

Esterilización, estabilización y estudio del carácter antimicrobiano del Tisuacryl

Yolma González Rodríguez, Rosa Mayelín Guerra Bretaña, Ivette Durán Ramos y Enrique Prieto.*

Centro de Biomateriales, Universidad de la Habana, Avenida Universidad entre Calles Ronda y G, El Vedado, Ciudad de La Habana. Correo electrónico: liampa@biomat.uh.cu. *Centro de Estudios Aplicados al Desarrollo de la Energía Nuclear, Calle 5ta esquina a Calle 30, Miramar, Ciudad de La Habana, Cuba.

Recibido: 14 de mayo de 2003. Aceptado: 9 de febrero de 2004.

Palabras clave: adhesivos tisulares, cianoacrilatos, esterilización, radiaciones gamma.
Key words: tissue adhesives, cyanoacrylates, sterilization, gamma radiations.

RESUMEN. Actualmente, los adhesivos basados en los ésteres cianoacrílicos se utilizan ampliamente en cirugía y otras especialidades médicas, debido a sus cualidades excepcionales en cuanto a la rapidez de polimerización en contacto con los fluidos biológicos y su elevado poder adhesivo. El Tisuacryl, es un adhesivo tisular de 2-cianoacrilato de n-butilo, el cual ha sido registrado para uso en heridas cutáneas, tanto quirúrgicas como traumáticas y para Estomatología. En estas aplicaciones el producto ha demostrado ser eficaz y seguro en su presentación actual, la cual no incluye ningún método de esterilización en su procesamiento. Sin embargo, para las aplicaciones de mayor riesgo (Clases IIb y III), es necesario presentar el producto estéril. La gran reactividad de los cianoacrilatos hace muy compleja su esterilización, existiendo una estrecha relación entre el contenido de inhibidores de la polimerización y la estabilidad del producto durante el proceso de esterilización y el almacenamiento posterior. También, existen evidencias sobre el poder bacteriostático de los cianoacrilatos, fundamentalmente frente a bacterias *Gram +*. Este trabajo se planteó como objetivos fundamentales analizar las propiedades antimicrobianas de tres composiciones adhesivas y obtener un adhesivo de cianoacrilato esterilizable y más estable a temperatura ambiente. Se estudió la influencia del contenido (0,1 a 0,5 %) del inhibidor radicalico (hidroquinona) en el almacenamiento del producto a temperatura ambiente y en sus propiedades luego de ser sometido a esterilización por radiaciones gamma (25 kGy). Para evaluar la estabilidad del adhesivo, antes y después de irradiado, se sometió a un ensayo de estabilidad acelerado (a 70 °C) y a otro estudio de estabilidad en estante a temperatura ambiente (45 d a 27 a 33 °C). Como resultados del estudio realizado se observó que los adhesivos basados en 2-cianoacrilato de n-butilo inhiben el crecimiento de bacterias *Gram +* y *Candida albicans* y no de bacterias *Gram -*, lo cual es independiente del colorante utilizado en la composición final. Es posible utilizar el método de esterilización por radiaciones ionizantes para el adhesivo Tisuacryl, siempre que se utilicen concentraciones adecuadas de hidroquinona como inhibidor radicalico (0,5 %), para mantener la estabilidad posterior del producto al menos por 18 meses a temperaturas menores de 5°C.

. Sin embargo, para el Tisuacryl no estéril, un contenido de hidroquinona de 0,1 % es suficiente para mantener la estabilidad al almacenamiento a temperatura ambiente del producto por 45 d.

