

CIRUGIA PLASTICA

Volumen
Volume 12

Número
Number 1

Enero-Abril
January-April 2002

Artículo:

Prueba de polimerasa de los virus del
papiloma humano (VPH),
citomegalovirus (CMV) y las
radiaciones gamma para su aplicación
en un banco de tejidos

Derechos reservados, Copyright © 2002:
Asociación Mexicana de Cirugía Plástica, Estética y Reconstructiva, AC

**Otras secciones de
este sitio:**

- 👉 [Índice de este número](#)
- 👉 [Más revistas](#)
- 👉 [Búsqueda](#)

***Others sections in
this web site:***

- 👉 [Contents of this number](#)
- 👉 [More journals](#)
- 👉 [Search](#)



www.medigraphic.com

Prueba de polimerasa de los virus del papiloma humano (VPH), citomegalovirus (CMV) y las radiaciones gamma para su aplicación en un banco de tejidos*

Dr. Luis Ernesto Ramos Durón,** Dr. Francisco Javier Carrera Gómez,*** Dr. Jorge Eduardo Gutiérrez Salgado,**** Dr. Marco Antonio Marín Ramírez,***** Dr. Abiel Roberto Reyes Rodríguez,***** Dr. Juan Manuel Melchor González*****

RESUMEN

Existen antecedentes relacionados con la esterilización de implantes aloplásticos, alimentos, medicamentos, material quirúrgico desechable y tejidos humanos por medio de radiaciones gamma. En la industria farmacéutica y en cirugía se utilizan materiales esterilizados con este método a dosis de 25 kilogray, como norma establecida por el Organismo Internacional de Energía Atómica para los países miembros. En el trasplante de piel de cadáver para pacientes quemados se ha descrito la posibilidad de transmitir una infección por citomegalovirus; el reporte de estos injertos como seronegativos al virus no es frecuente en la práctica. Asimismo los pacientes quemados son susceptibles, ya que su sistema inmunológico se encuentra disminuido y en ellos también es posible una infección por patógenos oportunistas. Se diseñó un estudio para su aplicación en un banco de tejidos donde se tomaron dos muestras diferentes de tejidos con citomegalovirus y virus del papiloma humano utilizando sangre total y verrugas vulgares respectivamente; se irradiaron con rayos gamma a diferentes dosis, confirmando la inactivación de estos virus a dosis de 50 kilogray en el 100% de las muestras, confirmado por la prueba de reacción en cadena de la polimerasa.

Palabras clave: Citomegalovirus, virus del papiloma humano, radiaciones gamma, reacción en cadena de la polimerasa, banco de tejidos.

SUMMARY

There are antecedents related to sterilization of alloplastic implants, food, medication, disposable surgical material and human tissues by means of gamma radiation. In the pharmaceutical industry and in surgery materials are used sterilized with this method at doses of 25 kilogray, as a norm established by the International Organism of Atomic Energy for the member countries. In transplant of cadaver skin for burnt patients the possibility of transmitting an infection for cytomegalovirus has been described; the report of these implants as seronegative to the virus are not common. Also burn patients are susceptible, since their immune system is weakened and an infection by pathogen is also possible. A study was designed for its application in a tissue bank where two samples of different tissues with cytomegalovirus and virus of the human papilloma were taken using total blood and vulgar warts respectively; they were irradiated with gamma rays at different doses, confirming inactivity from these virus at doses of 50 kilogray in 100% of the samples, confirmed by the chain reaction test of polimerase.

Key words: Cytomegalovirus, human papilloma virus, gamma radiation, reaction chain of the polimerase, tissue bank

* Trabajo presentado en el XXX Concurso Nacional de Residentes de Cirugía Plástica y Reconstructiva "Dr. Fernando Ortiz Monasterio" Morelia, Febrero de 2001.

** Jefe de Servicio de Cirugía Plástica y Reconstructiva. Hospital Central Sur de Alta Especialidad (HCSAE) de Petróleos Mexicanos (PEMEX).

