

BANCO DE TECIDOS EM ORTOPEDIA

Fernando Judas , Carlos Pina , Rui Dias .

Banco de Ossos e Tecidos dos HUC

Serviço de Ortopedia dos HUC

ano de 2002

Resumo

A transplantação de órgãos, tecidos e células tem vindo, progressivamente, a impor-se como soluções terapêuticas em quase todos os campos da cirurgia. A seguir ao sangue, o tecido ósseo é de longe, o tecido de origem humana mais transplantado.

Nos últimos anos, tem-se observado uma crescente procura de enxertos ósseos alógenos para o tratamento de situações clínicas complexas em Ortopedia sejam de etiologia traumática, tumoral ou iatrogénica. Com efeito, para o tratamento de uma perda de substância óssea de pequena/média dimensão, os substitutos ósseos sintéticos ou de origem animal deram prova da sua eficácia clínica, com resultados comparáveis aos dos enxertos autógenos, muito embora seja dado como consensual que estes últimos continuam a ser a melhor solução, apesar de expressarem limitações quanto à quantidade disponível, bem como quanto ao carácter iatrogénico da sua colheita. Com efeito, a colheita de enxerto autógeno que pode ser causa de dor e de dano estético, muitas vezes mal compreendidos e aceites pelo paciente. Ao contrário, os enxertos alógenos estão disponíveis nos Bancos de Tecidos, sem limitações, em todos os tipos, formas e dimensões, para serem usados na cirurgia reconstrutiva de grandes defeitos ósseos e osteocartilagíneos.

Salientam-se aspectos relacionados com a organização do Banco de Ossos e Tecidos dos HUC no que diz respeito à legislação que regulamenta a

colheita de tecidos e órgãos no nosso país, à selecção dos dadores, ao controlo da qualidade dos enxertos, ao processamento dos enxertos, aos métodos de descontaminação e esterilização e aborda-se, também, a conservação prolongada dos enxertos por congelação e liofilização. Para além disso, considera-se a prevenção e a avaliação do risco de transmissão de doenças ao receptor como preocupações maiores dos Bancos de Tecidos.

O risco de transmissão de doenças é remoto ou virtualmente nulo se forem cumpridos os critérios recomendados para a selecção dos dadores, para a colheita, controlo microbiológico e conservação dos enxertos e, ainda, se for realizada a quarentena. Assim, nos dadores em morte cerebral são colhidos enxertos ósseos, osteocartilagíneos e tendinosos e nos dadores em paragem circulatória enxertos ósseos. Neste último caso, dado que não é possível proceder à quarentena, os enxertos devem ser processados com um método complementar de esterilização.

Palavras-chave: enxertos ósseos; Banco de Ossos e Tecidos; organização; aplicações clínicas.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO (4)

TRANSPLANTAÇÕES ÓSSEAS ALÓGENAS: TERMINOLOGIA, BREVE RESENHA HISTÓRICA (12)

ALGUNS ASPECTOS DA ORGANIZAÇÃO DE UM BANCO DE OSSOS E TECIDOS (15)

 Seleccção dos dadores e controlo da qualidade dos enxertos (15)

 Processamento dos enxertos. Métodos de descontaminação e esterilização. (21)

 Conservação prolongada dos enxertos: congelação e liofilização. (23)

CASUÍSTICA GLOBAL DO BANCO DE OSSOS E TECIDOS DOS H.U.C. (27)

PREVENÇÃO E AVALIAÇÃO DO RISCO DE TRANSMISSÃO DE DOENÇAS AO RECEPTOR (36)

CONCLUSÕES (45)

BIBLIOGRAFIA (47)

INTRODUÇÃO

Numa sociedade desejosa de aproveitar ao máximo as potencialidades sócio-laborais de uma população com uma esperança de vida cada vez maior, a reconstrução *ad integrum* das lesões do aparelho locomotor e o restabelecimento da função assumem uma importância nuclear.

Com a intenção de poder alcançar este objectivo, o ortopedista dispõe actualmente de um vasto leque de técnicas cirúrgicas que incluem, entre outras, o uso de aloenxertos do aparelho locomotor, substitutos sintéticos do osso, implantes metálicos e o transporte ósseo segmentar, esperando que, num futuro próximo, a Medicina Regenerativa venha a tornar-se uma prática corrente.

Neste contexto, tem-se observado, nos últimos anos, uma crescente procura de enxertos ósseos alógenos para o tratamento de perdas de substância óssea quer sejam de origem congénita, traumática, tumoral ou ortopédica, mormente na cirurgia reconstrutiva de tumores ósseos e de lises ósseas associadas a descolamentos de artroplastias da anca e joelho. O incremento do recurso aos enxertos alógenos maciços, na cirurgia tumoral conservadora, deve-se aos excelentes resultados obtidos com a poliquimioterapia no tratamento dos tumores ósseos malignos e ao próprio desempenho dos enxertos, que demonstraram resultados clínicos muito satisfatórios. Apesar de não estarem isentos de complicações e da existência de técnicas alternativas, como são exemplos os enxertos livres vascularizados, o transporte ósseo segmentar e as megapróteses articulares, prevê-se que a sua utilização, na cirurgia reconstrutiva tumoral, não venha a diminuir nas próximas décadas (2). De igual forma, a reconstrução de lises ósseas, com enxertos alógenos, cria condições estruturais de boa qualidade para a recolocação de uma nova prótese articular. Estão, igualmente, indicados no tratamento complementar de fracturas e pseudartroses, em artrodeses da coluna e membros, em

osteotomias de adição, na cirurgia ligamentar reconstrutiva do joelho, entre outros.

As transplantações de órgãos e tecidos impuseram-se, progressivamente, como soluções terapêuticas em quase todos os campos da cirurgia. Os enxertos alógenos do aparelho locomotor foram os primeiros a serem utilizados, no século XIX. Depois do sangue, o tecido ósseo é, de longe, o tecido de origem humana mais transplantado. Nos Estados Unidos da América são anualmente aplicados mais de 150 000 enxertos ósseos alógenos (57).

Os notáveis progressos registados nesta área devem-se, em grande parte, ao aperfeiçoamento da técnica de conservação dos tecidos pelo frio e ao desenvolvimento dos Bancos de Tecidos. Inicialmente, confinada a estruturas celulares simples como embriões ou sangue, a criopreservação evoluiu, posteriormente, permitindo a conservação de outros tecidos, nomeadamente, pele, ossos, artérias e veias de órgãos mais complexos como o coração (50). Por outro lado, os importantes avanços científicos desenvolvidos na área da segurança microbiológica e biologia de incorporação dos enxertos alógenos e as modificações da legislação, que regulamenta a transplantação de órgãos e tecidos de origem humana, conduziram a profundas alterações na Organização dos Bancos de Ossos e Tecidos em todo o mundo, bem como nas modalidades de utilização dos enxertos por parte dos cirurgiões. Deste modo, abriram-se novas perspectivas de intervenção e de utilização de estruturas biológicas de origem humana, em elevadas condições de segurança, integridade e disponibilidade.

Para o tratamento de pequenas perdas de substância óssea do aparelho locomotor, pode recorrer-se a enxertos ósseos autógenos ou a enxertos alógenos de cabeças femorais, excisadas no decurso de uma artroplastia da anca por artrose ou por fractura do fémur, que podem ser conservadas num Banco de Ossos doméstico ou cirúrgico, que não levanta grandes dificuldades para a sua organização. Pelo contrário, para a reconstrução de grandes defeitos ósseos é necessário colher enxertos em doadores multiorgânicos ou em paragem circulatória. A conservação desses enxertos só é possível em “verdadeiros” Bancos de Ossos e Tecidos, que possuem instalações estruturais adequadas, permitindo a disponibilização

de grandes reservas de enxertos tendinosos, osteo-articulares, diafisários e esponjosos. A organização destas instituições é complexa, havendo necessidade de dispor de um suporte administrativo que assegure a colheita, esterilidade, conservação e transporte dos enxertos, assim como a recuperação económica dos múltiplos gastos que o seu funcionamento gera.

O Serviço de Ortopedia dos Hospitais da Universidade de Coimbra organizou, em 1982, um Banco de Ossos com o propósito de conservar enxertos para utilização no próprio Serviço. Com base na experiência acumulada no tratamento de variadíssimas situações clínicas e, para satisfazer os pedidos de enxertos solicitados pelos ortopedistas de outros Hospitais e Instituições de Saúde Nacionais, em Março de 1994, o Banco de Ossos foi reorganizado e foram criadas as condições estruturais necessárias para passar a ter um carácter Nacional.

Uma das etapas mais relevantes na organização de um Banco de Ossos e Tecidos é o controlo microbiológico dos enxertos, por forma a minimizar o risco potencial da transmissão de doenças ao receptor, nomeadamente as hepatites virais e a SIDA. Os altos índices de prevalência e incidência que a infecção pelo VIH apresenta a nível mundial, justificam a preocupação dos cirurgiões que procedem a transplantações de órgãos e tecidos alógenos e dos pacientes que os recebem, da possibilidade de o VIH ser transmitido por um dador infectado. Na verdade, a síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) tem sido objecto de sérias preocupações e continua a avançar com carácter de epidemia. No final de 1999, a "Joint United Nations Programme on HIV and AIDS" (UNAIDS) e a "World Health Organization" (WHO) estimaram que cerca de 33.6 milhões de indivíduos em todo o mundo estavam infectados com o VIH. Calculou-se que 5,8 milhões de novas infecções ocorreram durante o ano de 1997, ou seja, 16.000 novas infecções por dia. Mais de 90% destas novas infecções ocorreriam em países em vias de desenvolvimento. No ano 2000 estimava-se que 40 milhões de indivíduos em todo o mundo, estavam infectados pelo VIH (60).

Portugal é considerado como um país de elevada prevalência da SIDA. O total acumulado de casos de SIDA, no período compreendido entre 1 de Janeiro de 1983 e 31 de Março de 2000, era de 6874, dos quais 299

causados pelo vírus VIH2 e, destes, 106 casos referiam infecção associada aos vírus VIH1 e VIH2 (51). Durante o ano de 1999, foram notificados 884 casos novos. Da análise da distribuição de casos de SIDA por sexo, constata-se que 83,8% correspondem ao sexo masculino. Por grupo etário, verifica-se que 85,9% correspondem aos grupos etários entre os 20 e 49 anos, ou seja, a faixa etária onde se situa uma parte significativa dos potenciais dadores de órgãos e tecidos.

Torna-se imprescindível sensibilizar e esclarecer os transplantadores e a comunidade médica em geral, para o risco real da transmissão de doenças aos receptores dos enxertos ósseos alógenos e para a eficácia biológica dos vários tipos de enxertos alógenos utilizados no tratamento das várias situações clínicas. Embora não seja uma intervenção vital, argumento muitas vezes referido pelos apologistas da implantação de biomateriais sintéticos de substituição óssea, as transplantações ósseas alógenas são, muitas vezes, a única solução terapêutica eficaz para a resolução de situações complexas do aparelho locomotor, conduzindo a uma melhoria da qualidade de vida dos pacientes.

Apesar da existência do risco de transmissão de doenças, o principal factor limitativo da transplantação alógena em todo o mundo continua a ser a escassez de órgãos e tecidos disponíveis. O único modo de ultrapassar esta situação é, naturalmente, aumentar o número de dadores. Para isso, é necessário um instrumento legal que favoreça a colheita de órgãos e tecidos, e uma organização hospitalar e inter-hospitalar motivadas para a transplantação.

No nosso país, a colheita de órgãos e tecidos de origem humana é regulamentada pela Lei nº 12/93 de 22 de Abril, que veio revogar o Decreto-Lei nº 553/76 de 13 de Julho e definir, de uma forma clara, a situação legal de um potencial dador no âmbito da colheita em cadáveres. A Lei nº22/2007 transpôs a Directiva nº 2004/23/CE do Parlamento e Conselho Europeus de 31 de Março, alterando a Lei nº 12/93. Em 2010 a Directiva 2010/53/EU estabeleceu as normas de qualidade e segurança dos órgãos humanos destinados a transplantação.

O anterior Decreto-Lei colocava restrições às colheitas de órgãos e tecidos, nos casos em que havia oposição do falecido (Artigo 5.º) ou suspeita de morte em consequência de ação criminosa (Artigo 4.º, alínea

2). Uma das questões que levantava muitas dúvidas e dificuldades na colheita de tecidos, em dadores cadavéricos, apesar dos despachos legais subsequentes, era a necessidade de obter ou não o consentimento dos familiares do falecido, situação, que não estava perfeitamente definida, sendo objecto de diferentes interpretações. Apresentava-se, portanto, como uma questão delicada, que colocava o médico perante um ambiente psicológico desfavorável e, pela nossa experiência, constituía um verdadeiro obstáculo à colheita de tecidos.

A Lei nº 12/93, no Capítulo III, Artigo 10.º, alínea 1, veio clarificar essa questão: "são considerados como potenciais dadores post mortem todos os cidadãos nacionais e os apátridas e estrangeiros residentes em Portugal que não tenham manifestado junto do Ministério da Saúde a sua qualidade de não dadores". Para a concretização deste último ponto: "é criado um Registo Nacional de não Dadores (RENDA), informatizado, para registo de todos aqueles que hajam manifestado, junto do Ministério da Saúde, a sua qualidade de não dadores" (Capítulo III, Artigo 11.º, alínea 1).

A colheita de órgãos e tecidos, em dadores menores ou incapazes, foi igualmente regulamentada no Capítulo III, Artigo 10.º, alínea 3: "a indisponibilidade para a dádiva dos menores e dos incapazes é manifestada, para efeitos de registo, pelos respectivos representantes legais e pode também ser expressa pelos menores com capacidade de entendimento e manifestação de vontade".

O Decreto-Lei nº 244/94 de 26 de Setembro regulamentou a organização e o funcionamento do Registo Nacional de não Dadores (RENDA) e a emissão do respectivo cartão individual de não dador. Este serviço informatizado, a funcionar no âmbito do Instituto de Gestão Informática e Financeira da Saúde, regista a identificação de todos aqueles cujas convicções determinem a sua indisponibilidade para a dádiva post mortem de órgãos e tecidos, dando consistência ao primado da vontade e da consciência individual nessa matéria.

Desde que o serviço foi criado, mais de 37 mil portugueses registaram-se como não-dadores, a um ritmo que tem vindo a diminuir acentuadamente. Em 1994, 23.778 pessoas inscreveram-se no RENDDA e, no ano seguinte, esse número desceu para menos de metade, 10.879. Em 1996, inscreveram-se 947, 490 no ano seguinte, 470 em 1998, 237 em 1999 e

199 no ano 2000. Nos primeiros oito meses de 2001 registaram-se no RENNDA 99 indivíduos, o que totaliza, desde a sua criação e até essa data, 37.099 não dadores. (46).

Mesmo nos casos em que a morte se tenha verificado em condições que imponham a realização de uma autópsia médico-legal, não obsta à efetivação da colheita, devendo, contudo, o médico relatar por escrito toda e qualquer observação que possa ser útil a fim de completar o relatório daquela (Capítulo III, artigo 14.º, alínea 2).

A lei permite, ainda, a colheita de órgãos e tecidos em estabelecimentos hospitalares privados e nos Institutos de Medicina Legal: "os actos que tenham por objecto a dádiva ou colheita de tecidos ou órgãos de origem humana, para fins de diagnóstico ou para fins terapêuticos e de transplantação, bem como as próprias intervenções de transplantação, só podem ser efectuados sob a responsabilidade e directa vigilância médica, de acordo com as respectivas *leges artis* e em estabelecimentos hospitalares públicos ou privados. Podem ainda ser feitas colheitas de tecidos para fins terapêuticos no decurso de autópsia nos Institutos de Medicina Legal (Capítulo I, Artigos 1.º e 3.º)".

Sendo assim, pode afirmar-se que a legislação portuguesa é muito favorável à colheita e transplantação de órgãos e tecidos de origem humana. É clara a intenção do legislador em criar um suporte legal que contemple o respeito pelo corpo humano, que assegure o consentimento e gratuidade da dádiva, que obrigue à confidencialidade do dador e do receptor e, de um modo geral, que permita o desenvolvimento e o aumento do número de transplantações de órgãos e tecidos no nosso país, com reconhecidos benefícios para os pacientes.

A maior parte dos países europeus possuem, também, legislação que regulamenta a colheita e transplantação de órgãos e tecidos de origem humana, contrariamente ao que acontece com a regulamentação sobre a própria actividade dos Bancos de Tecidos. A Bélgica, França, Espanha e, no Reino Unido, a Escócia, são dos poucos que legislaram sobre esta matéria. Como não existe legislação específica sobre essa actividade no nosso país, o Banco de Ossos e Tecidos dos H.U.C., tendo como base uma experiência de 20 anos, está organizado segundo os protocolos recomendados pelas Associações Internacionais de Banco de Tecidos a

"American Association of Tissue Banks" (AATB), a "Association pour l'étude des Greffes et Substituts Tissulaires en Orthopédie" (GESTO), a "European Association of Musculo Skeletal Transplantation" (EAMST) e a "European Association of Tissue Banks" (EATB).

Portugal é, hoje, um país com programas desenvolvidos de transplante de rim, coração e fígado, atingindo um nível de valores comparáveis à média dos países europeus. O Gabinete de Coordenação de Colheitas e Transplantação dos Hospitais da Universidade de Coimbra tem vindo a registar uma redução do número de potenciais dadores em morte cerebral (44,45), o que conduz ao aumento do número de candidatos em lista de espera para transplantação e à sua morte, sem acesso a esta terapêutica, sobretudo no caso das doenças hepáticas. Esta problemática não é, como anteriormente referiu-se, específica do nosso país.

Sendo Portugal um país com uma elevada taxa de sinistralidade, deveríamos ter um elevado número de dadores, e como tal, não nos vemos confrontados com a carência de órgãos e tecidos para transplante. Uma das explicações para justificar a diminuição do número de dadores em morte cerebral, prende-se com a melhoria das vias de comunicação e a violência traumática dos acidentes de viação com a morte dos sinistrados, no local do acidente, impedindo que cheguem às urgências hospitalares muitos sinistrados em condições de serem dadores de órgãos. Outra das razões, que pretende justificar a escassez de órgãos e tecidos relaciona-se com o "padrão" do próprio dador que apresenta, ainda, uma estrutura etária relativamente jovem, um predomínio do sexo masculino e uma elevada percentagem de causas traumáticas, fortemente correlacionada com a taxa de óbitos, devida aos acidentes de viação. Os acidentes vasculares cerebrais e outras patologias encefálicas não traumáticas contribuem com apenas 28,5%, do total de dadores, enquanto que na maior parte da Europa, o contributo dos falecidos por acidentes vasculares cerebrais atinge os 60% e, na Alemanha, os 70%. Tudo indica que a tendência nacional será também esta.

Ainda neste contexto, constatamos que os critérios de selecção a que são submetidos os potenciais dadores de tecido ósseo e o rigoroso controlo da qualidade dos enxertos colhidos contribuem, de forma significativa, para a carência de reservas de enxertos disponíveis para aplicação clínica.

Uma das formas de os Bancos de Ossos contornarem a escassez de enxertos é implementarem um protocolo de colheita de cabeças femorais em dadores vivos, no decurso de artroplastias da anca. A colheita deste tipo de enxerto permite a constituição de uma reserva de tecido ósseo significativa, devido ao elevado número de artroplastias da anca que se implantam anualmente. Apesar de ser um tecido patológico, temos utilizado este enxerto, sob a forma de esponjoso granulado, em reconstruções ósseas de pequenas dimensões que não exijam um suporte estrutural e/ou associado a implantes metálicos, com resultados muito satisfatórios.

Torna-se, por isso, importante contribuir para a modificação desta situação, motivando e esclarecendo a comunidade hospitalar sobre a relevância da transplantação de órgãos e tecidos. Pode ser sentido como pouco gratificante fazer um grande investimento profissional num cadáver, enquanto que os transplantadores sentem-se mais gratificados ao colocar um órgão e salvar uma vida, ou dar melhor qualidade de vida a alguém. É necessário implementar uma boa comunicação entre as unidades de cuidados intensivos, onde estão os potenciais dadores, e os transplantadores e proceder-se a um bom aproveitamento dos dadores que existem. Um maior investimento por parte dos hospitais em recursos técnicos, de pessoal, de incentivos económicos, ou outros, irá contribuir, certamente, para o aumento do número de colheitas.

As complicações associadas à transplantação de tecidos ósseos alógenos maciços são relativamente comuns, nomeadamente a infecção, pseudartrose e fracturas do enxerto (13, 35). A infecção, que na maior parte das situações não está relacionada com a contaminação do enxerto (61), é a complicação mais devastadora, conduzindo muitas vezes ao insucesso da intervenção cirúrgica e à excisão do enxerto.

A finalidade de um Banco de Tecidos é disponibilizar enxertos biologicamente seguros e eficazes para aplicação clínica. O risco potencial de transmissão de doenças infecciosas aos receptores de enxertos alógenos constitui uma das maiores preocupações dos Bancos de Ossos e Tecidos. Esse risco pode ser minimizado se forem cumpridas com rigor as

disposições legais e microbiológicas, internacionalmente reconhecidas, sobre a organização dos Bancos de Tecidos.

Por outro lado, as propriedades biológicas dos enxertos disponíveis podem ser condicionadas pelo tipo de tratamento a que são submetidos durante a sua preparação, esterilização e conservação.

Parece-nos, por isso, importante, descrever alguns dos aspectos mais relevantes sobre a metodologia da colheita, processamento e conservação de tecidos alógenos do aparelho locomotor, assim como proceder à análise da casuística do Banco de Ossos e Tecidos Hospitais da Universidade de Coimbra, levando em consideração a experiência adquirida ao longo de 20 anos de actividade e os progressos científicos que se têm registado, nos últimos anos, nesta área.

TRANSPLANTAÇÕES ÓSSEAS ALÓGENAS: terminologia, breve resenha histórica.

A terminologia da transplantação de tecidos não é uniforme e consistente, apesar das várias tentativas para estabelecer uma terminologia comum.

O termo "enxerto" refere-se à aplicação de um tecido viável e deveria ser reservado para os tecidos frescos ou cultivados. No entanto, este termo é, também, frequentemente usado na literatura científica para designar tecidos biológicos não viáveis, enquanto o termo implante, também aplicado a materiais não biológicos, seria de facto o mais apropriado. Sendo assim, a aplicação clínica de um tecido ósseo alógeno desvascularizado conservado deveria ser denominada por um implante ósseo. Contudo, consagrado pelo uso, continua a ser designada por um enxerto ósseo, terminologia que, no nosso entender, deve continuar a ser mantida.

De modo semelhante, o termo "transplantação" tem gerado diferentes interpretações. Pensamos que a definição da "European Association of Tissue Banks", em 2001 (48), é a que contém um significado mais abrangente, contribuindo para a uniformização da terminologia: "colheita de um órgão, tecido ou células e o enxerto desse órgão, tecido ou células, imediatamente ou após um período de preservação e/ou

acondicionamento. A transplantação pode ser efectuada de uma pessoa para outra (alógena) ou de uma pessoa para si própria (autógena)“.

Deste modo, não é condição necessária para a realização de uma transplantação de um tecido, proceder-se à sua revascularização cirúrgica, como anteriormente era definida. De igual forma, pode designar-se um enxerto ósseo como uma transplantação de osso vivo ou não vivo.

Um enxerto autógeno refere-se a um tecido que é transferido de uma parte para outra no mesmo indivíduo. No enxerto isógeno, o tecido é transferido entre dois indivíduos geneticamente idênticos. O termo enxerto alógeno, anteriormente denominado por homólogo, designa tecidos adquiridos e transferidos entre dois indivíduos geneticamente diferentes, da mesma espécie. Um enxerto xenógeno, anteriormente denominado por heterólogo, refere-se ao tecido transferido entre indivíduos de espécies diferentes.

A possibilidade de substituir um órgão ou um tecido insuficiente fascinou, desde sempre, a imaginação do ser humano. Por isso, não é surpreendente que a primeira referência a uma transplantação óssea alógena esteja ligada a uma lenda, à história dos Santos Cosmos e Damião. Diz a lenda que, dois séculos após a sua morte, no século III da nossa era, procederam à substituição da perna de um sacristão, que apresentava um tumor, por outra que pertencia a um mouro que tinha falecido no mesmo dia. Este milagre póstumo foi tema de inspiração para muitos pintores durante o período da Renascença Italiana.

Sem abandonar o terreno da imaginação, o primeiro caso da aplicação de um enxerto xenógeno foi descrito pelo cirurgião holandês van Meekeren em 1668. Baseado num relato de um missionário, um soldado russo tinha recebido, com sucesso, um enxerto xenógeno de calote craniana proveniente de um cão, para o tratamento de um ferimento na cabeça. Esta intervenção ocasionou uma grande polémica, e o soldado viu-se obrigado a pedir que lhe removessem o enxerto, para não ser excomungado pela Igreja da época.

No campo experimental, Merrem (1810) realizou o primeiro enxerto autógeno e, Flourens (1847) foi o primeiro investigador a estudar os enxertos alógenos e xenógenos. O primeiro enxerto autógeno em humanos é atribuído ao cirurgião alemão von Walther (1820). Percy,

cirurgião do tempo de Napoleão, realizou, por volta de 1880, o primeiro enxerto xenógeno em humanos, aplicando um segmento de osso bovino em dois soldados, que, no entanto, rapidamente fracassaram. O primeiro enxerto alógeno descrito nas publicações científicas é atribuído a Macewen, um cirurgião escocês que, em 1879, tratou com sucesso uma pseudartrose infectada do úmero, numa criança com quatro anos de idade, utilizando, para isso, uma tíbia proveniente de outra criança. O primeiro enxerto intercalar no adulto foi realizado por Poncet em 1887, para tratamento de uma pseudartrose. O primeiro enxerto osteo-articular experimental foi realizado por Judet em 1907, tendo sido Lexer, na mesma época, o primeiro a aplicar este tipo de enxerto no ser humano (6, 17).

Chase e Herndon procedendo a uma revisão histórica da literatura, no período compreendido entre 1890 e 1900, encontraram descritos 45 casos de enxertos ósseos autógenos e 10 de enxertos alógenos. Uma década mais tarde, foram documentados 162 enxertos autógenos e 29 alógenos (17).

A transplantação de osso autógeno começou a ser largamente efectuada a partir de 1915, após a publicação de um livro sobre cirurgia de enxertos ósseos da autoria do cirurgião americano F. Albee. Em 1923, Albee documentou a aplicação clínica, com bons resultados, de mais de 3000 enxertos ósseos autógenos. Nessa altura, a transplantação óssea começou a ser uma prática cirúrgica frequente e os trabalhos publicados incidiam essencialmente sobre as técnicas de transplantação, com uma escassa documentação sobre casos clínicos.

Gallie e Robertson foram os primeiros a reconhecer que os enxertos esponjosos autógenos permitiam uma maior formação de osso novo do que o osso compacto, e que a arquitectura estrutural do osso esponjoso favorecia uma revascularização mais rápida. Nessa altura e de acordo com Albee, o osso cortical era especialmente utilizado como o principal agente de fixação óssea. Mais tarde, por volta de 1939, o progresso da metalurgia e a consequente implantação de biomateriais metálicos vieram permitir uma melhor fixação óssea em relação à obtida com o osso cortical.

A grande utilização de enxertos ósseos esponjosos ocorreu durante a Segunda Guerra Mundial, favorecida pela facilidade da sua colheita na

crista ilíaca, evitando-se a fragilização da tíbia, local onde normalmente o enxerto cortical era colhido. Em 1950-51, em pleno conflito militar na Coreia, foi organizado nos Estados Unidos da América um dos maiores Bancos de Tecidos a nível mundial "The Navy Tissue Bank", com a finalidade de vir a ser utilizado para a cirurgia de lesões ósseas e cutâneas causadas pela guerra. No entanto, esse objectivo inicial não foi concretizado, e o Banco de Tecidos começou a disponibilizar enxertos alógenos para os cirurgiões civis do país, o que muito contribuiu para a sua divulgação, que se traduziu num aumento progressivo de transplantações ósseas.

Os Bancos de Tecidos foram alvo de um novo impulso a partir de 1980, graças aos progressos da quimioterapia no tratamento dos tumores ósseos malignos, e ao desenvolvimento da cirurgia conservadora como alternativa à amputação.

No nosso país, existem Bancos de Ossos domésticos que conservam cabeças femorais alógenas colhidas em dadores vivos, em Serviços de Ortopedia de vários hospitais públicos. O Banco de Ossos e Tecidos dos H.U.C. era, até ao ano de 2001, altura em que o Serviço de Ortopedia do Hospital S. João no Porto iniciou a colheita de enxertos osteocartilagíneos em dadores cadavéricos, a única instituição que dispunha de tecidos alógenos do aparelho locomotor de origem cadavérica, actividade que iniciou no ano de 1982.

ALGUNS ASPECTOS DA ORGANIZAÇÃO DE UM BANCO DE OSSOS E TECIDOS

Seleção dos dadores e controlo da qualidade dos enxertos

Na literatura científica, estão descritos casos de transmissão de doenças infecciosas ligadas à aplicação clínica de enxertos alógenos, como a hepatite B, a hepatite C, a infecção pelo VIH-1 e a tuberculose. A partir do ano de 1992, altura em que se registou um caso de transmissão pelo VIH relacionado com uma transplantação óssea alógena efectuada em 1985 (52), não há referência de qualquer caso de transmissão do VIH ou dos vírus das hepatites. Este facto sugere que os avanços registados na

selecção e rastreio serológico dos dadores e no processamento dos enxertos, permitiram a disponibilização de enxertos biologicamente mais seguros, com o conseqüente aumento de confiança por parte dos cirurgiões ortopedistas.

Outro risco infeccioso que está ligado directamente aos enxertos é a sua contaminação microbiológica quer no momento da colheita, como no período de preparação e conservação e no decurso da sua aplicação clínica. A segurança microbiológica nesta área não levanta preocupações relevantes, dado que pode ser garantida pela qualidade do controlo laboratorial da esterilidade dos enxertos e pelas técnicas físico-químicas de esterilização. Não é motivo de controvérsia aceitar que as infecções que ocorrem em transplantações ósseas alógenos não são causadas, na grande maioria dos casos, pelo enxerto. Estão directamente relacionadas com o acto cirúrgico que é, muitas vezes, complexo e demorado (56).

A selecção de um potencial dador de enxertos alógenos obedece a rigorosos critérios epidemiológicos, clínicos e laboratoriais, e constitui uma etapa primordial na metodologia dos Bancos de Ossos e Tecidos, independentemente do método de preparação dos enxertos. É sempre indispensável, inclusivamente nos enxertos que são submetidos a uma esterilização complementar, para evitar uma contaminação significativa que diminua a margem de segurança do método, e para preservar a saúde do pessoal que procede à colheita e à preparação dos enxertos.

Nos Bancos de Sangue são excluídos aproximadamente 90% de potenciais dadores, por critérios baseados apenas na história clínica (57). Os critérios de selecção de dadores de tecido ósseo são regularmente revistos, actualizados e publicados por sociedades científicas internacionais e conselhos médicos e científicos (AATB, GESTO, EAMST, EFG), com a finalidade de otimizar a segurança microbiológica dos enxertos colhidos.

O interrogatório e o exame físico de um dador vivo, ou o exame físico e a consulta do processo clínico, bem como todas as informações sobre os antecedentes sociais e médicos referentes a um potencial dador em paragem circulatória ou em morte cerebral, permitem, desde logo, rejeitá-lo como dador. Os casos, que suscitem qualquer tipo de dúvida, são excluídos por questões de segurança. Os factores de exclusão dos dadores de tecidos alógenos regem-se naturalmente pelas regras da boa prática e

do bom-senso clínico, que orientam toda a actividade médico-cirúrgica (Quadro I).

A idade do dador não constitui um critério de exclusão para a colheita, apesar de ser determinante na biofuncionalidade que o enxerto venha a desempenhar. Os enxertos osteocartilagíneos, cartilagíneos e meniscais devem ser colhidos em dadores com idade inferior a 45 anos. Os tendões ou fáschia lata, abaixo dos 65 anos. Não há um limite de idade para a colheita e preparação de enxertos ósseos esponjosos triturados ou granulados e de enxertos que não venham a desempenhar uma capacidade de suporte estrutural. Nas situações em que é necessário preservar uma capacidade mecânica, deve-se respeitar o encerramento da placa de crescimento epifisária e não utilizar enxertos colhidos em dadores com osteoporose significativa (24).

As colheitas podem ser realizadas em dadores vivos, cabeças femorais excisadas no decurso das artroplastias da anca ou fracturas do colo do fémur, em dadores em morte cerebral, num contexto de uma equipa de colheita multiorgânica e em dadores em paragem circulatória. Nestes casos, devem ser efectuadas nas primeiras 12 horas após a morte, ou até às 24 horas, se o corpo tiver sido colocado numa câmara frigorífica, nas primeiras 4 horas após a morte (10). Considera-se como período ideal as primeiras 6 horas após a paragem circulatória (39, 41).

Os tecidos são colhidos numa sala de operações em ambiente de assépsia cirúrgica estrita, por uma equipa ortopédica experiente reduzida a um mínimo de elementos, visto que a maior fonte de contaminação dos enxertos é exógena e está fortemente correlacionada com o número de elementos que constituem a equipa cirúrgica (14). A colheita pode, também, ser realizada em ambiente limpo, não estéril, num anfiteatro anatómico ou na sala de autópsias dos Institutos de Medicina Legal, como é legalmente permitido pela legislação portuguesa, tendo, no entanto, o cuidado de evitar a ocorrência de uma contaminação maciça.

Quadro I - Critérios de exclusão de dadores

Factores relacionados com antecedentes sociais e sexuais:

presidiários, homossexuais, toxicodependentes, assim como os seus parceiros sexuais.

Factores relacionados com os antecedentes médicos:

Infecções crónicas; hemofilia;

Doenças neoplásicas, com excepção de um epiteloma basocelular da pele e certos tumores cerebrais primitivos;

Doenças auto-imunes e do colagénio;

Grandes queimados, grande cirurgia recente, intervenção neurocirúrgica com utilização de dura-máter alógena;

Distrofias ósseas;

Tratamento com hormonas de crescimento;

Corticoterapia intensa e prolongada;

Irradiação local ou administração recente de radiofármacos:

Demência, encefalopatia ou doença neurológica inexplicada, podendo entrar num quadro de doença de Creutzfeldt-Jakob;

Transfusões sanguíneas realizadas há menos de 6 meses;

Assistência ventilatória durante um período superior superior a 72 horas;

Administração de grandes quantidades de líquidos para compensação do estado clínico (por causa da hemodiluição);

Envenenamentos.

Factores ligados a uma infecção aguda:

Viral (hepatite, SIDA, herpes, citomegalovírus..);

Bacteriana sistémica ou localizada ao osso;

Parasitária (paludismo..); Micose sistémica; Tuberculose;

Qualquer doença infecciosa transmissível.

Morte de causa desconhecida (sem autópsia).

Estes tecidos são submetidos a um processamento microbiológico inactivante e, após o seu acondicionamento, procede-se a uma esterilização terminal, habitualmente, com irradiações ionizantes em altas doses.

A realização de um rastreio laboratorial, ao potencial dador e aos enxertos colhidos tem como objectivo detectar a presença de agentes infecciosos transmissíveis (Quadro II).

Quadro II - Rastreio laboratorial ao dador e aos enxertos

AgHBs, AchBc, AchBs

AcVHC, PCR VHC

AcVIH-1/2, AgVIH-1

Antigénio p 24, PCR VIH

HTLV-I/II

CMV

VDRL e FTA e/ou TPHA

Factor Rh

Transaminases (dador vivo)

Hemoculturas (anaérobios e aeróbios)

Controlo microbiológico dos enxertos (culturas)

A determinação dos marcadores biológicos para os vírus da hepatite B (AgHBs, AchBc), vírus da hepatite C (AcVHC) e para o VIH (AcVIH-1/2) são obrigatórios em todos os dadores, independentemente do tipo de processamento a que o enxerto venha a ser submetido. Qualquer positividade leva à inutilização formal dos enxertos.

É recomendado efectuar a PCR para o VHC e para o VIH, assim como a pesquisa do antigénio p24 do VIH e dos AcHTLV-I/II, embora constituam exames serológicos opcionais (10).

A determinação dos AcHTLV-I/II é um requisito legal em França. Para nós, é um exame que deve ser realizado em todos os dadores e a sua positividade é razão suficiente para a inutilização dos enxertos. A reforçar este critério, estão as fortes ligações que tivemos e continuamos a ter com

os países africanos, onde a infecção pelo HTLV-I tem alguma endemicidade.

A presença do anticorpo CMV num dador não implica a rejeição dos enxertos. O rastreio serológico da sífilis deve ser realizado através de dois exames diferentes, VDRL e TPHA e/ou FTA.

A compatibilidade Rh deve ser apenas respeitada num receptor feminino em idade de procriação, para evitar a imunização e eventual doença hemolítica do recém-nascido. A presença de apenas 0,5 ml de sangue Rh positivo é suficiente para imunizar um receptor Rh negativo contra o alelo D, que determina a positividade do factor (29).

É recomendada a determinação das transaminases (alanina-amino-transferase) no dador vivo, com a intenção de despistar uma doença hepática e uma provável hepatite viral.

A determinação das compatibilidades, no grupo sanguíneo ABO e no sistema HLA, parecem não ser necessária na transplantação de enxertos ósseos alógenos preservados e desvascularizados. Embora seja consensual que o enxerto possa desencadear uma resposta imunológica, o seu significado e repercussões, em termos de prática clínica, não foram demonstradas (16, 54). A sua pesquisa e determinação poderão ter um interesse de ordem científica.

A contaminação dos enxertos colhidos assepticamente é controlada através de culturas microbiológicas de amostras representativas de cada enxerto (tecidos moles, tecido ósseo e medula óssea) e de amostras da solução de lavagem de cada um dos enxertos (0,5 a 1 litro de soro fisiológico por enxerto), num período de incubação de duas semanas, com pesquisa do crescimento de germens anaérobios, aeróbios e fungos. A cultura de zaragatoas dos enxertos é um método que apenas detecta uma contaminação maciça, apresenta pouca sensibilidade, e, como tal, não deve ser utilizada.

O valor das hemoculturas é motivo de controvérsia, pelo alto nível de contaminação laboratorial a que estão associadas. No entanto, podem ser de grande utilidade para a avaliação do estado do dador cadavérico e para a interpretação dos resultados das culturas das amostras dos enxertos (10).

Se o resultado das culturas das amostras dos enxertos revelar o crescimento de colónias de micro-organismos de baixa patogenicidade, considerados habitualmente não patogénicos, os enxertos não devem ser disponibilizados, sem serem processados com um método que garanta, efectivamente, a sua descontaminação. Se forem isolados microorganismo de alta patogenicidade, os enxertos não são aceitáveis para transplantação, a não ser que, o seu processamento garanta a inactivação dos micro-organismos sem potenciais efeitos secundários, tendo em consideração, as possíveis endotoxinas.

A biópsia da cabeça femoral colhida no dador vivo, preconizada por algumas equipas (38, 55), com a intenção de despistar doenças ocultas (linfomas, plasmocitomas e inflamações inespecíficas da medula óssea), tem um valor e uma representatividade questionável (19, 37).

Por último, o resultado da autópsia anatomopatológica constitui um importante elemento suplementar de segurança. Os enxertos só devem ser disponibilizados após o seu conhecimento.

Processamento dos enxertos. Métodos de descontaminação e esterilização.

A aplicação de um agente químico ou físico pode, teoricamente, desinfetar ou esterilizar um tecido alógeno contaminado. Os métodos de desinfecção permitem, por vezes, atingir uma redução das populações microbianas equivalente às obtidas pelos métodos de esterilização. O objectivo da esterilização é reduzir a probabilidade de detectar um micro-organismo num tecido esterilizado para um num milhão. A inactivação das populações bacterianas e virais não obedece à lei do "tudo ou nada", mas sim, a um modelo matemático de tipo exponencial. Por isso, a eficácia da esterilização depende da contaminação inicial dos enxertos, do contacto do agente esterilizante com os germens a destruir, da sua sensibilidade ao agente esterilizante, da manutenção dos parâmetros de esterilização durante um tempo suficiente e da eventual permeabilidade da embalagem ao agente esterilizante (24, 33).

A utilização de agentes químicos é muito recomendada na prática dos Bancos de Ossos durante a preparação, conservação e aplicação dos

enxertos criopreservados, com a intenção de aumentar o seu nível de segurança microbiológica. Após a colheita das amostras para o controlo microbiológico, os enxertos são imersos numa solução de um antisséptico (clorhexadrina a 2%) ou de um ou mais antibióticos (rifampicina na dose de 1,2 g/L), durante pelo menos uma hora (61). Os antibióticos ou antissépticos utilizados devem ser activos contra os germens Gram positivos. Demonstrou-se experimentalmente que a libertação de um antibiótico, como a vancomicina, a partir de um enxerto ósseo é eficaz durante um período de 3 semanas (26).

Outra classe de agentes químicos é representada pelos solventes-detergentes como o clorofórmio, o metanol, o etanol, a acetona e o éter, que removem as células do tecido ósseo, provocando uma coagulação das proteínas, uma precipitação dos ácidos nucleicos e uma degradação das membranas celulares. A maior parte destes produtos demonstraram a sua eficácia na inactivação de vírus encapsulados, como os das hepatites B e C e VIH. O peróxido de hidrogénio é muitas vezes utilizado como etapa complementar, e demonstrou a sua eficácia sobre bactérias e vírus pela capacidade em formar radicais livres (31, 53).

A lavagem mecânica dos enxertos, com soro fisiológico sob pressão, pode ser enquadrada nesta categoria, dado que permite a eliminação de uma boa parte das células, da medula óssea e, ao mesmo tempo, uma redução da população microbiana.

A descalcificação de enxertos corticais diafisários com ácido clorídrico constitui outro método de processamento. O método de preparação deste tipo de enxerto ósseo tem uma vertente viricida e bactericida. Os enxertos contaminados por bactérias ou fungos podem ser aplicados na clínica, após a sua descalcificação em ácido clorídrico e tratamento complementar com clorofórmio-etanol e conservação em formaldeído (42).

Os métodos de esterilização mais correntemente utilizados são a exposição dos enxertos ao vapor de água, ao óxido de etileno e à irradiação ionizante.

A esterilização dos enxertos pelo calor húmido em autoclave, exposição a 121 °C durante 20 minutos, é um método eficaz sobre as bactérias e os vírus, não deixa resíduos tóxicos e não necessita de equipamento dispendioso. Tem alguma difusão na Europa, nomeadamente na

preparação de enxertos esponjosos de cabeças femorais colhidas em dadores vivos, com resultados semelhantes aos congelados colhidos com assépsia cirúrgica (8,9).

O óxido de etileno foi, durante muito tempo, utilizado para a esterilização dos enxertos alógenos, dado que é um método seguro para a inactivação de vírus e bactérias, e tem a capacidade de penetrar no osso cortical. Actualmente, é um método com pouca difusão. Modifica a estrutura óssea e a capacidade osteoindutora dos enxertos, e os seus resíduos e subprodutos estão na origem reacções inflamatórias (31, 33).

A esterilização terminal dos enxertos por raios- γ produzidos por uma fonte de cobalto 60 é o método de irradiação mais utilizado. Os raios-raios- γ apresentam uma excelente penetração em profundidade, cerca de 1 metro, ao contrário dos irradiação com raios- γ , que é de apenas alguns centímetros (24).

A irradiação com raios- γ na dose 25 kGy permite obter uma destruição satisfatória das bactérias e dos parasitas. No que se refere ao VIH parece não ser suficiente. (27). A dose de 25 kGy é letal para todas as células humanas, todo o potencial viral intracelular é destruído, mas existem dúvidas quanto à inactivação dos vírus situados nos líquidos intersticiais do osso, que podem ser considerados como um meio plasmático. A radiosensibilidade dos vírus da hepatite não está completamente esclarecida. Relatos clínicos sugerem que tecidos contaminados com o vírus da hepatite C e processados por irradiação, não transmitiram o vírus (11). Os príões são resistentes à irradiação. Com efeito, este material protéico não contém ácido nucleico, que é o alvo principal das radiações ionizantes.

As alterações das propriedades biológicas e mecânicas dos enxertos causadas pelos agentes químicos são de difícil avaliação. A irradiação, na dose correntemente utilizada de 25 kGy, não conduz a alterações significativas das propriedades estruturais do osso. As alterações das pontes entre as fibras de colagénio, comparáveis ao que se observa no envelhecimento, que conduzem a uma diminuição da resistência mecânica, só se verificam com altas doses de irradiação. A resistência mecânica, em flexão de um osso cortical criopreservado e irradiado, diminui cerca de 20% numa dose de 30 kGy. Na dose de 25 kGy, o osso

esponjoso não é afectado na sua resistência em compressão. Para afectar a resistência em compressão do osso cortical e do osso esponjoso, é necessário uma irradiação de 60 kGy (18).

Conservação prolongada dos enxertos: congelação e liofilização.

A congelação e a liofilização são, actualmente, os métodos mais aceites para a conservação com segurança e a longo termo, dos tecidos alógenos do aparelho locomotor. A congelação é a técnica mais difundida e a preferida para a conservação de enxertos tendinosos, ósseos e osteocartilagíneos maciços de grandes dimensões, colhidos assepticamente em dadores em paragem circulatória.

Uma das vantagens da congelação é a capacidade parcial de manter a viabilidade dos condrócitos. A impregnação da cartilagem articular com crioprotectores (DMSO e glicerol), para evitar a formação de macrocristais de gelo e aumentar a taxa de condrócitos viáveis na altura da transplantação é correntemente preconizada, embora a sua eficácia não esteja objectivamente provada (39).

O osso deve ser congelado a pelo menos -28°C , temperatura que constitui o ponto eutético da água. Sob esta temperatura, toda a água contida no tecido ósseo passa ao estado sólido, estabelecem-se ligações entre as moléculas de água por pontes de hidrogénio, que impossibilitam a ocorrência de reacções químicas. O objectivo de uma unidade de preservação de tecidos é manter a temperatura abaixo desse ponto. Em termos práticos, a temperatura de segurança mínima requerida é de -40°C . Sob ponto de vista clínico, não há argumentos objectivos que permitam privilegiar uma conservação a -40°C , -80°C ou a -196°C , a taxa de êxitos e de complicações são semelhantes (18). Apesar disso, as temperaturas mais correntemente utilizadas são -80°C (frigoríficos eléctricos) e até aos -196°C (azoto líquido).

Estas baixas temperaturas permitem a manutenção das propriedades mecânicas dos enxertos e a sua preservação durante muitos anos. O prazo de validade dos enxertos conservados a uma temperatura igual ou inferior a -40°C é de 5 anos, segundo as normas europeias. É uma questão, que na prática, não se coloca, devido ao elevado número de

solicitações de enxertos, que condicionam a criação de uma reserva consistente que suprima integralmente a sua procura.

No início da actividade do Banco de Ossos dos H.U.C., a conservação dos enxertos era efectuada a -80°C em dois frigoríficos eléctricos. A partir de 1994, passou a ser realizada em cubas de azoto líquido. O azoto líquido permite conservar a uma temperatura constante, que pode atingir os -196°C , ossos completos, articulações completas, a viabilidade das células cartilágneas, as fibras e os fibroblastos contidos nos ligamentos e nas cápsulas. Por outro lado, a criopreservação suprime todas as reacções químicas e todos os fenómenos de desintegração cadavérica, permitindo a conservação dos enxertos por um tempo prolongado, em teoria, indefinidamente.

É absolutamente interdito proceder à recongelação de enxertos que, por qualquer motivo, não foram aplicados e disponibiliza-los para uma nova utilização clínica. Devem ser inutilizados ou serem processados, de imediato, para descalcificação (42).

A liofilização é utilizada na preparação de enxertos de pequenas dimensões, enxertos esponjosos granulados e enxertos diafisários maciços, que são posteriormente submetidos a um processo de esterilização complementar. Os enxertos são colhidos, geralmente, em dadores em paragem circulatória, em ambiente de assépsia cirúrgica ou de anfiteatro anatómico, evitando uma contaminação maciça.

É uma técnica de conservação muito menos difundida, porque exige um equipamento específico e requer uma tecnologia muito dispendiosa. A liofilização é uma aplicação do ponto triplo da água, que permite que a água passe directamente da fase sólida à fase gasosa sem passar por uma fase líquida. Os enxertos congelados são submetidos a vácuo, que permite a sublimação do gelo em vapor, sem passar pela fase líquida, realizando progressivamente a sua desidratação. Esta ausência de passagem pela fase líquida evita as reacções químicas, físicas ou enzimáticas ligadas à água, que podem desnaturar o ou os constituintes da amostra (24).

A água constitui 65% do peso de um osso esponjoso e 25% do peso de um osso esponjoso cuja medula óssea foi removida. Além da água, o oxigénio pode também influenciar a estabilidade do produto liofilizado (57). É por isso que os enxertos são acondicionadas sob uma atmosfera

inerte ou sob vácuo. O produto liofilizado é uma matéria seca e estável. O tempo de conservação dos enxertos liofilizados é, em teoria, ilimitado, mas na prática, as normas europeias limitam-no a 5 anos (10). A humidade residual deve representar menos de 5 % do peso final da amostra.

O Banco de Ossos e Tecidos dos H.U.C. possui um liofilizador de tipo comercial (Cientificolab[®]) que comporta um aparelho de congelação, uma câmara de sublimação, um condensador e bombas de vácuo, conectadas em série.

Os enxertos são colhidos em condições de assépsia cirúrgica ou na sala de autópsias do Instituto de Medicina Legal, e processados, posteriormente, na sala de preparação do Banco de Ossos. Removem-se os tecidos moles, medula óssea, perióstio, procede-se à lavagem mecânica com soro fisiológico e à sua imersão em soluções de etanol e de peróxido de hidrogénio, de modo a ficarem totalmente livres de resíduos celulares e de medula óssea. São acondicionados em frascos de vidro e conservados em azoto. Terminado o ciclo de liofilização, os frascos são hermeticamente fechados sob condições de vácuo no liofilizador e, posteriormente, submetidos à acção esterilizante dos raios- γ , na dose de 25 kGy, na Unidade de Tecnologia de Irradiação, em Sacavém. Por cada lote irradiado são colhidas amostras para exame microbiológico (culturas com pesquisa de bactérias e fungos), que se têm revelado sistematicamente negativas. A humidade residual é avaliada por controlo gravimétrico. no Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Engenharia da Universidade de Coimbra.

A indústria farmacêutica conserva a vitalidade das bactérias e dos vírus, mediante liofilização, utilizando soluções de crioprotectores sem as quais o método não seria eficaz. Os crioprotectores não são usados na liofilização de enxertos alógenos humanos. Na sua falta, a sobrevivência de material celular é impossível, o que explica o facto de não ser registado nenhum caso de transmissão de doenças virais através de tecidos alógenos liofilizados, inclusivamente num dador contaminado com hepatite C (11). Contudo, a liofilização não é um método de esterilização e carece de acção sobre os príões.

Sob o ponto de vista imunológico, os tecidos liofilizados perdem a sua

imunogenicidade, não desencadeiam nenhuma reação do tipo humoral. Nesta questão, a liofilização é superior à congelação (22).

Os enxertos liofilizados podem ser esterilizados com óxido de etileno ou com irradiação. As vantagens da esterilização antes ou depois da liofilização não estão estabelecidas. A esterilização é mais eficaz sobre um material hidratado, mas a presença de água favorece o aparecimento de produtos de degradação como o etilenoglicol ou os radicais livres. Sob o ponto de vista mecânico, o material não reidratado perde resistência e precisa de 24 horas de reidratação para voltar ao seu estado normal (3, 4). O enxerto esponjoso liofilizado, submetido a uma reidratação de 30 minutos, perde 20% da sua resistência mecânica em compressão, quando comparado com o enxerto esponjoso fresco (12). A irradiação de um enxerto ósseo previamente liofilizado provoca uma soma de efeitos sobre a resistência óssea. Esta perda de resistência é muito variável e torna-se evidente a partir dos 30 kGy.

CASUÍSTICA GLOBAL DO BANCO DE OSSOS E TECIDOS DOS H.U.C.

No período compreendido entre os anos 1982 e 2000, o Banco de Ossos e Tecidos dos H.U.C. disponibilizou 3030 enxertos alógenos para o tratamento de várias situações clínicas do aparelho locomotor, cirurgia maxilo-facial e Neurocirurgia.

Foram aplicados 2004 enxertos alógenos congelados, 899 enxertos corticais diafisários alógenos descalcificados e 127 enxertos ósseos alógenos liofilizados. A figura 1 mostra o número global e a distribuição da frequência anual dos enxertos alógenos aplicados, e as figuras 2, 3, e 4 o número e a distribuição anual dos três tipos de enxertos disponibilizados. A cirurgia de recolocações de próteses da anca constituiu a causa mais frequente da aplicação clínica dos enxertos.

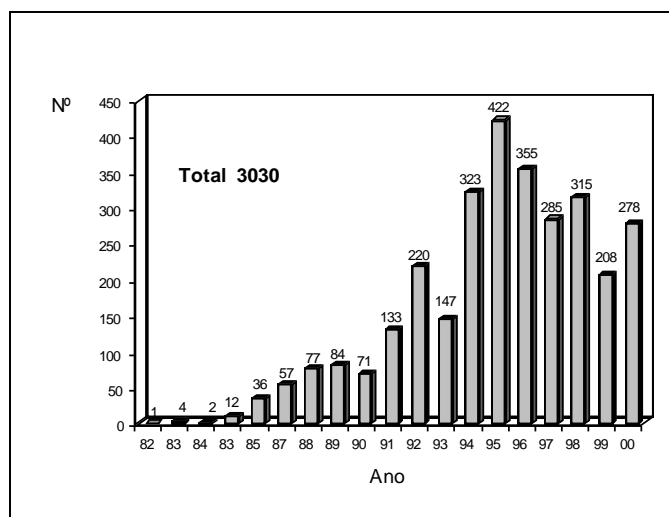


Fig. 1 – Número e distribuição da frequência anual dos enxertos alógenos aplicados.

A grande maioria dos enxertos foram utilizados no Serviço de Ortopedia dos H.U.C. (86%) e os restantes nos Serviços de Neurocirurgia e Maxilo-facial dos H.U.C., em outros Hospitais e Casas de Saúde Nacionais. No período compreendido entre 1994 e 2000, foram aplicados 1627 nos H.U.C. e 559 em outros Hospitais e Casas de Saúde Nacionais.

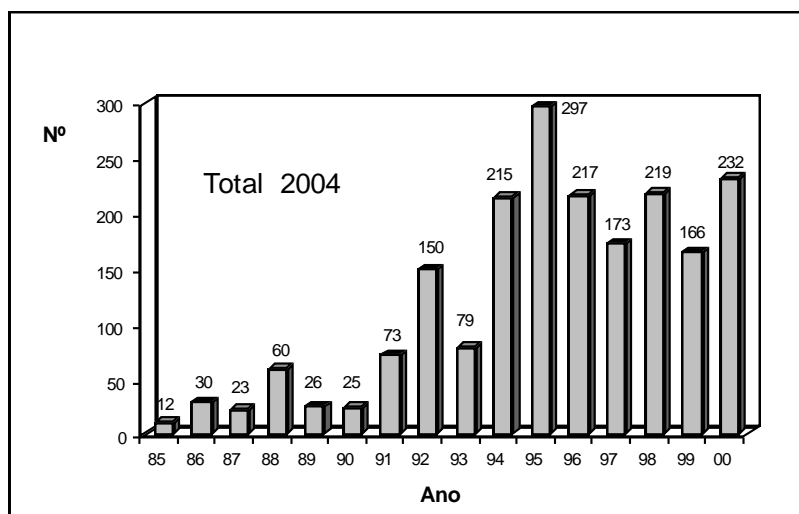


Fig. 2 – Número e distribuição da frequência anual dos enxertos alógenos congelados aplicados.

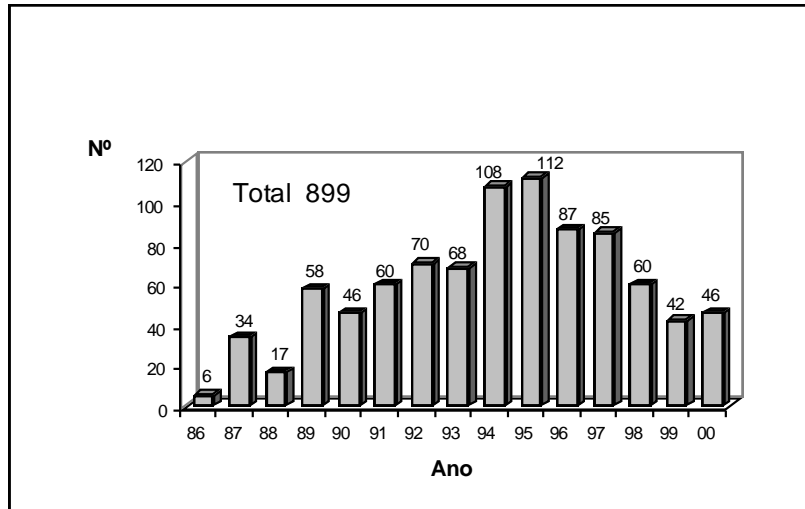


Fig. 3 – Número e distribuição da frequência anual dos enxertos corticais alógenos descalcificados aplicados.

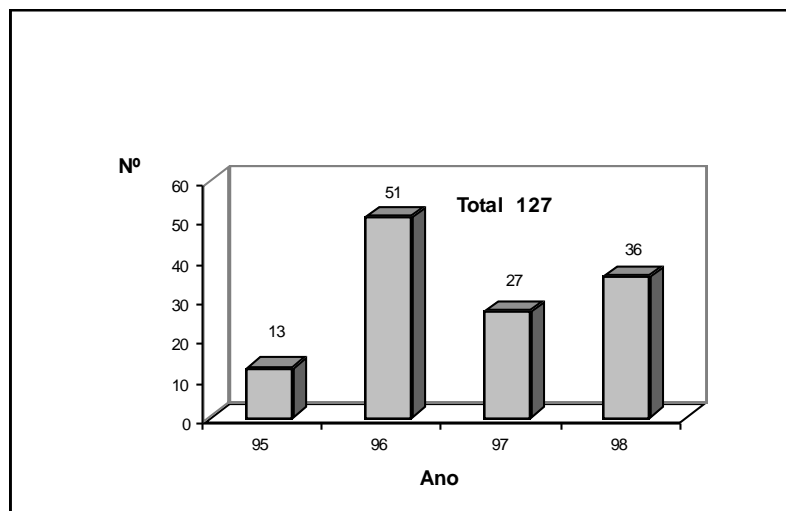


Fig. 4 – Número e distribuição da frequência anual dos enxertos alógenos liofilizados aplicados.

Quadro III - Enxertos alógenos congelados.

Indicações operatórias	Nº
Fracturas dos membros	137
Atrasos de consoli./ pseudar.	76
Perdas ósseas traumáticas extensas	17
Artrodeses dos membros e coluna	227
Recolocações de próteses	1161
Tumores ósseos	245
Ligamentoplastias do joelho	55
Cirurgia maxilo-facial	29
Outros	57
Total	2004

O Quadro III expressa a importância relativa das diferentes indicações operatórias, na utilização dos enxertos alógenos congelados. O Quadro IV, o número de cada um dos diversos tipos de enxertos aplicados. O osso esponjoso sob a forma de grânulos foi o enxerto mais utilizado (nº = 1598). Mostrou uma área alargada de aplicação clínica na cirurgia reconstrutiva ligada às recolocações de próteses da anca, no tratamento cirúrgico de fracturas recentes e atrasos de consolidação/pseudartroses dos membros e nas artrodeses da coluna vertebral, realizadas para o tratamento de fracturas, escolioses e de situações degenerativas, e ainda, em artrodeses dos membros e em cirurgia estomatológica.

Quadro IV - Enxertos alógenos congelados.

Tipos de enxerto	Nº
Granulados esponjosos	1598
Maciços	
Osteocartilagíneos	231
Diafisários	28
Blocos de esponjoso	92
Tendão rotuliano	55
Total	2004

Os enxertos maciços foram utilizados em reconstruções de perdas ósseas e osteocartilagíneas, causadas por excisão tumoral, em recolocações de próteses da anca, em perdas extensas de substância óssea de origem traumática e em artrodeses intersomáticas da coluna cervical e lombar. Foram utilizados 11 enxertos de mandíbula para o tratamento de situações tumorais em cirurgia maxilo-facial. Em 54 casos foram aplicados tendões rotulianos osso-tendão-osso, na cirurgia ligamentar reconstrutiva do joelho por via artroscópica. Num caso, procedeu-se ao transplante do aparelho extensor do joelho, por causa traumática. A rubrica outros, comporta diversas intervenções cirúrgicas como operações de Maquet, operações de Papineau, osteotomias de adição dos membros, alongamentos dos membros, entre outras.

Relativamente aos enxertos diafisários descalcificados em ácido clorídrico, as intervenções efectuadas na área da traumatologia dos membros representaram 47,7% do seu número (Quadro V). Sob a forma de tiras, foram aplicados isoladamente ou em associação com outro tipo de enxerto ósseo, com a intenção de aumentar a massa óssea, preencher perdas de substância óssea, estimular a osteogénese local e acelerar a consolidação óssea. Sob a forma maciça, descalcificados em superfície, foram utilizados na reconstrução de perdas extensas de substância óssea do membro inferior de origem traumática, nas reconstruções do fémur em recolocações de próteses da anca e no tratamento da necrose asséptica da cabeça femoral.

Quadro V- Enxertos corticais alógenos descalcificados.

Indicações operatórias	Nº
Fracturas dos membros	314
Atrasos de consoli./ pseudar.	115
Artrodeses dos membros e coluna	91
Recolocações de próteses	230
Tumores ósseos	76
Outros	73
Total	899

O Quadro VI apresenta o número de enxertos ósseos alógenos liofilizados utilizados no tratamento de diversas situações clínicas, sob a forma de grânulos de esponjoso, tiras de cortical diafisária maciça e grânulos de cortical descalcificada em ácido clorídrico (Quadro V). Este último tipo de enxerto foi aplicado em cirurgia estomatológica na resolução da doença periodontal.

Entre os anos de 1987 e 2000, foram efectuadas colheitas de enxertos alógenos em 191 dadores cadavéricos e em 323 dadores vivos (cabeças femorais). No mesmo período, foram inutilizadas 108 cabeças femorais (33,4%) e 30 colheitas (15,7%) realizadas em dadores cadavéricos.

Serologias positivas ou duvidosas para os vírus das Hepatites, para o VIH e o HTLV conduziram à rejeição formal dos enxertos, independentemente do tipo de processamento a que o enxerto foi submetido. A detecção serológica de anticorpos anti-HBc num potencial dador, com anticorpos anti-HBs positivos, é factor de exclusão, por se considerar o dador de alto risco. Esta conduta poderá ser considerada como excessivamente rigorosa, mas, no nosso entender, deve ser mantida, e está de acordo com os critérios seguidos pelo Serviço de Imuno-hemoterapia dos H.U.C.. De igual forma, uma serologia positiva para a sífilis coloca o dador num grupo de alto risco.

Quadro VI - Enxertos alógenos liofilizados.

Indicações operatórias	Nº
Fracturas dos membros	16
Atrasos de consoli./ pseudar.	2
Artrodeses dos membros	11
Recolocações de próteses	81
Tumores ósseos	5
Cirurgia estomatológica	12
Total	127

Quadro VII - Enxertos alógenos liofilizados.

Tipo de enxerto	Nº
Granulados esponjosos	111
Diafisários maciços	4
Cortical descalcificado	12
Total	127

Nos dadores cadavéricos, consideramos a contaminação dos enxertos com o *staphylococcus epidermidis* sem significado, quando as culturas de uma a três amostras dos enxertos forem positivas e todas as restantes forem negativas (42). Normalmente são efectuadas vinte a trinta em cada dador. A presença de mais de três culturas positivas leva à rejeição dos enxertos ou à descalcificação dos enxertos corticais diafisários com o ácido clorídrico. Pelo contrário, as cabeças femorais provenientes de dadores vivos e contaminadas com o *staphylococcus epidermidis*, devem ser inutilizadas.

Quadro VIII - Colheitas de enxerto alógeno inutilizadas.

Dadores vivos	%	Nº
Critérios serológicos		
Hepatite B		20
HTLV-I		1
Sífilis		1
Contaminação microbiológica	18,2 %	59
Outros		27
Total	33,4 %	108

Quadro IX - Colheitas de enxerto alógeno inutilizadas.

Dadores não vivos	%	Nº
Critérios serológicos		
Hepatite B		11
Hepatite C		2
Ag. VIH*		2
Contaminação microbiológica	8,3 %	14
Infecção por meningococcus**		1
Total	15,7 %	30
* duvidosa		
** após a autópsia		

A taxa global de contaminação microbiológica dos enxertos, colhidos assepticamente nos dadores vivos e nos dadores cadavéricos, foi de 18,2% e de 8,3%, respectivamente (Quadro VIII e Quadro IX).

O *staphylococcus epidermidis*, considerado como um comensal da pele, foi o gérmen mais frequentemente encontrado nas culturas bacteriológicas (23%) efectuadas nos enxertos provenientes de dadores vivos (Quadro X).

Quadro X - Contaminação microbiológica das colheitas.

Dadores vivos	%	Nº
Staphylococcus	57,6 %	
epidermidis	23 %	14
aureus		7
coagulase (-)		5
albicans		3
sepecies		4
haemolyticus		1
Corynebacterium species		2
Pseudomonas		1
Penicilum spp		7
Flora polimicrobiana		11
Outros	18,6 %	4
Total		59

Quadro XI - Contaminação microbiológica das colheitas.

Dadores não vivos	%	Nº
Staphylococcus epidermidis	25 %	4
Staphylococcus coagulase (-)		3
Corynebacterium species		1
Flora polimicrobiana	50 %	8
Total		16

Em 18.6% dos enxertos verificou-se o desenvolvimento de uma flora polimicrobiana. A incidência do *staphylococcus aureus* foi de 11,8%.

Ainda em relação aos dadores vivos (Quadro VIII), 20 cabeças femorais (6,1%) foram inutilizadas por apresentaram uma serologia positiva ou duvidosa para o vírus da hepatite B. Na rubrica outros, estão incluídas várias situações que conduziram à inutilização dos enxertos, tais como a insuficiência de dados laboratoriais, relativos quer aos enxertos quer ao dador, e a modificação da técnica operatória.

A causa mais frequente da contaminação dos enxertos colhidos nos dadores cadavéricos (Quadro XI), foi a presença de uma flora polimicrobiana (50%). Foram igualmente isolados, nas culturas dos tecidos, gérmens considerados como de baixa patogenicidade: o *staphylococcus epidermidis* (25%), o *staphylococcus* coagulase-negativo (18,7%) e o *corynebacterium species* (6,3%).

Em 2 dadores cadavéricos (Quadro IX) registou-se uma serologia duvidosamente positiva para o antigénio do VIH, considerada pelo Laboratório como um falso-positivo, com o anticorpo para o VIH negativo. Estes dadores poderiam estar em período de seroconversão, por isso todos os enxertos colhidos foram inutilizados. Em 2 dadores o anticorpo para o vírus da Hepatite C foi positivo, e em 11 os marcadores serológicos para a hepatite B foram positivos ou duvidosos, seguindo os critérios acima referidos. Em 2 dadores o AgHBs apresentou-se positivo. A contaminação microbiológica levou à eliminação de 14 colheitas de enxertos.

O resultado da autópsia permitiu a exclusão de um dador em morte cerebral, que apresentava uma meningite por *meningococcus*, que não foi detectada pelos exames clínico e laboratorial.

PREVENÇÃO E AVALIAÇÃO DO RISCO DE TRANSMISSÃO DE DOENÇAS AO RECEPTOR

A possibilidade de um enxerto alógeno transmitir uma doença ao receptor, constitui a principal preocupação dos Bancos de Ossos e Tecidos. Como já foi referido, na literatura ortopédica estão descritos casos de transmissão dos vírus da Hepatite e do VIH, através de transplantações de tecidos ósseos. Em alguns casos, os dadores apresentavam-se seronegativos, em período de janela imunológica. No entanto, é preciso examinar

atentamente a altura e as circunstâncias em que essas doenças foram transmitidas.

A transmissão do VIH-1, proveniente de dadores infectados, foi, igualmente, referida em transplantações de rim, fígado, coração, pâncreas e possivelmente de pele. Na maioria dos casos, a transplantação ocorreu no período anterior a 1985, ano em que foram comercializados os primeiros exames laboratoriais para a detecção de anticorpos VIH-1. Simonds (52) descreveu três casos clínicos em que houve transmissão do VIH causada por transplantações de órgãos vascularizados, realizada posteriormente ao ano de 1985. Num deles, o VIH-1 foi transmitido por um órgão de um dador com o anticorpo VIH-1 falsamente negativo por hemodiluição, devido a uma transfusão sanguínea maciça. Noutro caso, um dador vivo de um rim, sero-converteu para o VIH-1 8 meses após a transplantação. No outro caso, o vírus foi transmitido a um receptor de fígado, numa transplantação urgente, realizada antes de estar disponível o resultado do anticorpo VIH-1 do dador, que revelou, posteriormente, ser positivo.

Estão descritos dois casos de transmissão do VIH proveniente de enxertos ósseos alógenos. O primeiro refere-se a um doente do sexo feminino com 23 anos de idade, em que foi utilizado uma cabeça femoral alógena conservada a -80°C durante 24 dias, numa artrodese da coluna vertebral por escoliose. A intervenção cirúrgica foi efectuada em 1984, altura em que o exame de pesquisa do anticorpo VIH ainda não estava disponível. Após 3 anos e 6 meses de evolução, o exame serológico de pesquisa de anticorpos VIH-1 foi positivo, a paciente desenvolveu a SIDA e morreu (59).

O segundo, descrito por Simonds em 1992, ocorreu com um dador seronegativo, em período da janela imunológica, numa colheita multiorgânica. Os quatro receptores de órgãos sólidos e os três receptores de enxertos ósseos criopreservados (duas cabeças femorais e um enxerto osso-tendão-osso), foram infectados pelo VIH-1. É de salientar que os vinte e cinco receptores de enxertos ósseos processados por liofilização e pelo etanol, apresentaram o anticorpo VIH-1 negativo, assim como o receptor de enxerto ósseo criopreservado em que a medula óssea foi retirada. O estudo serológico do dador para o anticorpo VIH-1 foi negativo mas,

retrospectivamente, provou-se que o antigénio VIH-1 e a PCR do VIH-1 eram positivos.(52).

A transmissão do vírus da hepatite C foi, também, referida na transplantação de órgãos, cabeça femoral congelada e num caso de enxerto tendinoso (19, 21).

O avanço mais notável, no rastreio serológico das doenças virais foi a utilização da "Polymerase Chain Reaction" (PCR), que pesquisa o genoma viral por amplificação genómica. O ADN viral é incorporado no genoma das células desde o início da infecção e a PCR pode detectar a presença de uma célula infectada numa população de 10^6 de células não infectadas. Tem a capacidade de replicar mais de 1 milhão de cópias do ADN do VIH, em menos de 3 horas. Este exame serológico é muito sensível e tem uma alta especificidade. É mais sensível do que as culturas virais (24, 25).

Estima-se que a PCR tem a capacidade de detectar a presença do VIH a partir do 7º dia após a contaminação, com um tempo médio de detecção ao 13º dia, reduzindo deste modo, o período de janela de seroconversão do VIH, que é de 3 a 5 semanas em média. Os exames serológicos de terceira geração são capazes de detectar a presença dos anticorpos do vírus a partir do 22º dia após a contaminação (30). Por outro lado, o antigénio p24 do VIH pode ser detectado antes do aparecimento dos anticorpos para o VIH em mais de 90% dos casos. Actualmente, com a utilização, por rotina, dos exames de 4ª geração que pesquisam em simultâneo os AcVIH1/2 e AgVIH1, é possível despistar a presença da infecção pelo VIH a partir dos 16 dias.

A PCR pode ser realizada para a detecção dos vírus da hepatite B, hepatite C e VIH no sangue dos dadores vivos e no sangue ou medula óssea dos dadores cadavéricos. Este facto pode ser vantajoso na selecção de dadores cadavéricos com um volume sanguíneo baixo, por hemorragia. As normas europeias recomendam a utilização da PCR ou do antigénio p24 para a pesquisa do VIH e a PCR para o vírus da hepatite C, nos casos em que não é possível proceder à quarentena dos enxertos.

A quarentena permite aumentar o nível de segurança dos enxertos, contornando o período de seroconversão, designado por período de janela. É um procedimento simples, que consiste em voltar a controlar a presença de anticorpos para o vírus da Hepatite C e da infecção pelo VIH no dador

vivo, 6 meses após a colheita do enxerto. Para a infecção pelo VIH, 2 meses parece ser suficiente, nos países com uma baixa incidência da SIDA (28). Sendo assim, os enxertos ósseos, provenientes de cabeças femorais de dadores vivos, apresentam um alto nível de segurança biológica em relação à transmissão desse tipo de doenças, não só por esses dadores pertencerem a uma população com um grupo etário de baixo risco, mas também pela possibilidade de se proceder à quarentena dos enxertos.

De igual forma, a quarentena também se aplica aos enxertos dos dadores em morte cerebral, no contexto da colheita multiorgânica. Neste caso, os anticorpos são pesquisados nos receptores dos órgãos vascularizados (rim, fígado), 3 meses após a transplantação.

Durante esse período, os enxertos são conservados em azoto líquido ou por outro método de preservação e só serão disponibilizados, se os marcadores serológicos permanecerem negativos. Uma transplantação óssea não é uma intervenção urgente, constitui apenas uma parte de um procedimento cirúrgico electivo, e deve ser efectuada quando todas as condições de máxima segurança biológica estiverem reunidas.

Uma PCR negativa para os vírus da hepatite C e para os VIH ou por falta deste último, uma antigenémia p24 negativa, pode dispensar uma quarentena, segundo as normas europeias (10)

Nos últimos anos, têm-se verificado acentuados progressos na investigação de novas tecnologias visando a pesquisa da presença do ARN do vírus da Hepatite C e do VIH em dadores de sangue, por amplificação do genoma. São exames similares à PCR usada pelos Bancos de Tecidos, só que, neste caso, é detectado o ARN em vez do ADN. Como se sabe, o VIH é um vírus ARN.

A despistagem genómica viral mais utilizada é o TMA ("Transcription Mediated Amplification"), que detecta simultaneamente o ARN-VHC e o ARN-VIH-1. É uma tecnologia de amplificação de ácidos nucleicos, isotérmica, que utiliza a transcriptase-reversa e a RNA-polimerase para alcançar uma amplificação exponencial dos alvos de ARN ou ADN. É muito sensível, reduzindo significativamente o período de janela imunológica. Teoricamente, detecta a infecção pelo VHC/VIH-1, 10 e 11 dias após estas terem ocorrido (7).

Os exames de ácidos nucleicos aplicados para a detecção genómica viral pré-transfusional, ainda não fazem parte do protocolo de rotina dos Bancos de Sangue, mas assim que estiverem aprovados, serão certamente adoptados pelos dos Bancos de Ossos e Tecidos (57).

Marx, em 1993 (36) calculou o risco de transmissão do VIH numa transplantação de enxerto ósseo alógeno de 1 em 1,6 milhões, no caso de se recorrer a uma correcta história clínica e a um estudo laboratorial que incluísse a determinação do AgVIH, AcVIH e o exame histológico de órgãos e nódulos linfáticos. Utilizando apenas os exames de 3ª geração para a detecção do VIH, o risco de transmissão do VIH através de um dador de tecidos, calculado a partir de dados epidemiológicos na Bélgica e tendo por referência um período de janela serológica de 22 dias, era, em 1994, de 6 por milhão (15). Se fossem considerados nestes estudos, o valor do processamento e da quarentena dos enxertos, o risco de transmissão da infecção pelo VIH seria, ainda, muito mais reduzido.

O vírus HTLVI, descoberto em 1980, é responsável por leucemias e linfomas de células T do adulto e pela paraplegia espástica tropical. O período de latência entre a contaminação e os primeiros sinais clínicos é de 15 a 20 anos, sendo a doença rapidamente fatal. O Japão, a Bacia das Caraíbas e as Antilhas são zonas endémicas. A prevalência nas Antilhas é de 2 a 3% (24, 33). O vírus HTLVII foi isolado em formas atípicas da leucemia de células pilosas. Os toxicodependentes constituem uma população de risco, sobretudo nos Estados Unidos da América.

Em 1997, foi reportado a transmissão do HTLVI num caso de transplantação de enxerto ósseo congelado (49). O diagnóstico de uma infecção pelo vírus HTLV é realizado pela pesquisa de anticorpos AcHTLVI/II. O risco estimado de transmissão do vírus por transfusão sanguínea é de 1 em 50.000 unidades (20). Na nossa casuística registámos a presença do anticorpo HTLVI num dador vivo, que levou à rejeição do enxerto.

Em relação ao CMV, não estão descritos casos em que um enxerto ósseo alógeno desvascularizado, proveniente de um dador contaminado pelo CMV, tenha causado, por si só, uma infecção ao receptor.

Os marcadores para o CMV são positivos numa proporção muito elevada da população de adultos sãos (40 a 60%). O vírus pode ser transmitido

por um enxerto vascularizado, sendo, neste campo, um dos vírus patogénicos mais frequentes, podendo ser causa de infecções mortais em pacientes imunodeprimidos (24).

A instituição da quimioterapia, em cirurgia óssea tumoral maligna, pode constituir um risco teórico de transmissão desse vírus a partir de um enxerto óssea alógeno utilizado numa reconstrução cirúrgica, proveniente de um dador contaminado. No entanto, um estudo serológico e clínico retrospectivo, referente a seis pacientes que receberam um enxerto ósseo maciço de um dador com anticorpos para o CMV, não confirmou esse risco (15). Nas crianças e nos pacientes imunodeprimidos e não imunizados contra o CMV, a selecção de um enxerto, proveniente de um dador CMV negativo, é a conduta recomendada.

A pesquisa sistemática dos marcadores serológicos para a sífilis não é realizada por todos os Bancos de Ossos e Tecidos. O treponema é inactivado após 7 horas, numa temperatura inferior a 4 °C (24). Apesar deste facto, uma serologia positiva para a sífilis coloca o dador no grupo de risco das doenças sexualmente transmissíveis, nomeadamente o VIH. Para nós, é factor de exclusão.

O risco teórico da transmissão de agentes não convencionais, os priões, será provavelmente tomado em consideração nos próximos anos, embora, pese o facto de os tecidos do aparelho locomotor serem reconhecidos pela OMS, como pouco ou não infectantes. A eficácia de um tratamento químico dos enxertos com o hipoclorito (NaClO 2% durante 1 hora) ou a soda (NaOH 1N durante 1 hora), é reconhecida pela OMS. Teoricamente permite assegurar a inactivação completa dos priões(47). Não é uma prática corrente dos Bancos de Tecidos.

Não existem critérios de diagnóstico clínicos e biológicos para detectar a presença destes agentes infecciosos. O diagnóstico é efectuado pelo perfil imunohistoquímico do cérebro no post-mortem. Por isso, a detecção de uma doença degenerativa neurológica num potencial dador, é uma contra-indicação absoluta para a colheitas de tecidos.

A transmissão da doença de Creutzfeldt-Jacob, a partir de uma transplantação óssea alógena, não foi demonstrada. Foi reportada em 3 casos de transplantação de dura-máter liofilizada, utilizada em cirurgia maxilo-facial e neurocirurgia. Os enxertos foram preparados por uma

companhia comercial (B. Braun em 1982), com critérios de selecção do dador e métodos de processamento do enxertos duvidosos, e todos pertencentes a um mesmo lote (36).

Infecções mais raras foram transmitidas através de transplantações tecidos alógenos como a raiva (enxertos de córnea), vírus d' Epstein Barr, febre amarela e vírus da febre hemorrágica (19). São doenças raras que não são rastreadas por rotina. Esta enumeração, não exaustiva, tem a finalidade de demonstrar que a fiabilidade do rastreio de doenças infecciosas deve assentar não apenas nos marcadores biológicos, mas também, num exame clínico completo e numa rigorosa anamnese.

Um dos procedimentos contributivos para a minimização ou eliminação do risco de transmissão de doenças infecciosas ao receptor é o processamento dos enxertos (31). Os agentes químicos utilizados na descontaminação dos enxertos como o etanol a 70% e o peróxido de hidrogénio, produtos que utilizamos no protocolo de preparação dos enxertos, são viricidas e bactericidas. O etanol é tóxico para o VIH e para os vírus das Hepatites, porque destrói a membrana lipídica envolvente, que é essencial para a sobrevivência desses vírus. A lavagem mecânica com soro fisiológico sob pressão tem, também, um efeito descontaminante, porque arrasta os agentes patogénicos contidos na superfície dos enxertos, assim como a gordura, medula óssea e resíduos celulares.

A remoção dos tecidos moles, do sangue, da medula óssea, do periósteo e do endósteo dos enxertos ósseos, reduzem a probabilidade de transmissão de doenças infecciosas para um nível muito remoto. É, nas células sanguíneas e na medula óssea, que os agentes patogénicos residem em grande parte. Este facto foi demonstrado pelo relato de Simonds em 1992 (52). Um dos quatro enxertos ósseos congelados e não processados, colhidos num dador em período de seroconversão para o VIH, não transmitiu o VIH ao receptor. Tratava-se de um enxerto proximal do fémur que foi utilizado na recolocação de uma artroplastia cimentada da anca. É muito provável, que a fresagem do canal medular do enxerto e a reacção exotérmica do cimento acrílico, utilizado na cimentação da nova haste femoral, ao destruírem a medula óssea do enxerto, fora responsáveis pela

remoção e inativação do vírus. No entanto, nem todos os tipos de enxertos podem ser processados.

Nos enxertos osteocartilagíneos diáfiso-metáfiso-epifisários, utilizados frequentemente em reconstruções de perdas de substância ósseas originadas por excisão tumoral, não é possível remover todo o conteúdo da cavidade medular da região metafisária. Por outro lado, não são submetidos a um processamento complementar, porque requerem a integridade da cartilagem articular e dos tecidos moles peri-articulares. Estas condicionantes fazem com que tenham um maior risco de transmissão de agentes patogénicos, comparativamente aos outros enxertos utilizados em cirurgia ortopédica.

Outro tipo de processamento é a descalcificação dos enxertos diafisários corticais em ácido clorídico. É um método seguro para prevenir a transmissão viral, bacteriana e micológica, e permite, inclusivamente, a preparação para utilização clínica de enxertos de esterilidade microbiológica duvidosa (43).

Nenhum caso de transmissão viral foi referenciado na aplicação clínica de enxertos ósseos liofilizados, o que pode ser explicado pelo facto de estes enxertos serem habitualmente processados, antes e após o processo de liofilização. A própria liofilização pode também ser eficaz contra a transmissão viral, mas o possível mecanismo de acção permanece desconhecido (15).

No que concerne aos agentes físicos utilizados no processamento dos tecidos alógenos, o calor por termo-incubação parece ser a forma mais apropriada de tratamento térmico. Para o VIH, 80°C é suficiente, mas é necessário uma temperatura de 100°C para inactivar os vírus das Hepatites. A duração de uma esterilização eficaz depende do tamanho e da densidade do enxerto ósseo. O processamento em autoclave a 120°C durante 20 minutos é eficaz, mas acima dos 100°C regista-se uma alteração das propriedades mecânicas originais do osso. A inativação de priões requer um processamento em autoclave a 134°C durante um ciclo de 30 minutos (9, 31)

A irradiação ionizante pode inactivar o VIH, o VHB e o VHC, mas a dose de radiação necessária para se alcançar um estado de esterilização, depende da radiosensibilidade do vírus e da carga viral inicial, presente nos

tecidos. A inactivação completa dos vírus, nos enxertos ósseos contaminados, requer uma dose de 35 kGy, que é uma dose deletéria para as propriedades mecânicas do osso. A esterilização dos enxertos com irradiação ionizante nas dose recomendada de 25 kGy não dispensa o cumprimento dos critérios de selecção do dador (24, 33).

Outro elemento relevante para o despiste de doenças transmissíveis é a realização da quarentena dos enxertos colhidos em dadores vivos e em paragem circulatória. Permite aumentar o nível de segurança dos enxertos, minimizando o risco de transmissão do vírus da hepatite C e do VIH.

Ainda neste âmbito, a autópsia anatomopatológica permite o diagnóstico de diversas afecções, que não são despistadas pelo exame clínico e pelos marcadores serológicos, como por exemplo a encefalopatia espongiiforme ou doença de Creutzfeld-Jakob.

Em relação ao risco de transmissão de doenças virais e bacterianas está, também, relacionado com o tipo de enxerto aplicado. Assim, é praticamente inexistente nos enxertos que não contêm medula óssea e que são processados por agentes químicos, como acontece com os pequenos fragmentos de tecido esponjoso, tiras de cortical diafisária e os descalcificados.

O risco de transmissão de vírus, através de uma transplantação de enxertos ósseos processados e liofilizados, é virtualmente nulo. Numa transplantação de uma cabeça femoral congelada e sem processamento, esse risco é menor do que o da transfusão de uma unidade de sangue (2, 54).

Em síntese, pode dizer-se que se forem cumpridas todas as recomendações sobre os critérios de selecção e realizados os exames serológicos ao dador preconizados pelas Associações Internacionais de Bancos de Tecidos, o risco de transmissão da infecção pelo VIH e por outros vírus através de um enxerto músculo-esquelético é muito baixo, cerca de 1 em 1,6 milhões (23, 57, 58).

CONCLUSÕES

- A transplantação de órgãos e tecidos ocupa um lugar de primeiro plano como solução terapêutica de situações clínicas complexas, em quase todos os campos da cirurgia actual.
- A eficácia clínica dos enxertos alógenos do aparelho locomotor foi demonstrada em numerosos trabalhos na literatura ortopédica. Reflexo disso é a constatação de uma crescente procura e utilização de enxertos ósseos e osteocartilagíneos alógenos, particularmente, na reconstrução de defeitos ósseos causados por descolamentos de artroplastias da anca e por excisão tumoral, apesar da existência de soluções alternativas.
- A conservação e disponibilização de enxertos alógenos do aparelho locomotor, provenientes de dadores humanos não vivos, só é possível em Bancos de Ossos e Tecidos, que possuindo condições estruturais, humanas, técnicas e administrativas adequadas, permitem o aprovisionamento de grandes reservas de enxertos para aplicação clínica.
- A aplicação dos conhecimentos científicos registados nas áreas da segurança microbiológica e biologia de incorporação dos enxertos alógenos, e as modificações da legislação, que regulamenta as transplantações de órgãos e tecidos de origem humana, conduziram, nos últimos anos, a modificações profundas na organização dos Bancos de Ossos e Tecidos e permitiram a disponibilização de enxertos em elevadas condições de segurança e integridade.
- O objectivo de um Banco de Ossos e Tecidos é proporcionar a aplicação de enxertos alógenos seguros e adequados na cirurgia reconstructiva do aparelho locomotor. O risco potencial da transmissão de doenças aos receptores dos enxertos alógenos constitui a sua maior preocupação. Esse risco é remoto se forem cumpridos os rigorosos protocolos de selecção dos dadores, da colheita e controlo microbiológico dos enxertos, efectuado o rastreio serológico adequado e actualizado ao dador e realizada a quarentena dos enxertos.
- Nos dadores em morte cerebral são colhidos enxertos ósseos, osteocartilagíneos e tendinosos e nos dadores em paragem circulatória enxertos ósseos. Neste último caso, como não é possível proceder à quarentena, os enxertos devem ser processados.

- Torna-se relevante que o Ortopedista tenha conhecimento da metodologia seguida pelos Bancos de Ossos e Tecidos na colheita, preparação e conservação dos enxertos, bem como das suas propriedades biológicas, por forma a poder seleccionar o tipo de enxerto mais apropriado para a resolução de cada situação clínica.
- O Serviço de Ortopedia dos HUC organizou, em 1982, um Banco de Ossos, visando a conservação de enxertos para utilização no próprio Serviço. