

TRATAMIENTO DE RESIDUOS PATOLÓGICOS POR RADIACIÓN GAMMA

Giubergia J., Lombardi R., Fernández M. C. *, Valdivia Aguilar P. *, Docters A. **

Facultad de Ingeniería. U.B.A. (FIUBA)
* Instituto Nacional de Medicamentos (INAME)
** Planta de Irradiación, Centro Atómico Ezeiza
e-mail: rlombar@aleph.fi.uba.ar

Presentamos primeros resultados de ensayos de radiación, con fuente de ^{60}Co , sobre colonias de microorganismos, tendientes a establecer las dosis mínimas necesarias de inactivación para cada especie microbiológica, en el marco de un trabajo más general de tratamiento de residuos patológicos por radiación gamma.

Los resultados obtenidos provienen de ensayos en los cuales se prepararon soportes, tipo apósitos de gasa, con carga bacteriana conocida (preparadas en la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología), y se irradiaron a dosis crecientes -a partir de 50 greys- en la Planta de Irradiación del Centro Atómico Ezeiza, para medir la sobrevida luego de la exposición.

In a general framework of gamma radiation on pathological samples, micro-organism were irradiated by cobalt source, with the purposes to stables minimum doses to irradiation.

Biological samples were prepared in National Institute of Medicaments (INAME), and irradiated by doses from 50 greys to 25000 greys at Irradiation Plant of Ezeiza Atomic Centre to measure post-irradiation outlive.

I. Introducción

Por Residuos Patológicos debe entenderse todo residuo, elemento material en estado sólido, semisólido, líquido o gaseoso que presenta características de toxicidad y actividad biológica que puedan afectar directa o indirectamente a los seres vivos y causar contaminación del suelo, el agua o la atmósfera. Datos estadísticos ^[1] señalan la generación de 100 tn /día residuos patológicos en el área metropolitana (ciudad de Buenos Aires y el Gran Buenos Aires). Dada la escasa innovación de los métodos en uso, la propuesta es estudiar la utilización de radiación para el tratamiento de este tipo de residuos.

Los métodos habituales para el tratamiento de residuos patológicos, empleados en el país y en el exterior, consisten en incinerar los residuos, previo o no, tratamiento químico. Múltiples reclamos de organismos ecologistas ^[2] y de preservación del medio ambiente, señalan contaminación de suelos y aire por los gases de combustión, y agotamiento de fuentes de agua dulce por tratamientos químicos. La irradiación de residuos ofrece un método alternativo que no contamina el aire; a pesar del alto costo inicial es de bajo mantenimiento, y reduce, sustantivamente, la cantidad de agua dulce usada en lavados químicos.

II. Objetivo

Explorar la relación cuantitativa entre la reducción de la población microbiana y la dosis de radiación gamma, para distintas bacterias y hongos, con el propósito de determinar la dosis mínima de radiación para la inactivación de los microorganismos, y la curva de comparación de sobrevivientes -en distintas especies- vs. la dosis (sensibilidad a la radiación).

III. Métodos

Se ensayaron las cepas de microorganismos recomendadas por el C.E.A.M.S.E. (Coordinadora Ecológica Ambiental Metropolitana Sociedad del Estado) ^[3] de manera de establecer la dosis necesaria a aplicar de manera de cumplir con la norma vigente y que a la vez resulte económicamente conveniente.

Estandarización del Inóculo

Empleando el tubo N° 1 de la escala de Mac Farlan (10^8 UFC/ml) como referencia obtener una turbidez semejante a la del patrón en la suspensión de microorganismos partiendo de un cultivo de 24 horas. Realizar un recuento en profundidad por volcado para verificar el orden de magnitud deseado de la carga bacteriana.

Contaminación de muestras

Sembrar 1 ml del inóculo utilizando como soporte gasas estériles, una por cada dosis de radiación a ensayar, y una para utilizar como control de tiempo cero. Disponer las gasas contaminadas en bolsas estériles y enviarlas para irradiar.

Recuento en profundidad por volcado

En 9 ml de agua peptonada 0.1 % (peso en volumen peptona de caseína) suspender la gasa luego de la irradiación y agitarlo durante 15 minutos (permite que se liberen los microorganismos presentes en el soporte al medio) luego realizar diluciones sucesivas.

De cada una de las diluciones obtenidas tomar una alícuota de 1 ml y volcarla en el fondo de una placa de Petri, agregar TSA fundido (Agar de Tripton de Soja) como medio de cultivo y realizar un duplicado de cada una de las diluciones. El TSA contiene Cloruro Trifenil de tetrazonio. Se lleva a estufa y se incuba durante 48 horas a 37 °C.

Se realiza el recuento en aquellas placas que permitan contar entre 30 y 300 colonias y se estima la carga bacteriana (concentración) de la muestra mediante la fórmula:

$$\left[\frac{UFC}{Gasa} \right] = Prom \left[\frac{UFC}{Placa} \right] * \frac{1}{Dilución} * \frac{1}{Vol. inóculo} \left[\frac{1}{ml} \right]$$

donde:

Prom es el promedio de las colonias contadas para cada dilución entre ambas placas.

IV. Resultados

Los ensayos de irradiación con fuente gamma de ⁶⁰Co de la Planta de Irradiación del CAE, fueron practicados sobre tres tipos de microorganismos: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y esporas de *Bacillus subtilis*. Las dosis empleadas en los ensayos preliminares fueron desde 50 greys hasta un límite superior de 25000 greys en el cual no se observó desarrollo de colonias de sobrevivientes. Radiaciones posteriores, a dosis menores, permitieron desarrollo de colonias. En las figs. 1, y 2, se utilizó la unidad [UFC/Gasa] (Unidad Formadora de Colonias por Gasa), para designar al producto del número de microorganismos crecidos por la inversa de la dilución, provenientes de 1 ml de inóculo.

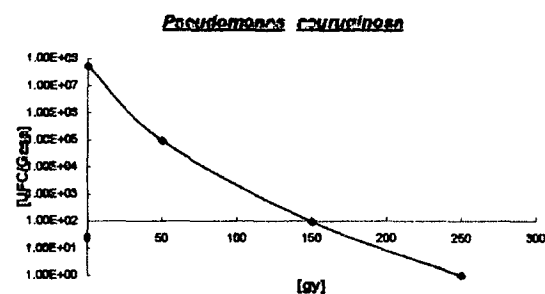


Figura 1: Cantidad de Unidades Formadoras de Colonias de *Pseudomonas aeruginosa* en función de la dosis de radiación recibida.

En las figs. 1 y 2 se ve la reducción en el número de colonias de *P. Aeruginosa* y *S. Aureus* en unidades UFC/Gasa vs. dosis (greys [gy]). Los ensayos fueron realizados a dosis de 50, 150 y 250 y 2500 greys. Dosis de 150 greys permitieron reducir en seis ordenes logarítmicos (6 log₁₀) el número de sobrevivientes de *P. Aeruginosa*, tal como aconseja el C.E.A.M.S.E. [3] para alcanzar el Nivel IV de inactivación microbiológica. En tanto, a la dosis de 1400 greys se llegó a la inactivación nivel IV, requerida para estos ensayos, para el microorganismo *S. Aureus*.

Para las esporas del *B. subtilis*, el nivel de inactivación requerido no fue alcanzado hasta dosis de 1200 greys.

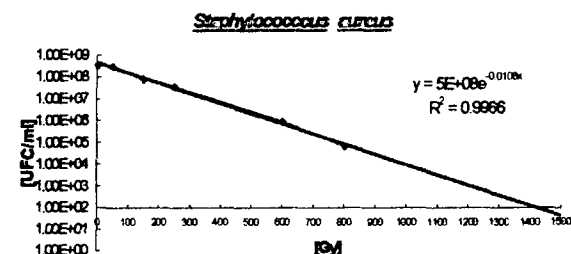


Figura 2: Cantidad de Unidades Formadoras de Colonias de *Staphylococcus aureus* en función de la dosis de radiación recibida.

V. Conclusiones

La bibliografía [4] señala algunos microorganismos más sensibles a la radiación. Por esta razón se ensayó con *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. Los resultados indican menores dosis para inactivar (a nivel IV) a las bacterias *P. aeruginosa* que los requeridos por *S. aureus*. La fig. 1 muestra el límite inferior, 150 greys, de inactivación para las primeras mencionadas, en tanto se ve en la fig. 2 que esa dosis no alcanza a inactivar, según normas, a la segunda especie. Por idéntico razonamiento podría decirse que las esporas de *B. subtilis*, son mucho más resistentes a la radiación que las formas vegetativas, confirmando que las dosis necesarias para inactivación general de los microorganismos, debe superar las dosis máximas alcanzadas para inactivar bacterias u hongos, el piso de radiación sería la dosis necesaria para inactivar esporas.

A fin de contar con una medida de la radiosensibilidad de cada uno de los microorganismos, se propuso encontrar una constante de decaimiento. Estos primeros ensayos, permitieron valores tentativos de la constante de radiosensibilidad. Así, tomando la pendiente para la curva de la fig. 1 se tiene, para la *P. aeruginosa* $k = 0.03 \text{ gy}^{-1}$, valor que coincide con la dosis de 150 gy para la inactivación nivel IV, y para el *S. aureus* $k = 0,0108 \text{ gy}^{-1}$, para la curva 2.

La ecuación propuesta es:

$$\log \frac{N}{N_0} = -kD$$

donde:

N_0 es la carga inicial.

N es el número de sobrevivientes.

D es la dosis necesaria para reducir los sobrevivientes a un ciclo logarítmico, a partir de N_0 .

k es la constante de decaimiento de la especie.

Puesto a punto el método, sucesivas irradiaciones permitirán ensayar con bacterias más resistentes a la radiación, a fin de establecer el mínimo necesario experimental que de cuenta de la inocuidad de los residuos posterior a la irradiación. Sin embargo, nuestros ensayos dan idea de dosis máximas para inactivar a nivel

IV - del orden de 25 kgreys - con lo que un método de tratamiento de residuos patológicos alternativo a los actuales, y de menor impacto ambiental, se presenta como posible.

Bibliografía:

[1] Kopytynski, Witold R. "Residuos hospitalarios: cómo preservar el medio ambiente".
<http://www.customw.com/ecoweb/notas/notas/970906.htm>
m. Buenos Aires, Argentina. 06 / 09 / 1997

[2] Nallino, Jorge. "Lucha contra el horno incinerador".
<http://www.customw.com/ecoweb/notas/ongs/980722.htm>
Buenos Aires, Argentina. 22 / 07 / 1998.

[3] Brion, Jorge. "Manejo de los Residuos Patogénicos".
C.E.A.M.S.E. Buenos Aires, Argentina. 1998.

[4] "Manual of Radiation Sterilization of Medical and Biological Materials". Technical Reports Series Nº 149.
O.I.E.A. Viena. 1973.

CEILAP
CITEFA CONICET
ZUFRIATEQUI Y VARELA
1603 VILLA MARTELLI
REPUBLICA ARGENTINA