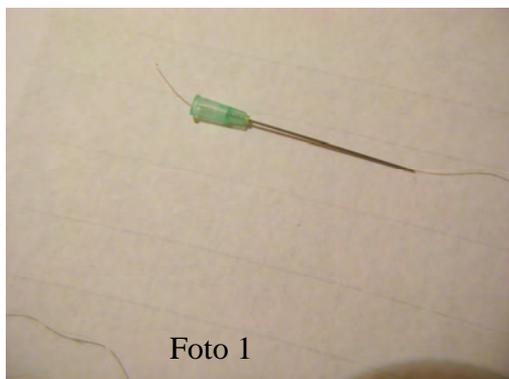


Foto 1 y 2 Elaboración artesanal de sutura de Nylon 0.25 con aguja

Acondicionamiento del nylon con aguja:

Las suturas de nylon con aguja ensamblada se acondicionan dentro del protector original de la aguja hipodérmica utilizada (Foto 3 y 4) ó bien enrollada alrededor de un rectángulo de cartón fino ó papel. En el rótulo figura el material de la hebra, calibre y fecha de esterilización.

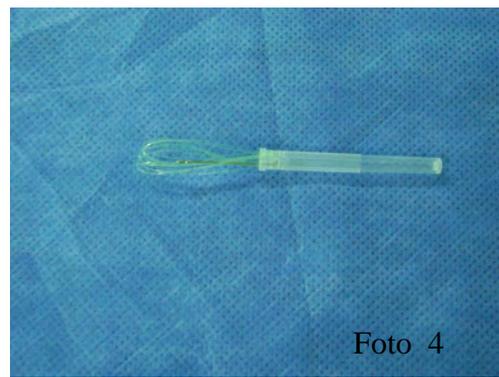


Foto 3 y 4 Sutura de Nylon 0.25 con aguja

Esterilización de suturas de nylon elaboradas artesanalmente

Las suturas de nylon 0.25 ensayadas en el presente trabajo se encontraban acondicionadas en envases mixtos, que poseen una cara de papel grado médico y otra plástica transparente cerradas por sellado y esterilizadas por proceso de Óxido de etileno (ETO) a 55°C.

ii) Descripción de la elaboración artesanal de suturas de Lino.

Las suturas de lino elaboradas artesanalmente se componen de un hilo de lino multifilar que se presenta de varios calibres. (Lino 30, lino 40, lino 50, lino 70, lino 100). A partir de un carretel de lino se fragmentan hilos de diferentes longitudes para obtener la sutura deseada. La mayoría de ellas, especialmente las de mayor calibre, se presentan como lino sin aguja, y su uso previsto es la ligadura de vasos.

De acuerdo al destino de estas suturas, existen diversas variantes en el modo de acondicionamiento y empaque de las mismas,

Modo 1

Se enrolla la hebra de lino desde el carretel, dando diez vueltas alrededor de un rectángulo de madera, luego se cortan al unísono de modo de obtener 10 hebras de igual longitud. Se acondicionan todas las hebras obtenidas en un pequeño rectángulo de papel crepe grado médico doblado como se muestra en la foto 5 (Secuencia b-c-d). Se envasa con empaque

doble de papel crepe grado médico, cada uno cerrado con cinta con indicador químico para procesos por vapor de agua y rotulada con el nombre de la sutura, calibre y fecha de esterilización.

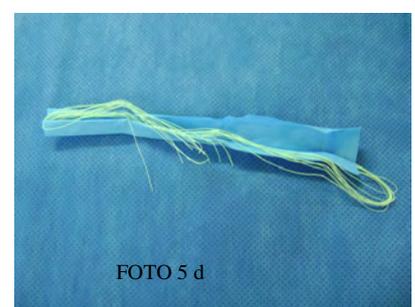
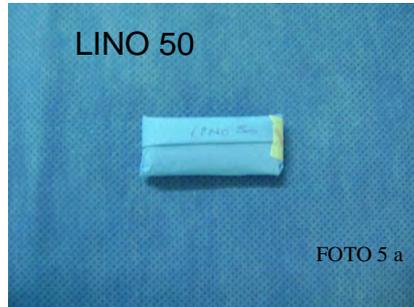


Foto 5ª, 5b, 5c y 5d: Envasado de Lino 50 según el Modo 1 de elaboración.

