



# Validación de la determinación de óxido de etileno residual en dispositivos biomédicos

Ruiz de Arechavaleta Mariana, Rosso Adriana, Fraga Isabel.  
Centro de investigación y desarrollo sobre contaminantes orgánicos especiales (CISCOE) -  
Instituto Nacional de Tecnología Industrial, Parque Tecnológico Miguelete. Tel/Fax: 0054-11-4754-4066. E-mail: ciscoe@inti.gov.ar

## INTRODUCCION

El óxido de etileno es un gas a temperatura ambiente que se emplea como esterilizante en dispositivos biomédicos que no soportan, sin sufrir daño, las temperaturas elevadas impuestas por la esterilización por calor.

La determinación del óxido de etileno residual en el material esterilizado tiene interés toxicológico dado que es un compuesto perjudicial para la salud que es absorbido por los materiales poliméricos y por lo tanto puede llegar al paciente. Es por eso que las farmacopeas y/o las regulaciones fijan tolerancias para los residuos de óxido de etileno en el material esterilizado.

La Norma ISO 10993-7:1995 "Evaluación biológica de dispositivos médicos" en su parte 7 "Residuos de esterilización por óxido de etileno" establece metodologías alternativas.

## OBJETIVO

Demostrar que el procedimiento utilizado en el laboratorio es adecuado para la determinación de óxido de etileno residual en dispositivos biomédicos.

## RESULTADOS

### 1 Linealidad y Rango:

Capacidad (dentro de un rango dado) de producir resultados que son directamente proporcionales a la concentración (cantidad) de analito presente en la muestra.

La linealidad se expresa normalmente en términos de la varianza de los residuos (desvíos de los puntos medidos respecto de la pendiente), de la curva de regresión calculada de acuerdo con una relación matemática establecida a partir de los resultados obtenidos por análisis de soluciones con distintas concentraciones de analito.

El rango de un método analítico es el intervalo entre la concentración (cantidad) superior e inferior de analito en la muestra (incluyendo estas concentraciones) para el cual se ha demostrado que el procedimiento analítico tiene un adecuado grado de precisión, exactitud y linealidad.

#### Análisis:

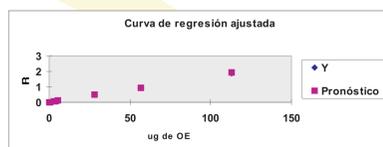
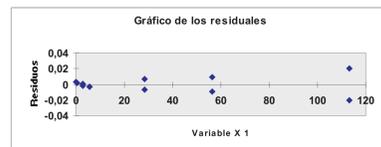
Se construyó la curva de calibración, preparada a partir de una solución de óxido de etileno de concentración 0.565 mg/ml. Los datos obtenidos a partir de la misma se muestran en la siguiente tabla:

| ul solución OE | ug de OE | Area OE | Area OP | Relación de áreas (OE/OP) |
|----------------|----------|---------|---------|---------------------------|
| 0              | 0        | 190     | 56882   | 0.003340248               |
| 1              | 0.565    | 630     | 54659   | 0.011526007               |
| 5              | 2.826    | 2582    | 55968   | 0.046133505               |
| 10             | 5.653    | 5244    | 56571   | 0.092697672               |
| 50             | 28.26    | 27547   | 57596   | 0.048180429               |
| 100            | 56.53    | 54417   | 58400   | 0.949606164               |
| 200            | 113.05   | 106669  | 55021   | 1.938696134               |
| 200            | 113.05   | 110413  | 58163   | 1.898337431               |

#### Resumen

| Estadísticas de la regresión                 |             |
|--|-------------|
| Coefficiente de correlación múltiple         | 0.999904688 |
| Coefficiente de determinación R <sup>2</sup> | 0.999809385 |
| R <sup>2</sup> ajustado                      | 0.999792057 |
| Error típico                                 | 0.010104842 |
| Observaciones                                | 13          |

|              | Coefficientes | Error típico | Estadístico t | Probabilidad | Inferior 95% | Superior 95% |
|--------------|---------------|--------------|---------------|--------------|--------------|--------------|
| Intersección | 1.46845E-05   | 0.003993065  | 0.004086904   | 0.996812309  | -0.007893803 | 0.007922972  |
| Variable X 1 | 0.016936341   | 7.06419E-05  | 240.2021447   | 8.1711E-22   | 0.016812862  | 0.017123826  |



Se evaluaron los residuos de la curva de calibración y se concluye que el sistema es lineal entre 0 y 200 ug/ml de óxido de etileno en solución, esto representa en la muestra un rango de óxido de etileno entre 0 y 200 ug/g.

### 2 Límite de cuantificación: Mínima cantidad de analito en una muestra que puede ser determinada cuantitativamente con una adecuada incertidumbre.

**Análisis:** Se consideró como límite de cuantificación el menor punto de la curva de calibración (0.1 ug/ml de solución). Para la determinación se realizó, por sextuplicado, un agregado de 1 ul (0.565 ug) de la solución de óxido de etileno de concentración 0.565 mg/ml a 5 ml de isopropanol.

En la tabla siguiente se muestran los datos y resultados obtenidos:

| ug de óxido de etileno agreg. | Area de óxido de etileno | Area de óxido de propileno | Relación de áreas (OE/OP) | ug de OE calculados |
|-------------------------------|--------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------|
| 0.565                         | 690                      | 57394                      | 0.012022163               | 0.7076              |
| 0.565                         | 732                      | 58760                      | 0.012457454               | 0.7333              |
| 0.565                         | 702                      | 56772                      | 0.012365250               | 0.7279              |
| 0.565                         | 661                      | 58427                      | 0.011313263               | 0.6659              |
| 0.565                         | 671                      | 55164                      | 0.012163730               | 0.7160              |
| 0.565                         | 690                      | 58343                      | 0.011826612               | 0.6961              |
| Promedio                      |                          |                            |                           | 0.7078              |
| Desv. Est.                    |                          |                            |                           | 0.024552148         |
| CV (%)                        |                          |                            |                           | 3.468797483         |

## CONCLUSION

En base a los estudios realizados anteriormente se concluye que la metodología utilizada para el análisis del óxido de etileno es adecuada en concentraciones entre 0 y 200 ppm.

## BIBLIOGRAFIA

- Multiple Headspace extraction-A procedure for eliminating the influence of the sample matrix in quantitative Headspace Gas Chromatography - B. Kolb
- Norma ISO 10993-7:1995 "Evaluación biológica de dispositivos médicos", parte 7 "Residuos de esterilización por óxido de etileno"

## MATERIALES Y METODOS

Para la cuantificación del óxido de etileno (OE) se establecieron las condiciones óptimas en cuanto a variables cromatográficas y el empleo de un estándar interno, óxido de propileno (OP). La muestra a ser analizada se pesa en un vial y el gas esterilizante se extrae con 5 ml de isopropanol durante 3 horas con agitación térmica.

Posteriormente, se analiza el espacio de cabeza de las soluciones por cromatografía gaseosa con detector de ionización de llama. La cuantificación se realiza mediante una curva de calibración considerando la relación de áreas entre el OE y el OP.

Equipos: Se utilizó un cromatógrafo Hewlett-Packard modelo 5890 Serie II, con detector de ionización de llama; un muestreador de Head-Space Hewlett-Packard modelo 7694.

Reactivos: Oxido de etileno, pureza >99.5%; Oxido de propileno, pureza >99.5%; Isopropanol, p.a.

Materiales: Viales tipo penicilina de 10 ml, septas y precintos de aluminio; jeringas Hamylton de 10 y 250 ul.

### 3 Repetibilidad:

Grado de dispersión ("grado de coincidencia") entre una serie de resultados obtenidos a partir de múltiples muestreos de una misma muestra homogénea bajo las condiciones prescriptas.

Es normalmente expresada como la desviación estándar o la desviación estándar relativa.

#### Análisis:

En este caso se realizó para el análisis un agregado, por sextuplicado, de 10 ul de la solución de óxido de etileno de concentración 0.565 mg/ml a 5 ml de isopropanol. Los datos y resultados obtenidos se observan en la siguiente tabla:

| ug de óxido de etileno agreg. | Area de óxido de etileno | Area de óxido de propileno | Relación de áreas (OE/OP) | ug de OE calculados |
|-------------------------------|--------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------|
| 5.653                         | 5049                     | 56350                      | 0.089600710               | 5.2796              |
| 5.653                         | 5249                     | 57894                      | 0.090665699               | 5.3424              |
| 5.653                         | 5104                     | 54856                      | 0.093043605               | 5.4825              |
| 5.653                         | 5356                     | 59771                      | 0.089608673               | 5.2801              |
| 5.653                         | 5156                     | 56239                      | 0.091680151               | 5.4021              |
| 5.653                         | 5224                     | 58214                      | 0.089737864               | 5.2877              |
| Promedio                      |                          |                            |                           | 5.3457              |
| Desv. Est.                    |                          |                            |                           | 0.08239254          |
| CV (%)                        |                          |                            |                           | 1.54127666          |

El rango obtenido entre los valores de los replicados obtenido fue de:

(5.4825-5.2796) ug/ 0,5 g = 0.4058 ug/g

### 4 Error sistemático:

Se estudió la coincidencia entre los valores hallados y el valor teórico agregado:

|         | Valor teórico agregado ( g ) | Promedio de mediciones ( g ) | Desv. Est.  | t hallado |
|---------|------------------------------|------------------------------|-------------|-----------|
| 1 nivel | 0.565                        | 0.707792153                  | 0.024554298 | 14.2      |
| 3 nivel | 5.653                        | 5.345724907                  | 0.082407096 | 9.1       |

Se concluye, mediante un estudio con test de hipótesis (t=2.57; n-1=5 y nivel de confianza 95%), que la diferencia entre el promedio de las mediciones y el valor teórico agregado es significativa y por lo tanto contribuye a la incertidumbre global del método.

### 5 Recuperación:

Permite estudiar si el método es capaz de determinar la totalidad del analito presente en la muestra.

#### Análisis:

Para el estudio de la recuperación se analizó una muestra de tubuladura esterilizada con óxido de etileno en dos sets por cuadruplicado, donde a uno de ellos se le hizo un agregado de 5 ul de una solución de óxido de etileno de concentración 0.565 mg/ml.

Los resultados obtenidos para cada uno de los dos sets se muestran en la siguiente tabla:

|                      | Area de óxido de etileno | Area de óxido de propileno | Rel.de áreas (OE/OP) | Masa muestra (g) | ug de OE calculados |
|----------------------|--------------------------|----------------------------|----------------------|------------------|---------------------|
| Muestra con agregado | 14325                    | 55963                      | 0.255972696          | 0.4969           | 15.084442639        |
|                      | 14641                    | 56064                      | 0.261147974          | 0.5240           | 15.389438666        |
|                      | 14609                    | 55126                      | 0.265011066          | 0.5194           | 15.617103299        |
|                      | 14992                    | 56584                      | 0.264951223          | 0.5234           | 15.613576579        |
| Muestra sin agregado | 11468                    | 53784                      | 0.213223263          | 0.5140           | 12.565078768        |
|                      | 11533                    | 56247                      | 0.205042047          | 0.4987           | 12.082932912        |
|                      | 11151                    | 52497                      | 0.212412138          | 0.5088           | 12.517276485        |
|                      | 11682                    | 54416                      | 0.214679506          | 0.4975           | 12.650899907        |

Los cálculos de recuperación dieron los siguientes resultados

|              | 101.525     |
|--------------|-------------|
| Promedio (%) | 101.525     |
| Desv. Est.   | 5.779489597 |
| C.V.         | 5.692676284 |

Se concluye que la recuperación para niveles de óxido de etileno de 15 ug es satisfactoria.

### 6 Comparación con resultados obtenidos por el método de Kolb (HS-Extracciones múltiples):

Este método es una simplificación del método de extracciones múltiples en el cual sólo se realizan 2 extracciones del analito con un gas calentando la muestra en un frasco de forma tal que se produzca la desorción del compuesto del material y llegue al equilibrio.

Los resultados obtenidos para una misma muestra por los dos métodos se muestran en la siguiente tabla:

|           | Curva de calibración ( g/g ) | Método de Kolb ( g/g ) |
|-----------|------------------------------|------------------------|
| Muestra 1 | 1.1 0.1                      | 0.6 0.1                |
| Muestra 2 | 3.2 0.2                      | 2.1 0.2                |

De los resultados obtenidos se concluye que el método de extracción con isopropanol es más eficiente que el método de extracciones múltiples lo que induce a pensar que el óxido de etileno puede quedar retenido en el material por un mecanismo distinto del de adsorción.