ABSTRACT. Nowadays, cyanoacrylates adhesives are used in surgery and other medical specialties, due to their exceptional properties concerning their ease to polymerize in contact with biological fluids and its high adhesive power. Tisuacryl, is a tissue adhesives based on n-butyl- 2-cyanoacrylate, which has been registered for the treatment of surgical or traumatic cutaneous and oral wounds. In these applications, Tisuacryl has demonstrated its effectiveness and safety without sterilization. However, for more risky applications (Classes IIb and III), the sterilized product is required. The sterilization of Tisuacryl is specially difficult, as cyanoacrylate adhesives are very reactive and may polymerize during the sterilization processes. An association exists between the concentration of the inhibitor of poly-

merization and the adhesive stability during the sterilization process and storage. Also, some authors have proved the bacteriostatic activity of cyanoacrylates in front of *Gram* positives bacteria. The aim of this work is the study of the antimicrobial properties of three adhesive compositions and to obtain a sterile and more stable cyanoacrylate-based adhesive at room temperature. The influence of a radicalic inhibitor (hydroquinone) content (0.1 to 0.5 %) on the stability during storage at room temperature and sterilization by Gamma radiation (25 kGy) was studied. Accelerated (at 70 °C) and normal (45 d at 27 to 33 °C) stability studies were done with the irradiated and non-irradiated Tisuacryl. It was observed that the adhesives based on n-butyl-2-cyanoacrylates inhibit the growth of *Gram +* bacterias and *Candida albicans* and not of *Gram -* bacterias, no matter the colorant used in the composition. Ionizing radiation can be used for sterilization of Tisuacryl, whenever an appropriate concentration of radicalic inhibitor (0.50 %) is added, to maintain the stability of the product. Hydroquinone concentration of 0.1 % are enough to preserve the nonsterilized adhesive stored at room temperature during 45 d.

INTRODUCCION

Actualmente, los adhesivos se han convertido en materiales ampliamente utilizados en cirugía y otras especialidades médicas.¹⁻² Entre los adhesivos de mayor uso en la práctica médica se encuentran los ésteres cianoacrílicos, los cuales presentan cualidades excepcionales en cuanto a la rapidez de polimerización en contacto con los fluidos bio-

lógicos y su elevado poder adhesivo. Ellos están siendo utilizados como sustitutos o complementarios de la sutura convencional en una gran cantidad de aplicaciones quirúrgicas y como protectores de las mucosas o la piel dañada, en otras.³⁻⁸

El Tisuacryl, es un adhesivo tisular desarrollado en el Centro de Biomateriales de la Universidad de la Habana, cuyo componente mayoritario es el 2-cianoacrilato de n-butilo. Este producto ha sido registrado para su uso en heridas cutáneas, tanto quirúrgicas como traumáticas y para las aplicaciones estomatológicas, lo que clasifica al producto en la Clase IIa en cuanto al riesgo. En estas aplicaciones, el producto se utiliza sin una esterilización previa, teniendo en cuenta las propiedades bacteriostáticas y bactericidas que han sido reportadas para los cianoacrilatos, fundamentalmente, frente a organismos Gram +, si bien, se han encontrado estas propiedades también, para algunos organismos Gram -.^{9,10} Basándose también en estas propiedades de los cianoacrilatos, se ha propuesto la reutilización de la unidad de envase primario de los adhesivos en varios pacientes, aduciendo que el producto se mantiene estéril aún después de abierto y utilizado el envase.¹¹⁻¹⁴ Además, el Tisuacryl ha sido utilizado sin previa esterilización en varios cientos de pacientes, sin que se hayan reportado casos de infección.^{15,16} Sin embargo, para otras aplicaciones de mayor riesgo (Clases IIb y III) es necesario presentar el producto estéril, lo que incluye tanto la esterilización del adhesivo como de la ampollita y su preservación en un contenedor hermético, aspectos actualmente en desarrollo para el Tisuacryl.

Si bien la mayor parte de los adhesivos tisulares de cianoacrilato que se comercializan se deben conservar en frío, actualmente, algunos fabricantes proclaman la posibilidad de almacenar sus productos a temperatura ambiente. Con la variante actual del Tisuacryl, se garantiza la estabilidad durante el almacenamiento por dos años a temperaturas menores de 5 °C y por un mes a temperatura ambiente, por lo que para aumentar la competitividad del producto, es necesario modificar su composición con vistas a aumentar la estabilidad al almacenamiento a temperatura ambiente.