Modo 2

Se acondicionan 3 hebras de lino enrolladas a través de dos pequeños cortes realizados en los lados opuestos y menores de un rectángulo de cartón fino. (Foto 6 a - b) Se envasa con doble envoltura de papel grado médico cerrado con cinta con indicador químico para procesos por vapor de agua, en ocasiones el segundo empaque corresponde a un envase mixto con una cara de papel grado médico y otra transparente plástica (Foto 6 c - d). Se rotula de igual manera que en el modo 1. También se realiza este mismo acondicionamiento pero utilizando solo una hebra de lino.

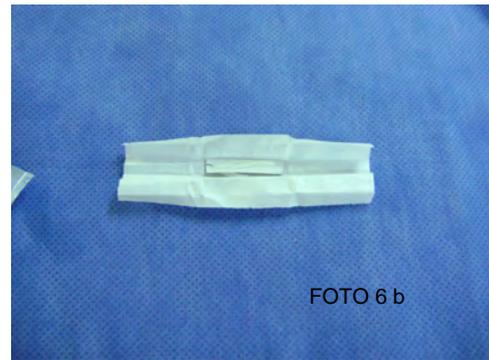
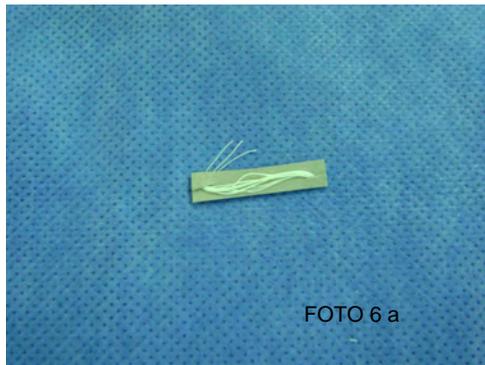


Foto 6 a, 6b, 6c, 6d Secuencia de envasado de Lino según Modo 2 de elaboración

Cabe señalar que pueden presentarse con diferentes acondicionamientos según los centros elaboradores.

Sutura atraumática de Lino (Lino con aguja ensamblada).

Las hebras de lino 100 en algunas oportunidades son ensambladas a una aguja hipodérmica 50-8 dando lugar a una sutura atraumática de lino. La hebra de lino se inserta a través del lumen que poseen estas agujas, desde la punta biselada hacia el lado opuesto hasta sobresalir unos 2-3 cm. Es ahí cuando se extrae el adaptador plástico de la aguja con movimientos suaves del mismo hacia un lado y el otro. Una vez desprendido, se desecha y se continúa pasando la hebra de lino hasta que desaparezca a nivel del extremo biselado de la aguja, cuidando de que quede este extremo de la hebra ocupando parte del lumen para así poder fijarla en un ensamblado que se realiza con pinza, oprimiendo a 0.5 cm del extremo distal de la aguja de manera de que quede fija pero sin provocar mayor daño en la misma. Puede realizarse una o dos compresiones dependiendo del tipo de pinza que se utilice para el ensamble.

Determinaciones realizadas.:

iii) ENSAYOS FÍSICOS

1. **Acabado de la sutura.**⁹ Consiste en inspeccionar visualmente la sutura a los efectos de comprobar ausencia de anomalías tales como nódulos, roturas, porciones planas, color no homogéneo.
Materiales: Se inspeccionaron 21 hebras de Nylon 0.25, 34 hebras de Lino 40 y 9 hebras de Lino 100.
Descripción del equipo y método: Para la visualización se utilizaron lupa de 2.5X con luz artificial y microscopio óptico de luz transmitida. Objetivo 10X. Oculares 10X. Nikon modelo TE2000-5
Se tomaron fotografías microscópicas de nódulos y deshilachamiento de suturas Lino 40. Se comparó microscópicamente la sutura de nylon 0.25 elaborada artesanalmente con una sutura de nylon comercial.