*** Profesor Titular del Curso de Cirugía Plástica y Reconstructiva. HCSAE, PEMEX.

**** Profesor Adjunto del Curso de Cirugía Plástica y Reconstructiva. HCSAE, PEMEX.

***** Médico residente de segundo año de Cirugía Plástica y Reconstructiva. HCSAE, PEMEX.

INTRODUCCIÓN

En la industria farmacéutica y en cirugía se ha empleado para la esterilización radiación gamma a dosis de 25 kilogray (kGy) como norma de referencia establecido por el Organismo Internacional de Energía Atómica para todos los países miembros (OIEA).¹⁻³

Existen antecedentes en la literatura que demuestran inactivación viral en plaquetas con la utilización de radiación láser-UV, acelerador de electrones y otras partículas, para la esterilización de diferentes tejidos aloplásticos y biológicos;⁴⁻⁷ otras, sobre la esterilización y preservación de tejidos biológicos y el efecto de la radiación sobre los tejidos;⁸⁻¹⁵ y otras más, referentes a la esterilización de membranas amnióticas mediante radiación gamma,¹⁶⁻¹⁸ inactivación de parásitos y otros microorganismos.¹⁹⁻²³

Al paciente postrasplante de médula ósea y otros trasplantes, generalmente se le realizan múltiples transfusiones sanguíneas. En el banco de sangre se realiza desleucocitación de los paquetes con filtros especiales. El 70% de la población tiene IgG positiva para citomegalovirus (CMV), por esto hay antígenos positivos y en sus leucocitos puede haber CMV detestables por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR-CMV), por lo que existe un 22.7% de incidencia para la transmisión del CMV en paquetes seropositivos al CMV. El reporte de los productos sanguíneos como seronegativos a este virus no es frecuente en la práctica, pero cuando se utiliza no erradica totalmente la conversión asociada a la transfusión, aunque sí disminuye la incidencia a un 7%, por lo que es aconsejable irradiarlos.^{25,26}

Dentro de los trasplantes de piel o injertos homólogos de piel de cadáver para pacientes quemados, se ha descrito la posibilidad de transmitir a estos pacientes una infección por el CMV, también existe una incidencia de seroconversión negativa a positiva para virus (CMV) del 22.7%. Algunos autores apoyan que la infección del CMV en pacientes quemados es transmitida por homoinjertos.²⁶⁻²⁸

La incidencia de CMV varía en diferentes países pero aumenta con la edad; es más común después de los 60 años, y dado que el 70% de la población mundial tiene IgG positiva para CMV, la mayoría de los homoinjertos de los bancos de piel provendrán de donadores seropositivos, como consecuencia de que la piel de cadáver no se examina rutinariamente para detectar CMV en ningún país. Los pacientes con grandes superficies quemadas pueden experimentar inmunosupresión transitoria y son más susceptibles a infección con patógenos oportunistas y en este estado es frecuente la conversión de negativo a positivo del CMV.^{29,30}

Las hepatitis y fiebre inexplicables se han observado en seroconversión de pacientes quemados.^{31,32} Seeman,³³ especula que el aumento en la morbilidad y mortalidad en grandes quemados es directamente atribuible a la infección por CMV.³³ Desde 1987 se sabe que el CMV puede ser transmitido por injertos de piel de cadáver.^{34,35} Los injertos de piel de cadáver se han utilizado desde 1881 en los quemados, ya que disminuyen la pérdida de agua, proteínas, disminuyen el dolor y el tiempo de epitelización de las quemaduras de segundo grado, mantienen limpia la herida, reducen la incidencia de sepsis y por ende la mortalidad. Estos beneficios son bien claros cuando cubren grandes áreas quemadas y sobre todo cuando el paciente carece de sitios donadores para autoinjertos.³⁶

Los beneficios superan a los riesgos, sin dejar de incidir en infecciones, posiblemente con el uso de radiaciones gamma sobre la piel donante. Este riesgo disminuye en su totalidad por eliminación viral o inactivación de los virus presentes.³⁷

Existen pocas referencias sobre la eliminación viral o inactivación con radiaciones gamma en tejidos de banco.³⁸

MATERIAL Y MÉTODO

Se recolectó 30 muestras del banco de sangre (sangre total) con serología positiva para CMV, en el periodo comprendido de agosto a octubre de 2000 y se enviaron al laboratorio para su confirmación por PCR-CMV cualitativa. Una vez confirmados se dividieron en tres grupos para irradiar cada muestra con el irradiador J-S 6,500 AECL de Co-60 en el E41N a diferentes dosis: el grupo A, a 25 kGy; el grupo B, a 35 kGy, y el grupo C, a 50 kGy. Después de las radiaciones se les realizó PCR-CMV semicuantitativa, valorando la negatividad de la misma o disminución en los genomas, y en el último caso se efectuó la PCR-CMV MRNA para determinar la actividad viral. También se recolectaron 20 muestras de verrugas vulgares, que se dividieron en cuatro fragmentos cada una; se envió a laboratorio un fragmento para su confirmación por PCR-VPH, y con los fragmentos restantes se formaron tres grupos (A, B, y C), para remitirlos a irradiación gamma a las mismas dosis que los grupos anteriores, realizándoles también PCR-VPH semicuantitativa, PCR-VPH MRNA, y análisis histológico.

RESULTADOS

CMV

En el grupo A (CMV a 25 kGy), después de la irradiación, fueron positivas a la PCR-CMV semicuantitativa

22 muestras, a las que se les realizó PCR-CW mRNA, con 4 positivas y 18 negativas; 8 muestras fueron negativas a la PCR-CMV semicuantitativa, por ello no fue necesario determinar la PCR-CMV mRNA. En el grupo B (a 35 kGy) hubo 6 con PCR-CMV semicuantitativa positiva, a los que se realizó PCR-CMV mRNA, con cuatro negativos y dos positivos. Los restantes 24 fueron negativos a la PCR-CMV semicuantitativa por lo que no se realizó mRNA. En el grupo C (a 50 kGy), se reportó con PCR-CMV semicuantitativa negativa para todos los casos, por lo que no se realizó mRNA.

VPH

En el caso de las verrugas se reportó el grupo A con PCR-VH semicuantitativa positiva para todos los casos; la PCR-VPH MRNA fue positiva para nueve y negativo para 11. El reporte de histología mostró necrosis celular, cambios hialinos, edema y vacuolización del citoplasma en todas las muestras. El grupo B reportó positividad para PCR-VPH semicuantitativa en 8 casos y 11 fueron negativos; el mRNA fue negativo en los 8 casos y a los otros 11 no se les realizó. El reporte de patología fue desprendimiento de epitelio, cariorexis y cariólisis, sin ruptura de la macro morfología de la matriz celular y tisular. El grupo C se reportó con la PCR-VPH semicuantitativa negativa en todos los casos, por lo que no se realizó el mRNA. Patología reportó lo mismo que el grupo B en todas las muestras.

COMENTARIO

Dentro de las aplicaciones clínicas que este estudio puede brindar, están los bancos de tejidos de los centros de cirugía plástica y reconstructiva, principalmente donde se trabaja con piel homóloga, membranas amnióticas, dermis, fascia o hueso.³⁹ En la actualidad se pueden irradiar estos tejidos y otros para evitar cualquier tipo de contaminación a pesar de que el tejido se encuentre potencialmente contaminado, por lo que no se desperdicia o desecha este tejido útil, y con estas dosis garantizar su aplicación libre de virus. Queda pendiente corroborar la disminución de la contaminación por cultivos en tejidos vivos de animales de experimentación; sin embargo, el estudio en estos dos virus no puede generalizar a todos los virus, ya que la labilidad a las radiaciones gamma es diferente en cada virus, por lo que se recomienda que en caso de otras infecciones con otros virus, estos tejidos sean desechados hasta no demostrar su efectividad. Existen pocos estudios en otros virus, como el VIH, el de la hepatitis C y de la fiebre aftosa, donde las radiaciones gamma los han podido inactivar a partir de dosis

de 35 kGy.⁴⁰ Esto apoya la heterogénea susceptibilidad a las radiaciones de los virus, al igual que las bacterias y hongos, por lo que está pendiente la futura estandarización de estas pruebas como norma por la OIEA.

CONCLUSIONES

Para el CMV como para el VPH se encontró que la dosis de 50 kGy fue suficiente para negativizar todas las muestras a la PCR semicuantitativa. Se vio que dosis menores de radiaciones gamma no son constantes como para negativizar al 100% de las muestras, aunque las inactivas proporcionalmente al incremento de la radiación, según la PCR MRNA. Encontramos más sensible al CMV para las radiaciones que al VPH, y los resultados de patología muestran que la estructura tisular se conserva a pesar de la destrucción de las células y la inactivación intracelular de los virus.

BIBLIOGRAFÍA

1. Writ KA, Trump JG. High energy electrons for the irradiation of blood derivatives. *Proc Sixth Cong Int Soc blood transfusion, bibl Haemat* 1956; (7): 230-339.
2. Delgado AA, Schaaf NG. Dynamic ultraviolet sterilization of different implant types. *Int J Oral-Maxillofac-Implants* 1990; 5: 117-25.
3. Phillips GO. 150, International Standard Sterilization of health care products - validation and routine control: Gamma and electron beam radiation sterilization. *ISO/DIS, IAEA Bulletin* 1994; 36: 19-23.
4. Jacob RJ, Peinkowski D. Molecular anatomy of freeze-fractured ultra-high molecular weight. Polyethylene as determined by low-voltage scanning electron microscopy. *J Biomed Mater Res* 1997; 37: 489-96.
5. Camacho MJ. *Potencial osteogénico de dos implantes aloplásticos y autoinjerto óseo*. UNAM. Tesis de posgrado. 1996.
6. Márquez EC. *Comportamiento histopatológico del polipropileno y poliéster como sustituto de hueso*. UNAM. Tesis de posgrado 1998.
7. Mohamed ED. Facial augmentation with proplast and nonporous hydroxyapatite in rhesus monkeys. *Cleft Palate* 1990; 27: 230.
8. López AE. Utilización del BOP en el tratamiento de fracturas de órbita y frontorbitarias. *Rev Mex Ort Traum* 1993; 7: 207.
9. Turner TC, Vassett CA, Pate J, Sawyer PN, Trump JG. Sterilization of preserved bone grafts by high voltage cathode irradiation. *J Bone J Surg* 1956; 38: 862-84.
10. Balint JB. rRd. Sterilization of impl. for rec. Surg of kinesthetic organs. In sterile and preservation of biol tissue by ionizing radiation. *Vienna* 1970: pp. 43-45.
11. Cohen J. Cathode ray sterilization of bone grafts. *Arch Surg* v 71, Nov. 1955: 784-789.
12. Stachowicz W, Ostrowski K, Diedzic A. On free radicals evoked by radiosterilization in preserved bone grafts. Sterile and preserve of biol tissue by ion. *Rad Vienna Austr* 1970: pp. 15-27.
13. Urist NIR, Dowell TA, Strates BS. *Effects of ionizing radiation on connective tissue components*. Int. rey. Conn. Tissue res, hall da ed, ap New York, USA, 1968; 4, 233.

14. Barnard CN. *Experience with human heart transplantation. Steril and preserv of biol tissues by ion*. Vienna, Austr 1970: pp. 79-94.
15. Gibbons JR, Alladine FA. *Homograft heart valve replacement. Steril and preserv of biol tissues by ion*. Vienna, Austria 1970; pp. 95-105.
16. Little K. *Some effects of sterilizing doses of radiation on biological tissues. Steril and preserv of biol tissues by ion*. Vienna Austria 1970: pp. 37-41.
17. Glyn O. Phillips. *La tecnología de las radiaciones en la cirugía y la industria farmacéutica*, Boletín OIEA, 1994; 36.
18. Manuel TG. *Esterilización de membranas amnióticas como apósitos biológicos mediante radiación gamma*. UNAM. Tesis de posgrado 1995.
19. María MP, Ramos LE, Eduardo GS, Marin MA. Clinical application of amniotic membranes on a patient with Epidermolysis Bullosa. *Annals of Transplantation* 1999; 4: 57-66.
20. Ferreira da Cruz M, Teva AE, Espindola M. Inactivation of plasmodium falciparum parasites using gamma-irradiation. *Mem-Inst-Oswaldo-Cruz* 1997; Jan-Feb 92, (1); 137-138.
21. Gursel B, Gurakan GC. Effects of gamma irradiation of the survival of listeria monocytogenes and on its growth at refrigeration temperature in poultry and red meat. *Poult -Sey* 1997; Dec 76 (12): 1661-4.
22. Pulatoya NW, Sharygin VL. Fungal infection of human organs by resistant melanin- synthesizing, species s one of the pathogenic factors and one of the real consequences. *Radiats-Biol-Radioecol* 1997; 37: 649-56.
23. Galland JC. Risk and prevention of contamination of beef carcasses during the slaughter process in the USA. *Rev Sci Tech* 1997; 16: 395-404.
24. Hallan E, Blomhott HK, Lomo J. Involvement of ICE (caspase) family in gamma- radiation induced apoptosis of normal B lymphocytes. *Scand J Immunol* 1997; 46: 601-8.
25. Handa M. Prevention of posttransfusion graft-versus-host disease by leukocyte depletion filter. *Nippon Rinsho* 1997; 55: 2282-9.
26. Bowden RA. Transfusion transmitted cytomegalovirus infection. *Hematol Oncol Clin North Am* 1995; 9: 155-66.
27. Bale JF, Kealey GP, Massamari RM. The epidemiology of cytomegalovirus infection among patients whit burns. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1990; 11: 17-22.
28. Kealey GP, Aguiar J, Lewis RW. Cadaver skin allografts and transmission of human cytomegalovirus to burn patients. *J Am Coll Surg* 1996; 182: 201-5.
29. Kealey GP, Bale JF, Strauss RG. Cytomegalovirus infection in burn patients. *J Burn Care Rehabil* 1997; 8: 543-45.
30. Linnemann CC, MacMillan BJ. Viral infections in pediatric burn patients. *Am J Dis Child* 1995; 9: 155-66.
31. Kagan RJ, Naraqui S, Matsuda T. Herpes simplex virus and cytomegalovirus infections in burned patients. *J Trauma* 1996; 24: 40-5.
32. Depe GS, MacMillan BG. Unexplained fever in burn patients due to cytomegalovirus infection. *JAMA* 1995; 248: 2299-2301.
33. Seeman J, Konigova R. Cytomegalovirus infection in severely burned patients. *Acta Chir Plast* 1996; 18: 142-151.
34. Seeman J, Konigova R, Lysenkova I. Fatal outcome of cytomegalovirus infections in severe burns. *Acta Chir Plast* 1997; 22: 166-70.
35. Shelby J, Shanley J. Transfer or murine cytomegalovirus by syngenic grafts. *Transplantation* 1997; 44: 318-20.
36. Girdner JU. Skin grafting whit grafts taken from the dead subject. *Medical Record New York*, 1881; 20: 119.
37. David NH, Keith R. Cadaver skin allograft and the transmission of human cytomegalovirus in burned patients: benefits clearly ouweigh risks. *J Am Coll Surg* 1996; 182: 263-4.
38. Pruss A, Vonversen R, Moening HJ, Kiesewetterh PG. *Irradiation sterilization in tissue hanking-validation of the procedure (model: pseudo rabies virus)*. Presented in the regional workshop on quality assurance in Tissue Banking for Latin-american and Caribe, Mexico City, Aug 1999; pp. 23-27. (Unpublished).
39. María NT y cols. Procesamiento, validación de dosis y aplicación clínica de apósitos biológicos radioesterilizados. *International Joint Meeting: Acapulco* 1999.
40. Mauier RM, Hilfenhaus J. Inactivation of HLTV-III/LAV, hepatitis C virus by gamma irradiations in human plasma preparations. *Dev Biol Std* 1987; 67: 337-351.

Dirección para correspondencia:

Dr. Marco Antonio Marín Ramírez

Periférico Sur 4091, Colonia Fuentes del Pedregal.

14140 México, D.F.

Tel. 5645-1684 Ext. 51153.