Los cianoacrilatos son compuestos muy reactivos que polimerizan tanto por vía aniónica como radica-

lica. Es por ello que, en las formulaciones se introducen sustancias inhibidoras de la polimerización para incrementar la estabilidad durante el proceso de esterilización y el almacenamiento.¹⁷⁻¹⁸ El inhibidor aniónico puede ser una sustancia ácida soluble en el monómero. Con este fin, se han empleado gases ácidos solubles como el dióxido y el trióxido de azufre, óxido nítrico, fluoruro de hidrógeno y otros; también se han utilizado sulfonas orgánicas, ácidos sulfónicos orgánicos con un valor de pKa menor de 2. Los inhibidores radicálicos más utilizados son de tipo fenólico como la hidroquinona, el catecol, el hidroxianisol butilado (BHA) y el 4-metil-2,6-diter-butilfenol (BHT), entre otros.

La gran reactividad de los cianoacrilatos hace muy compleja su esterilización por métodos tales como: el calor seco, calor húmedo, óxido de etileno, radiaciones ionizantes, filtración a través de membranas, etc. Es de señalar que, el contenido y el tipo de inhibidores presentes en el adhesivo puede influir en su esterilizabilidad por los diferentes métodos posibles. Otra opción para obtener un producto estéril es su envasado aséptico, una vez obtenido en condiciones asépticas también. Si bien el cianoacrilato obtenido en condiciones de elevada temperatura, podría fabricarse como un producto estéril, la adición de otras sustancias (como los inhibidores y colorantes) al producto después de su obtención introducirían fuentes de contaminación, lo que hace poco factible este procedimiento. Todos estos métodos tienen sus posibilidades y sus desventajas que deben ser estudiadas y sopesadas debidamente. Además, existe una estrecha relación entre el método de esterilización a utilizar y la estabilidad del producto durante este proceso y durante el almacenamiento posterior.

Para verificar la esterilidad de los productos existen dos métodos descritos,²⁰ el método directo y el de filtración por membranas. Si bien algunos autores describen la verificación de la esterilidad de los cianoacrilatos por el método directo,^{9,10} posiblemente este no sea el método más apropiado teniendo en cuenta las propiedades bacteriostáticas del producto. La experiencia obtenida con el Tisuacryl no esterilizado, demuestra que el producto siempre ha resultado "estéril" al verificar su esterilidad por el método directo. Por otra parte, el método de filtración por membrana, que resulta muy útil para líquidos

y sólidos solubles con propiedades antimicrobianas, involucra el lavado de los microorganismos retenidos en la membrana lo que, en el caso de los cianoacrilatos, resulta muy difícil, ya que estos productos solo son solubles en disolventes orgánicos, como la acetona, que resultan tóxicos a los microorganismos. Teniendo en cuenta estos aspectos, es que se hace tan importante estudiar las características antimicrobianas del Tisuacryl y los posibles métodos para su esterilización que puedan ser debidamente validados sin recurrir a la evaluación de la esterilidad del producto final. Para ello, se llevó a cabo un conjunto de trabajos experimentales con el objetivo de estudiar las características antimicrobianas del 2-cianoacrilato de n-butilo, coloreado con violeta de genciana, con fluoresceína y sin colorear; la influencia de la esterilización con radiaciones ionizantes en la viscosidad del producto Tisuacryl con diferentes concentraciones del inhibidor radicálico, así como la estabilidad acelerada y en estante de las muestras de Tisuacryl irradiadas y sin irradiar con diferentes concentraciones del inhibidor radicálico.

MATERIALES Y METODOS

Materiales

Se emplearon las composiciones adhesivas siguientes: 2-cianoacrilato de n-butilo coloreado con violeta genciana (Tisuacryl), 2-cianoacrilato de n-butilo coloreado con fluoresceína y 2 cianoacrilato de n-butilo sin colorear (Centro de Biomateriales de la Universidad de la Habana).

Los adhesivos estudiados fueron estabilizados con 0,2 % de ácido p-toluensulfónico (inhibidor aniónico) e hidroquinona (inhibidor radicálico) en diferentes concentraciones: 0,1; 0,25 y 0,5 %.

Cepas y medios de cultivo

Fueron utilizadas cepas "American Type Culture Collections" (ATCC) y cepas de origen clínico aisladas en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Universitario Clínico Quirúrgico "General Calixto García" (Tabla 1).

Estudio del carácter antimicrobiano

Para analizar el efecto bacteriostático de las tres composiciones adhesivas se realizaron algunas modificaciones del método de difusión en disco para la valoración microbiana de antibióticos (método Kirby-Bauer).²¹ Los diferentes mi-

croorganismos se sembraron en forma de sábana en cada medio de cultivo, según su requerimiento energético, se inoculó una gota de cada adhesivo en las placas y se incubaron durante 24 h a 37 °C. Para evaluar el efecto bacteriostático, se midió el halo de inhibición alrededor del punto de aplicación del adhesivo.

Método de esterilización

El Tisuacryl con diferentes concentraciones de hidroquinona (0,1; 0,25 y 0,5 %) fue envasado en ampollitas de vidrio de 2,5 mL c/u y de

polipropileno isotáctico de 0,2 mL c/u. Se tomaron tres ampollitas de vidrio y 60 de polímero de cada concentración y se sometieron al proceso de irradiación Gamma con una fuente de Co⁶⁰ y una dosis de 25 kGy. Se midió la viscosidad del adhesivo antes y después de irradiado.

Estudio de estabilidad acelerado

Tres ampollitas de vidrio de cada concentración de hidroquinona de las muestras irradiadas y sin irradiar, fueron colocadas en un baño de agua a 70 °C y se verificó diariamente la

gelificación (endurecimiento) del producto.

Estudio de estabilidad en estante

El estudio de estabilidad en estante de las muestras irradiadas y sin irradiar fue realizado con el Tisuacryl con diferentes concentraciones de hidroquinona (0,1; 0,25 y 0,5 %), envasado en las ampollitas de polímero. Se midió la viscosidad del adhesivo antes y después de almacenado por 45 d a temperatura ambiente.

Medición de la viscosidad

Se determinó la viscosidad de los adhesivos midiendo los tiempos de caída de las muestras y de un líquido de viscosidad conocida (H₂O) a la misma temperatura (26 °C) en un viscosímetro de Ostwald, usando los mismos volúmenes en cada medición (2 mL).

RESULTADOS Y DISCUSION

Estudio del carácter antimicrobiano

Al estudiar el carácter antimicrobiano de los adhesivos (Tabla 2) se observó que, tanto los adhesivos coloreados como el 2-cianoacrilato de n-butilo (CAB) sin colorear, presentan marcado efecto bacteriostático. Esto indica que el colorante violeta genciana no es el que confiere las propiedades bacteriostáticas al Tisuacryl. Por otra parte, se observa que existe inhibición de crecimiento solo para las bacterias Gram + y *Candida albicans* y no para las Gram – estudiadas.

Analizando las posibles causas de la inhibición del crecimiento microbiano se puede señalar, en primer lugar, que el cianoacrilato al hacer contacto con los medios de cultivo (geles con un elevado contenido de agua) polimeriza, creando una capa sólida que impide el crecimiento de los microorganismos. Por otra parte, algunos autores plantean una posible reacción entre el doble enlace activo presente en la molécula del cianoacrilato y los grupos amino e hidroxilo libres en la membrana celular de las bacterias,¹⁰ lo cual sólo es posible que ocurra en bacterias Gram + por la ausencia de la capa lipopolisacáridica (LPS). También se ha reportado la citotoxicidad *in vitro* de los cianoacrilatos tanto en los ensayos de contacto directo, como en los extractos obtenidos del material polimérico en medio acuoso.²²⁻²⁵ Estos efectos son más marcados cuando los cianoacrilatos y las células son colocados simultáneamente en la placa de cultivo.²² Si bien los meca-

Tabla 1. Cepas y medios de cultivo empleados.

No.	Cepas	Gram	Clasificación	Medio
1	<i>Streptococcus β hemolítico</i>	+	Origen clínico	AS, MH
2	<i>Streptococcus α hemolítico</i>	+	Origen clínico	AS, MH
3	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	Origen clínico	AS, MH
4	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	ATCC 6538	AN
5	<i>Bacillus subtilis</i>	+	ATCC 6633	AN
6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	Origen clínico	MH
7	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	ATCC 27853	MH
8	<i>Escherichia coli</i>	-	Origen clínico	MH
9	<i>Escherichia coli</i>	-	ATCC 10536	MH
10	<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	Origen clínico	MH
11	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	Origen clínico	MH
12	<i>Neisseria catarrhae</i>	+	Origen clínico	MH
13	<i>Candida albicans</i>	levadura	Origen clínico	SG
14	<i>Candida albicans</i>	levadura	ATCC 10231	SG

Tabla 2. Inhibición del crecimiento bacteriano con los adhesivos de 2-cianoacrilato de n-butilo.

Cepas	Clasificación	Halos de inhibición (cm)		
		Coloreado		Sin colorear
		Con violeta genciana	Con fluoresceína	
1. <i>Streptococcus β hemolítico</i>	Gram +	+3,0	+3,0	2,0
2. <i>Streptococcus α hemolítico</i>	Gram +	+3,0	+3,0	2,5
3. <i>Staphylococcus aureus</i>	Gram +	+3,0	+3,0	2,5
4. <i>Staphylococcus aureus</i>	Gram +	+3,0	+3,0	+3,0
5. <i>Bacillus subtilis</i>	Gram +	+2,0	+2,0	1,6
6. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram -	0	0	0
7. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram -	0	0	0
8. <i>Escherichia coli</i>	Gram -	0	0	0
9. <i>Escherichia coli</i>	Gram -	0	0	0
10. <i>Enterobacter aerogenes</i>	Gram -	0	0	0
11. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Gram -	0	0	0
12. <i>Neisseria catarrhae</i>	Gram +	+2,0	+2,0	+2,0
13. <i>Candida albicans</i>	levadura	+2,0	+2,0	+2,0
14. <i>Candida albicans</i>	levadura	+2,0	+2,0	+2,0

nismos por los cuales los cianoacrilatos afectan a las células no están claros aún, se plantea como posible hipótesis el daño a los lípidos de las membranas celulares²⁴ que impide la adhesión de las células a la placa. Tanto los compuestos con grupos ciano, como el formaldehído que puede generarse de la degradación de los cianoacrilatos, se conoce que pueden ser tóxicos a las células.

Todos estos aspectos influyen en el carácter bacteriostático de los cianoacrilatos, si bien estos productos no pueden ser considerados "auto-estériles", ya que esta propiedad no se manifiesta por igual para todos los microorganismos. De hecho, algunos autores reportan una rápida adherencia y colonización del policianoacrilato de n-butilo por *S. epidermidis*.²⁶

Influencia del contenido del inhibidor radicalico en las propiedades del producto sometido a esterilización por radiaciones ionizantes

La medición de la viscosidad de las muestras de Tisuacryl, antes y después de ser sometidas al proceso de esterilización con radiaciones Gamma (Tabla 3), permite hacer un análisis del efecto de la radiación en la polimerización del producto y de la influencia del contenido de inhibidor radicalico en este proceso. A pesar de que las muestras con menores concentraciones de hidroquinona (0,1 %) polimerizaron inmediatamente después de ser irradiadas, aquellas de concentración mayor (0,25 y 0,5 %) no lo hicieron, si bien se observó un aumento en su viscosidad, que fue mayor en el producto envasado en menores volúmenes (0,2 mL) en las ampollitas de polímero. Es importante señalar, que los adhesivos de cianoacrilato comerciales, presentan viscosidades muy diferentes, en dependencia de su utilización final. En el caso del Tisuacryl, entre las sugerencias recogidas en el seguimiento postventa están las referidas a la baja viscosidad del producto, lo que hace que en algunas aplicaciones el producto "se corra" del lugar de la aplicación. Esta característica es propia de este tipo de adhesivos y entre las instrucciones de uso para los similares comerciales se plantea mantener la zona a adherir de tal forma que el producto permanezca en la zona de aplicación. Si bien no pueden comercializarse los adhesivos sin un control de su viscosidad, se ha establecido un límite superior para esta especificación de 6 mPas durante el almacenamiento del pro-

ducto y para el producto recién obtenido de 2,5 a 4,0 mPas. Se pudo observar que los adhesivos irradiados se mantienen dentro de los límites permitidos para el almacenamiento del producto (Tabla 3).

Estudio de estabilidad

Las muestras no irradiadas con diferentes concentraciones del inhibidor radicalico (Tabla 4), se mantuvieron sin gelificar al menos durante 3 semanas en el baño de agua a 70 °C, sin que se observaran marcadas diferencias en cuanto al tiempo de gelificación en dependencia de la concentración de la hidroquinona. Sin embargo, en las muestras irradiadas, con un contenido de hidroquinona de 0,25 y 0,50 %, sí se observaron diferencias entre los tiempos de gelificación, siendo estos de 13 y 21 d respectivamente. Estos resultados están en dependencia, en primer lu-

gar, de la viscosidad al inicio del estudio de estabilidad: 2,88 a 2,89 mPas para las muestras sin irradiar, 5,14 y 3,86 mPas para las muestras irradiadas con contenidos iniciales de inhibidor de 0,25 y 0,50 %, respectivamente. En segundo lugar, para las muestras irradiadas se observó una influencia marcada del contenido inicial de la hidroquinona, que pudo estar afectada por la pérdida del inhibidor durante el proceso de esterilización, por su transformación en otros productos.¹⁹

En el caso del estudio de estabilidad en estante (Tabla 5), se observó claramente que las muestras sin irradiar, con diferentes concentraciones de hidroquinona, experimentaron un ligero aumento de la viscosidad (3,12 a 3,20 mPas), cuando se comparan con los valores iniciales del producto sin irradiar (2,88 a 2,89 mPas), sin que se observe un efecto marca-

Tabla 3. Viscosidad de las muestras de Tisuacryl antes y después del proceso de esterilización con radiaciones gamma (25 kGy).

Concentración hidroquinona (%)	Muestra	Viscosidad (mPas)
0,1	Inicial	2,89 ± 0,01
	Irradiada. Ámpula de vidrio.	Polimerización evidente.
	Irradiada. Ámpula de polímero.	Polimerización evidente.
0,25	Inicial	2,89 ± 0,03
	Irradiada. Ámpula de vidrio.	5,14 ± 0,01
	Irradiada. Ámpula de polímero.	5,25 ± 0,01
0,5	Inicial	2,88 ± 0,02
	Irradiada. Ámpula de vidrio.	3,86 ± 0,01
	Irradiada. Ámpula de polímero.	4,13 ± 0,02

Tabla 4. Tiempo de gelificación de las muestras irradiadas y sin irradiar.

Concentración hidroquinona (%)	Tiempo de gelificación (d)	
	Sin irradiar	Irradiadas
0,10	22	0
0,25	23	13
0,50	24	21

Tabla 5. Viscosidad de las muestras a los 45 d de almacenamiento a temperatura ambiente.

Concentración hidroquinona (%)	Viscosidad (mPas)	
	Sin irradiar	Irradiada
0,10	3,12 ± 0,03	Polimerizó
0,25	3,18 ± 0,03	15,6 ± 0,03
0,50	3,20 ± 0,02	4,18 ± 0,03

do del contenido del inhibidor en este cambio. Sin embargo, en las muestras irradiadas sí observa una dependencia marcada del contenido del inhibidor, donde sólo se mantienen dentro de los parámetros de aceptación las muestras con 0,50 % de hidroquinona, lo que corrobora la pérdida de esta sustancia durante el proceso de esterilización.

Los estudios deberán ser continuados a más largo plazo, igualmente, otras sustancias inhibidoras deberán ser estudiadas.

CONCLUSIONES

Los adhesivos basados en 2-cianoacrilato de n-butilo, como componente fundamental, inhiben el crecimiento de bacterias *Gram +* y *Candida albicans* y no de bacterias *Gram -*, lo cual es independiente del colorante que se utilice en la formulación. Es posible utilizar el método de esterilización por radiaciones ionizantes para el adhesivo Tisuacryl, siempre que se utilicen concentraciones adecuadas de hidroquinona como inhibidor radicalico (0,50 %). Para el Tisuacryl no esterilizado, contenidos de hidroquinona de 0,1 % son suficientes para mantener la estabilidad al almacenamiento a temperatura ambiente del producto por 45 d.

BIBLIOGRAFIA

1. Papatheophanis F., Barmada R. **Surgery Annual.**, **25**, 49, 1993.
2. Rimpler M. **Int. J. Adhesion and Adhesives**, **16**, 17, 1966.
3. Trott A.T. Cyanoacrylate. **JAMA**, **277**, 1559, 1997.
4. Pérez M., Fernández I., Márquez D., Guerra R.M. **Artificial Organs.**, **24**, 241, 2000.
5. Kutcher M.J., Ludlow J.B., Samuelson A.D., Campbell T., Pusek S.N. **Am. Dent. Assoc.**, **132**, 368, 2001.
6. Gomez J.J., et al. **Arch. Soc. Esp. Oftalmol.**, **76**, 249, 2001.
7. Escobar F., Hernández L.R. II Congreso Latinoamericanos de Organos Artificiales y Biomateriales COLAQB II, Belo Horizonte, Brasil, 5 al 8 de diciembre de 2001.
8. Santos H., Cordoví M.R., Pérez M., Guerra R.M. Congreso Latinoamericanos de Organos Artificiales y Biomateriales COLAQB II, Belo Horizonte, Brasil, 5 al 8 de diciembre de 2001.
9. Matthews S.C. **British Journal of Biomedical Science**, **50**, 17, 1993.
10. Richard A., Eiferman M.D., James W.S. **Arch. ophthalmol.**, **101**, 958, 1983.
11. Quinn J.V., Drzewiecki A., Li, M.M., Stiell I.G., Sutcliffe T., Elmslie T.J. **Annals of Emergency Medicine**, **22**, 1130, 1993.
12. Quinn J.V., Osmond M.H., Yurack J.A., Moir P.J. **J. Emerg. Med.**, **13**, 581, 1995.
13. Osmond M.H., Klassen T.P., Quinn J.V. **J. Pediatr.**, **126**, 892, 1995.
14. Gerrard C., Moore S., Ryan B. **J. Accid. Emerg. Med.**, **17**, 341, 2000.
15. Informe de Ensayo Clínico. Empleo del adhesivo tisular Tisuacryl en el cierre de heridas del complejo bucofacial. Centro Nacional de Control de Ensayos Clínicos-Centro de Biomateriales, Universidad de la Habana, noviembre, 2002.
16. Márquez D., et al. II Congreso Internacional de Biomateriales BIOMAT '99, Ciudad de La Habana..
17. Yin-Chao Tseng, Suong-Hyu Hyon, Yoshito Ikada. **Biomaterials**, **11**, 73, 1990.
18. Sailhan V., Eloy R., Giral L., Schue F. US Patent 6057472, May, 2000.
19. McDonell P.F., Lambert R.J. US Patent 5530037, June, 1996.
20. NC 26-12:93. Medicamentos. Esterilidad. Métodos de ensayo.
21. National Committee for Clinical Laboratory Standards Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing 2001. Eleventh Informational Supplement. NCCLS Document M100-S11. Wayne, 2001.
22. Ciapetti G., Stea S., Cenni E., Sudanese A., Marraro D., Tino A. **Biomaterials**, **15**, 63, 1994.
23. Ciapetti G., Stea S., Cenni E., Sudanese A., Marraro D., Tino A. **Biomaterials**, **15**, 92, 1994.
24. Papatheophanis F.J. **J. Biomedical Materials Research**, **23**, 661, 1989.
25. Yin-Chao Tseng, Yasuhiko Tabata, Suong-Hyu Hyon, Yoshito Ikada. **J. Biomedical Materials Research**, **24**, 1355, 1990.
26. Olson M.E., Ruseska I., Costerton J.W. **J. Biomed. Mater. Res.**, **22**, 485, 1988.