2. **Longitud, cm.**⁹ Consiste en medir la longitud de la sutura con regla metálica de 100 cm.
Materiales: Se midieron 14 hebras de Nylon 0.25 (presentación con aguja), 7 hebras de Nylon 0,25 (presentación sin aguja) y 34 de suturas de Lino 40.
Descripción del equipo y método: Se realizó la medición de la longitud con regla metálica de 100cm. Una hebra cumple la especificación si la longitud no es inferior al 95% de lo indicado en el rótulo y no supera los 400 cm.⁶

3. **Acabado de la aguja.**⁹ Consiste en inspeccionar visualmente la aguja a los efectos de comprobar ausencia de anomalías tales como

rebabas, punta roma ó deforme, fracturas, ralladuras, muescas, presencia de corrosión.

Materiales: Se inspeccionaron 11 muestras de agujas engarzadas a nylon 0.25 y 9 muestras de agujas engarzadas a lino 100.

Descripción del equipo y método: Para la visualización se utilizó lupa de 2.5X con luz artificial y microscopio óptico de luz transmitida. Objetivo 10X. Oculares 10X. Nikon modelo TE2000-5.

Se tomaron fotografías microscópicas de muescas y de la inserción de la hebra con la aguja. Se comparó con sutura de nylon 2-0 comercial.

4. **Diámetro**, mm. ¹¹ Consiste en medir el diámetro de cada muestra en tres puntos que aproximadamente correspondan a un cuarto, a un medio y a tres cuartas partes de su longitud. Se promedian los tres puntos. Se determina el diámetro por medio de dos placas cuyas superficies son planas y paralelas, las cuales son capaces de detectar deformidades de hasta 0.002 mm.

Materiales: Se ensayaron las 5 suturas de lino 40 sin aguja, esterilizadas por proceso de calor húmedo a 121°C., y las 5 suturas de nylon 0.25 sin aguja, esterilizadas por Óxido de etileno, destinadas a la determinación de Resistencia a la Tensión con nudo. También se determinó el diámetro de otras tantas suturas con aguja destinadas a la determinación de resistencia al ensamble de la hebra con la aguja.

Descripción del equipo y método: Se efectuaron las mediciones con la ayuda de un instrumento provisto de un disco presor, de un diámetro de 10-15 mm, permitiendo alcanzar una precisión de al menos 0.002 mm. Se ajustó la masa del disco presor y los dispositivos móviles de manera que la carga total aplicada sobre la hebra a examinar fuera de 100 ± 10 g. Como se trató de hebras de suturas de más de 90 cm de largo, se determinó el diámetro en tres puntos situados aproximadamente a la misma distancia entre sí, para luego promediar estos valores.

5. **Resistencia a la tensión. Resistencia a la rotura con nudo.** ¹¹ El método se basa en determinar la carga ó fuerza máxima de ruptura que puede soportar una sutura al ser sometida a un esfuerzo de tensión.

Materiales: Se ensayaron las mismas hebras a las que se les midió el diámetro ya que la resistencia a la tensión se encuentra relacionada directamente al calibre de la sutura. Cinco suturas de lino 40 sin aguja esterilizadas por proceso de calor húmedo a 121°C y cinco suturas de nylon 0.25 sin aguja esterilizadas por Óxido de Etileno.

Descripción del equipo y método: Se determinó sobre cada hebra la carga mínima de ruptura sobre un nudo simple obtenido de la siguiente manera: se pasó el extremo sostenido en la mano derecha por encima del sostenido por la mano izquierda. Se tiró de los extremos para cerrar el nudo. Como las hebras presentaban una longitud superior a 75 cm se realizaron dos ensayos para cada hebra.

Para la determinación se utilizó un dinamómetro. Dicho aparato consta de dos mordazas que sirven para fijar la hebra, de las cuales una es móvil y se desplaza a una velocidad constante de 30 cm/min. Los dispositivos de agarre permiten la fijación de las hebras a examinar sin desplazamiento posible. Al inicio del ensayo, la longitud de la hebra entre los agarres es de 12.5 a 20 cm. El nudo se encuentra a igual distancia entre los puntos de fijación. Se inicia el movimiento de la mordaza y se determina la fuerza requerida para la ruptura de la hebra.

