



Incidencia de microorganismos en tejidos humanos procurados

Incidence of microorganisms in human tissues procured

Juan Matus Jiménez*

*Ortopedista, Traumatólogo y Médico del Deporte. Médico adscrito al Hospital General «Valentín Gómez Farías», Instituto de Salud del Estado de México y al Hospital General Xoco, Secretaría de Salud de la CDMX.

Resumen

Introducción: Los injertos son obtenidos de diferentes tejidos, dependiendo de su origen se clasifican en: autoinjertos, aloinjertos y xenoinjertos; se seleccionan, empaquetan y esterilizan. Durante el proceso de selección se identifican gérmenes que los contaminan y que determinan su aceptación o no para su utilización clínica. El objetivo de este trabajo es determinar si existe o no contaminación de los tejidos y qué tipo de gérmenes son los que se están presentando. **Material y métodos:** Se tomaron hisopados de los tejidos procurados de 2015 a 2019. Se sembraron en diferentes medios de cultivos y se determinaron los gérmenes que mostraron desarrollo. **Resultados:** De los 4,620 tejidos hisopados de 385 donadores, 61% no presentó crecimiento; las crestas iliacas y tendones de Aquiles evidenciaron crecimiento de *Staphylococcus spp.* en mayor prevalencia (25%), 19% fue *S. aureus*. Los tejidos con enterobacterias (7%), *Clostridium spp.* (0.42%) y *Pseudomonas aeruginosa* (1.42%) se destruyeron. **Conclusión:** Debido a la biocarga encontrada en los tejidos procurados se concluye que algunos de éstos deben eliminarse con métodos de esterilización que no afecten la integridad del tejido y que sea terminal, recomendándose la irradiación gamma para asegurar que éstos no transmitieran una infección al receptor.

Palabras clave: Aloinjertos, biocarga, microorganismos, esterilización final.

Abstract

Introduction: The grafts are obtained from different tissues, depending on their origin they are classified into: autografts, allografts and xenografts, they are selected, packaged and sterilized. During the selection process, germs that contaminate them are identified and that determine their acceptance or not for clinical use. **Material and methods:** Swabs were taken from the tissues obtained from 2015 to 2019, they were sown in different culture media and the germs that developed were determined. **Results:** Of the 4,620 tissues swabbed from 385 donors, 61% showed no growth; the iliac crests and Achilles tendons showed growth of *Staphylococcus spp.* in higher prevalence (25%), 19% was *S. aureus*. Tissues with *Enterobacteriaceae* (7%), *Clostridium spp.* (0.42%) and *Pseudomonas aeruginosa* (1.42%) were destroyed. **Conclusion:** Due to the bioburden found in the tissues sought, it is concluded that some of these must be eliminated with sterilization methods that do not affect the integrity of the tissue and that is terminal, recommending gamma irradiation to ensure that they do not transmit an infection to the recipient.

Keywords: Allografts, bioburden, microorganisms, final sterilization.

Introducción

Debido al incremento en la esperanza de vida de la población mundial se han presentado nuevas enfermedades, esto vinculado al aumento en el número de vehículos automotores con la capacidad de alcanzar

altas velocidades en poco tiempo ha condicionado la aparición de accidentes y lesiones de alta energía, que afectan segmentos del cuerpo que pudieran presentar pérdidas de estructuras como músculo, huesos, tendones y piel; además del incremento de armas de fuego con mayor potencia y de fácil adqui-

Correspondencia:

Acad. Dr. Juan Matus Jiménez

E-mail: jmatusj2002@yahoo.com.mx

Recibido: 09-09-2021. Aceptado: 16-11-2021.

Citar como: Matus JJ. Incidencia de microorganismos en tejidos humanos procurados. Orthotips. 2022; 18 (2): 107-111. <https://dx.doi.org/10.35366/105499>

sición que producen lesiones severas y mutilantes que son complicadas de resolver.