6. **Resistencia del ensamble de la hebra con la aguja. Resistencia del engarzado** ¹¹

El método se basa en determinar la carga ó fuerza máxima que soporta una sutura al ser sometida a un esfuerzo de tensión llevada

a la ruptura de la misma ó al desprendimiento (desensamble) de su aguja.

Materiales: Se ensayaron 5 suturas de Lino 100 con aguja, esterilizadas por proceso de calor húmedo a 121°C y 5 suturas de Nylon 0.25 con aguja, esterilizadas por Óxido de Etileno. Previamente a todas ellas se les determinó el diámetro.

Descripción del equipo y método: Se utilizó un dinamómetro en donde se fijó la hebra a la mordaza móvil y la aguja a la mordaza fija en línea con la dirección de la fuerza que se aplicó a la sutura por medio de la mordaza móvil. Se determinó la fuerza requerida para desprender la sutura de la aguja o para romper la hebra.

Si bien cuando un valor individual queda fuera de los límites establecidos⁶ corresponde repetir la prueba en diez suturas adicionales, esto no pudo llevarse a cabo.

iv) ENSAYOS HIGIÉNICOS:

7. **Esterilidad.**¹² Se realiza para verificar la ausencia de contaminación por microorganismos en productos esterilizados ó preparados asépticamente.

Materiales: Se ensayaron 8 muestras:

2 suturas de nylon 0.25 envasadas en doble envoltura de envase mixto esterilizada por óxido de etileno.

2 suturas de nylon 0.25 con aguja envasadas en doble envoltura de envase mixto esterilizada por óxido de etileno.

2 suturas de lino 100 envasadas en doble envoltura de envase mixto esterilizada por vapor de agua (121°C).

2 suturas de lino 100 con aguja envasadas en doble envoltura de envase mixto esterilizada por vapor de agua (121°C) .

Muestras sin esterilizar de las presentaciones antes detalladas se inocularon previamente para descartar interferencia de los materiales en el método.

Cuatro muestras extras, dos de nylon sin aguja y otras dos con aguja, todas esterilizadas por óxido de etileno, se inocularon previamente al ensayo de esterilidad a fin de descartar la interferencia de posibles residuos de óxido de etileno en los resultados de los ensayos.

Descripción del método: Se realizó el ensayo mediante técnica de siembra directa, sembrando una muestra de cada tipo en caldo tioglicolato a $32,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$ mientras que las muestras restantes se sembraron en medio de tripteína de soja a $22,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$

Se respetó la técnica descrita en Farmacopea Argentina VII Ed. El ensayo se realizó en la cátedra de Higiene y Salud Pública de la Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.

v) ENSAYOS BIOLÓGICOS: ensayos toxicológicos.

El ensayo de inyección sistémica y el ensayo intradérmico permiten determinar la respuesta biológica de los animales a los materiales plásticos de uso medicinal, por la inyección de una sola dosis de extractos específicos preparados a partir de la muestra^{17,18}.

Preparación de extractivos:

Se colocaron 120 cm^2 de muestras de nylon 0.25, cortadas en porciones de 5 cm cada una, en cada recipiente de extracción. Se agregaron a cada uno, 70 ml de agua para inyección calidad Farmacopea Argentina. Se agitó durante 30 segundos, y se escurrió el agua. Se repitió esta operación una vez. Este paso se obvió en las muestras preparadas para la extracción con aceite vegetal destinadas a inyección intraperitoneal. Se agregaron 20 ml de medio de extracción a cada frasco destinado a inyección intradérmica y endovenosa, mientras que solo se agregaron 10 ml a los destinados a

inyección intraperitoneal. Se preparó un blanco con 20 ml de cada medio de extracción.

Medios de extracción:

- Cloruro de sodio 0.85% para inyección (Solución fisiológica inyectable) (para los ensayos de administración Intravenosa)
- Solución de etanol en cloruro de sodio para inyección (1 en 20). (para los ensayos de administración Intravenosa)
- Polietilenglicol 400 (para los ensayos de administración Intraperitoneal e intradérmica)
- Aceite vegetal (oliva). (para los ensayos de administración intraperitoneal)

Una vez preparadas las muestras en los distintos medios de extracción y los blancos como se detalló anteriormente, se colocaron en estufa a 70 °C durante 24 hs. Al retirarlas de la estufa se dejaron enfriar a 22-25 °C. Se agitaron enérgicamente y se dejó decantar cada extracto en otro recipiente adecuado.

8. Inyección sistémica.^{17,18} Consiste en inyectar ratones albinos con extracto de sutura por vía intravenosa unos e intraperitoneal otros. Al grupo blanco solo se le inyecta por las vías mencionadas el medio de extracción. Se observarán los animales después de la inyección y a las 4, 24, 48 y 72hs.



Foto 7: Inyección IV en la vena caudal de ratón

Descripción del método y materiales: Se utilizaron 40 ratones albinos sanos, cepa Swiss-Bagó. Se los mantuvo en cajas acondicionadas con agua y alimento a voluntad.

Se formaron 4 grupos de ratones, cada uno correspondiente a un extracto. En cada grupo se asignaron 5 ratones para ser inyectados con extracto y otros 5 ratones para el blanco correspondiente.

a) Inyección intravenosa (IV) en la vena caudal del ratón:

Se pesaron y marcaron todos los ratones de cada grupo.

Se inyectó una dosis intravenosa, en vena caudal (*Foto 7*), de $0.5 \text{ cm}^3/30 \text{ g}$ a cada ratón de los siguientes grupos:

- extracto (n= 5) ó blanco (n= 5) de cloruro de sodio para inyección
- extracto (n= 5) ó blanco (n= 5) de solución de etanol en cloruro de sodio para inyección 1:20.

b) Inyección intraperitoneal (IP):

El extracto y el blanco obtenido con polietilenglicol PEG 400 se diluyeron con 4.6 volúmenes de cloruro de sodio para inyección, de manera de obtener una concentración de 200 mg/cm^3 de PEG.

Se inyectó una dosis intraperitoneal (*Foto 8*) de $1.5 \text{ cm}^3/30 \text{ g}$ del extracto ó blanco de PEG 400 y $50 \text{ cm}^3/\text{Kg}$ del extracto ó blanco de aceite vegetal a los siguientes grupos de ratones:

- Extracto (n= 5) o blanco (n= 5) de PEG 400
- Extracto (n= 5) o blanco (n= 5) de aceite vegetal.



Foto 8: Inyección intraperitoneal en ratón

Tanto en la inyección IV como en la IP se examinaron los animales inmediatamente después de inyectados, a las 4 horas y a las 24 h, 48 h y 72 h.

9. Prueba intracutánea.^{17,18} Consiste en inyectar intradérmicamente (ID) 0.2 ml del extracto de sutura en el lomo de dos conejos. En cada animal, se inyecta el lomo con el extracto de sutura en diez sitios y el blanco en cinco sitios, los cuales se individualizan para comparar. Si el resultado es dudoso se repite el ensayo en tres conejos más.



Foto 9: Inyección ID en lomo de conejo

Descripción del método y materiales: Se utilizaron dos conejos albinos sanos de 2,5 Kg a los que se les depiló el lomo recortándole el pelo con tijera y luego aplicando crema depilatoria hipoalérgica, 24 horas antes de ser inyectados.

Para la prueba intracutánea se utilizó el extracto de la muestra preparado con polietilenglicol 400 (PEG). Antes de inyectarlos se diluyeron el extracto y el blanco con 8.3 volúmenes de cloruro de sodio para inyección, obteniendo una concentración de 120 mg/cm^3 de PEG.

Ambos conejos fueron inyectados con 0.2 ml de blanco en cinco puntos a un lado del lomo y 0.2 ml de extracto de muestra en 10 sitios del lado opuesto (*Foto 9*).

Se examinaron los lados inyectados a las 24, 48 y 72 horas posteriores a la inyección.