Como resultado de estas variantes expuestas surgió la necesidad de utilizar injertos. En un inicio fue del mismo paciente (autólogo); sin embargo, para poder obtenerlos se tiene que realizar un procedimiento quirúrgico y esto aumenta la morbilidad en el paciente, incrementando la posibilidad de infección en dos sitios quirúrgicos. Ya están establecidos los sitios anatómicos donde se pueden obtener estos injertos, pero la cantidad es limitada, por lo que se tuvo la necesidad de crear los bancos de tejidos, donde se obtienen, preparan y almacenan dichos tejidos. En un inicio se localizaban dentro de los hospitales, pero existían muchas irregularidades, por lo que se crearon organizaciones que norman los protocolos y directrices para la operación técnica de los bancos de piel y de tejidos, entre ellas están la Asociación Americana de Bancos de Tejidos (1972), Euroskin Bank (1976) que cambió su nombre a Euro Tissue Bank (2010), Asociación Española de Bancos de Tejidos (2002), Asociación de Bancos de Tejidos de Asia-Pacífico y la Asociación Latinoamericana de Bancos de Tejidos. En México se formaron a partir de 1940 en los hospitales: Juárez, Central Militar, Infantil, Clínica Primavera. En estos lugares se trasladaban los tejidos de la sala que se obtenían a la que se requería, si no se guardaban en frascos con merthiolate, formol, alcohol, etc., pero no había control de esterilidad, entre otras cosas, por lo que se creó el Banco de Tejidos Radioesterilizados del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares en Monterrey, Nuevo León, el Banco de Huesos y Tejidos (BHT), hasta que en 2015 el Centro Nacional de Trasplantes (CENATRA) proporcionó licencia a 63 bancos de tejidos, siendo 33 instituciones privadas¹ donde se pueden obtener tejidos para su aplicación en los pacientes que lo requieran. A estos tejidos de otro ser humano se les conoce como «aloinjerto», si proviene de algún animal «xenoinjerto»; actualmente existen injertos de material no vivo (cerámica, sales de calcio, etc.), pero con el resultado no tan convincente y esperado como se pensó cuando se crearon.¹⁻⁸

En la evolución de los bancos de tejidos se observó la necesidad de obtener tejidos de pacientes cuya causa de muerte no fuera infecciosa (bacterias, virus, etc.) con el fin de evitar que pudiera transmitir la enfermedad que causó la muerte al donador al receptor por medio de esos tejidos, por lo que se crearon listas de cotejo donde se mencionaban las diferentes causas de muerte como criterios de inclusión y exclusión.⁹

Se valoraba la esterilidad de estos tejidos por medio de cultivos para diferentes gérmenes, considerando en qué medios de cultivo crecían, clasificándolos por medio de tinciones, uso de oxígeno y cómo parasitan a las células (Figura 1).¹⁰⁻¹³

Para determinar que un paciente pueda considerarse un donador probable, debe cubrir varios aspectos como realizar un riguroso análisis clínico para verificar que el donador se encuentra libre de agentes patógenos, la realización de un panel viral para determinar que no presente enfermedades transmisibles; hacer una solicitud con la aceptación por parte de los familiares para donar el cuerpo del paciente es la forma en la que se realiza la procuración de los tejidos u órganos en ciertos casos, esto se desarrolla en ambiente controlado; para algunos hospitales es en quirófano, en patología o alguna área específica para ello, procurando siempre un área limpia, controlada, donde se pueda obtenerlos.

Se trasladan los tejidos u órganos al lugar donde se van a procesar, o si fueron órganos al hospital donde se realizará el trasplante.

Estos tejidos deben permanecer en cuarentena en lo que se completa el expediente y se comprueba que el donador no va a transmitir algún tipo de enfermedad, ya que los estudios serológicos se tardan dos semanas más o menos en obtener los resultados, verificando que éstos no sean positivos, que los cultivos que se toman al momento de la procuración sean negativos o bien que no se desarrolle *Pseudomonas*, *Clostridium*, *Streptococcus pyogenes*, que son causa de rechazo antes de procesar los tejidos.¹⁴⁻¹⁸



Figura 1: Hisopado de la cabeza femoral.



Figura 2: Beta hemólisis en Apgar sangre.

Se procesan o se preparan los tejidos que no fueron rechazados con el procedimiento anterior, limpiándolos y obteniendo los diferentes productos que se requieren, debe ser en un lugar limpio y con control del ambiente lo más limpio posible; el tejido sigue un proceso independiente si es blando (tendón, hueso, piel) o duro, ya que al tejido duro se le realiza una liofilización (la deshidratación del tejido por alta presión a baja temperatura hasta quedar con 10% de humedad), los tejidos blandos no se someten a este proceso debido a que los debilitaría, destruyendo su microestructura¹⁹⁻²¹ y por último, la esterilización final que también se ha ido modificando con la evolución en la obtención de los aloinjertos, ya que se ha realizado por varios métodos, con radiación gamma a diferentes intensidades o con sustancias químicas (óxido de metileno); sin embargo, este último presentaba complicaciones tales como residuos que provocaban irritación o inflamación crónica y sinovitis reactiva, las altas dosis de radiación iban rompiendo los puentes de uniones químicas y la resistencia a la presión o la distensión se disminuía provocando que se rompieran y no funcionaran. En respuesta a estas complicaciones se han hecho varios estudios para disminuir la incidencia de complicaciones como la utilización de sustancias que protejan al tejido para que la radiación no altere su ultraestructura y se pueda utilizar el aloinjerto sin tener preocupación de perder la resistencia que se está buscando²¹ (Figura 2).¹⁴⁻¹⁸

Otro tipo de microorganismos de relevancia clínica, pero no necesariamente considerados de rechazo, son algunos tipos de levaduras y hongos que actúan como microorganismos oportunistas, los cuales son eliminados al no aceptar a pacientes

donadores que presenten algún tipo de infección por estos microorganismos.²²⁻²⁴

De acuerdo a la normatividad nacional con respecto a las buenas prácticas de fabricación para establecimientos dedicados a la fabricación de dispositivos médicos (NOM-241-SSA1-2012),²⁵ el área de microbiología debe realizar monitoreos ambientales con la finalidad de asegurar que el tipo y número de partículas viables no comprometan ni las áreas ni la calidad del tejido, manteniendo la calidad del mismo durante su procesamiento.

Existen otros tipos de aloinjertos, procesados en forma diferente y son los frescos congelados,²⁶ los cuales no están estériles y por tal motivo se requiere una estricta adherencia a las pautas y protocolos descritos por la Asociación Americana de Bancos de Tejidos, teniendo hasta 22% de material descartado debido a la contaminación microbiana. Se encontró que 12.8% de los pacientes en los que se utilizaron aloinjertos estructurales en cirugía tumoral reconstructiva en Harvard, en 30 años presentaron infección, aunque no hace referencia a qué tipo de aloinjerto se usó, los radiados o los frescos congelados.²⁷ Cabe mencionar que poseen como desventaja no sólo la biocarga normal, sino también la posible presencia de toxinas bacterianas que sólo la congelación no las inactiva ni elimina, lo que podría provocar la transmisión de infección al receptor.^{20,21,25}

Por lo anterior, se realizó el presente trabajo con los siguientes objetivos: determinar los tipos de microorganismos que contaminaron los tejidos procurados y en qué tejidos se encuentran, ya que éstos deben ser destruidos para que no provoquen transmisión de microorganismos a los receptores en quienes se apliquen en forma clínica.

Material y métodos

Se llevó a cabo un análisis de 4,620 hisopados tomados de 385 donadores provenientes de distintos sitios de la República mexicana de 2015 a 2019, los hisopados se obtuvieron de diferentes áreas de los tejidos procurados en un ambiente controlado. Las áreas de donde se obtuvieron fueron en el siguiente orden:

1. Dos en cada miembro torácico, húmero proximal y la articulación radio-cubital distal.
2. Tres en cada miembro pélvico, cabeza femoral, rodilla y tobillo.
3. Uno en cada cresta iliaca.

Se cultivaron en medios de cultivo: agar MacConkey, agar CDC para anaerobios, agar sangre, agar sal y manitol, los cuales se cultivan de tres a cuatro días y para el agar Sabuouraud por siete a 14 días, los cultivos positivos se corroboran con soya tripticaseína y caldo tioglicolato por 14 días.^{26,27}

Se identificaron los diferentes microorganismos que crecieron en los medios de cultivo, se registró la incidencia y el sitio de donde se obtuvieron.

Resultados

De los hisopados analizados, 61% no muestra crecimiento.

En las crestas iliacas y tendones de Aquiles se observó mayor incidencia de crecimiento de microorganismos, siendo el *Staphylococcus spp.* el de mayor prevalencia con 25%, del cual 19% corresponde a la especie *S. aureus*.

Los otros microorganismos que mostraron crecimiento fueron las enterobacterias con incidencia de 7%, de éstas la *Clostridium spp.* con 0.42% y la *Pseudomonas aeruginosa* con 1.42%; estos tejidos contaminados son rechazados y destruidos.

En la *Figura 3* se muestra el porcentaje de incidencia de aparición de los microorganismos en los tejidos procurados.

Discusión

En varios países y en diferentes tiempos se ha encontrado que se requiere que a los aloinjertos se

les realice una esterilización final, debido a que se ha detectado contaminación por varios gérmenes y en varias ocasiones algunos pacientes a los que se les coloca alguno de los procedimientos quirúrgicos, presentaron infección.²⁸⁻³³

Por tal motivo, es importante determinar los gérmenes detectados en los tejidos procurados antes de colocarlos en los pacientes, siendo aún más estricta la selección de los posibles pacientes donadores que no tengan algún factor que determine la presencia de algún germen, que la procuración de los tejidos se realice en un área estéril controlada y limpia, además que se efectúe una buena asepsia, antisepsia y que todos los instrumentos para obtener los aloinjertos estén estériles o lo menos contaminados posible y realizar una esterilización final que no cause algún cambio en la estructura, que no contengan residuos que produzcan algún tipo de rechazo o reacción inflamatoria y que con su aplicación clínica no presenten complicaciones. Se ha estado investigando con qué tipo de proceso se tiene que realizar la mejor esterilización final, el proceso que ha mostrado menos complicaciones y mayor seguridad es la radiación con rayos gamma sin protección a los tejidos, la dosis mayor que se recomienda es de 20 kGy, aunque hay un método para aumentar la dosis de radiación y que el tejido no sufra alteraciones estructurales y se asegure mayor esterilidad, tomando en cuenta que los priones y virus son difíciles de eliminar y es aplicando una sustancia crioradioprotectora llamada «clearante», de la cual ya existen estudios donde se observa que la estructura macroscópica y microscópica no se ve afectada.^{19,34}

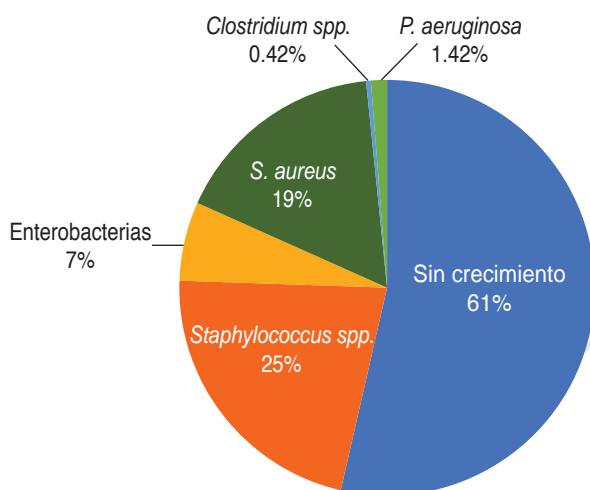


Figura 3: Incidencia de aparición de los microorganismos en los tejidos.

Conclusión

En este estudio encontramos que a pesar de todas las medidas de control, protocolos y procedimientos rigurosos se presentó una biocarga en los tejidos procurados como se establece en los diferentes organizaciones mundiales para obtener aloinjertos, por lo que hay que tener cuidado en el uso de tejidos a los que no se realiza una esterilización final, ya que se podría transmitir alguno de los gérmenes y provocar una infección en el receptor de estos tejidos.

Referencias

1. Shibuya N, Jupiter DC. Bone graft substitute: allograft and xenograft. Clin Podiatr Med Surg. 2015; 32 (1): 21-34.
2. Shibuya N, Jupiter DC, Clawson LD, La Fontaine. Incorporation of bovine-based structural bone grafts used in reconstructive foot surgery. J Foot Ankle Surg. 2012; 51 (1): 30-33.

3. Vining NC, Warne WJ, Mosca VS. Comparison of structural bone autografts and allografts in pediatric foot surgery. *J Pediatr Orthop*. 2012; 32 (7): 719-723.
4. Bauer TW, Muschler GF. Bone graft materials. An overview of the basic science. *Clin Orthop Relat Res*. 2000; 371: 10-27.
5. Zhang Y, Qiu L, Li F, Zhang Q, Zhang L, Niu X. Automatic allograft bone selection through band registration and its application to distal femur. *Cell Tissue Bank*. 2017; 18 (3): 297-305.
6. Garcia-Coiradas J, Garcia-Maroto R, Cebrian JL, Lopez-Duran L. Structural bone allograft fractures in oncological procedures. *Int Orthop*. 2015; 39 (11): 2261-2265.
7. Kawaguchi S, Hart RA. The need for structural allograft biomechanical guidelines. *J Am Acad Orthop Surg*. 2015; 23 (2): 119-125.
8. Téllez PA, Tesina: Situación actual de la regulación de bancos de tejidos en México. Máster Alianza Edición, 2016, España, sit.
9. Standards for Tissue Banking, AATB, 14a. ed, 2018.
10. William B, Coleman D, Wiebe W. Prokaryotes: the unseen majority. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998; 95: 6578-6583.
11. Drasar B., Barrow P. Intestinal microbiology. Am Soc Microbiol. Washington, DC, 1985.
12. Lin YT, Vanechoutte M, Huang AH, Teng LJ, Chen HM, Su SL, et al. Identification of clinically important anaerobic bacteria by an oligonucleotide array. *J Clin Microbiol*. 2010; 48 (4): 1283-1290.
13. Hauser A, Jain M, Bar-Meir M, McColley S. Clinical significance of microbial infection and adaptation in cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev*. 2011; 24 (1): 29-70.
14. Mohr J, Germain M, Winters M, Fraser S, Duong A, Garibaldi A, et al. Disinfection of human musculoskeletal allografts in tissue banking: a systematic review. *Cell Tissue Bank*. 2016; 17 (4): 573-584.
15. Ireland L, Spelman D. Bacterial contamination of tissue allografts - experiences of the donor tissue bank of Victoria. *Cell Tissue Bank*. 2005; 6 (3): 181-189.
16. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Invasive *Streptococcus pyogenes* after allograft implantation, Colorado, 2003. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2003; 52: 1173-1176.
17. Centers for Disease Control and Prevention. Update: Allograft-associated bacterial infections, United States 2002. *Morbidity Mortal Wkly Rep*. 2002; 51: 207-210.
18. Cerutti E, Stratta C, Romagnoli R, Serra R, Lepore M, Fop F, et al. Bacterial- and fungal-positive cultures in organ donors: clinical impact in liver transplantation. *Liver Transpl*. 2006; 12 (8): 1253-1259.
19. Singh R, Singh D, Singh A. Radiation sterilization of tissue allografts: a review. *World J Radiol*. 2016; 8 (4): 355-369.
20. Matus-Jiménez J, Flores-Fletes JR, Carrillo A. Protección de los tejidos cadavéricos expuestos a alta radiación gamma. *Acta Ortop Mex*. 2013; 27 (3): 182-189.
21. Costerton JW, Cheng G, Gersey TI, Ladd JG, Nickel M. Bacterial biofilms in nature and disease. *Annu Rev Microbiol*. 1987; 41: 435-464.
22. Hamer AJ, Strachan JR, Black MM, Ibbotson CJ, Stockley I, Elson RA. Biomechanical properties of cortical allograft bone using a new method of bone strength measurement. A comparison of fresh, fresh-frozen and irradiated bone. *J Bone Joint Surg Br*. 1996; 78: 363-638.
23. Sommerville SM, Johnson N, Bryce SL, Journeaux SF, Morgan DA. Contamination of banked femoral head allograft: incidence, bacteriology and donor follow up. *Aust N Z J Surg*. 2000; 70 (7): 480-484.
24. Costain DJ, Crawford RW. Fresh-frozen vs. irradiated allograft bone in orthopaedic reconstructive surgery. *Injury*. 2009; 40 (12): 1260-1264.
25. NORMA Oficial Mexicana NOM-241-SSA1-2012, Buenas prácticas de fabricación para establecimientos dedicados a la fabricación de dispositivos médicos.
26. Mankin HJ, Hornicek FJ, Raskin KA. Infection in massive bone allografts. *Clin Orthop Relat Res*. 2005; 432: 210-216.
27. Schubert T, Bigaré E, Van Isacker T, Gigi J, Delloye C, Cornu O. Analysis of predisposing factors for contamination of bone and tendon allografts. *Cell Tissue Bank*. 2012; 13 (3): 421-429.
28. Forbes B, Sahm D, Weissfeld A. *Diagnóstico Microbiológico de Bailey & Scott*. 12 ed. Editorial Panamericana S.A. Argentina. 2009.
29. Viñuela-Prieto, JM, Soria-García, AM, González-Romero M, Candel FJ, Bacterial contamination rate and associated factors during bone and tendon allograft procurement from Spanish donors: exploring the contamination patterns. *Hosp Infect*. 2019; 102 (3): 287-294.
30. Nguyen H, Morgan DA, Forwood MR. Sterilization of allograft bone: effects of gamma irradiation on allograft biology and biomechanics. *Cell Tissue Bank*. 2007; 8 (2): 93-105.
31. Boyce T, Edwards J, Scarborough N. Allograft bone. The influence of processing on safety and performance. *Orthop Clin North Am*. 1999; 30 (4): 571-581.
32. Barrios RH, Leyes M, Amillo S, Oteiza C. Bacterial contamination of allografts. *Acta Orthop Belg*. 1994; 60 (3): 293-295.
33. Calvo R, Figueroa D, Díaz-Ledezma C, Vaisman A, Figueroa F. Bone allografts and the functions of bone banks. *Rev Med Chil*. 2011; 139 (5): 660-666.
34. Grieb TA, Forng RY, Stafford RE, Lin J, Almeida J, Bogdanský S, et al. Effective use of optimized, high dose (50 kGy) gamma irradiation for pathogen inactivation of human bone allografts. *Biomaterials*. 2005; 26: 2033-2042.

Conflicto de intereses

Ningún conflicto de intereses.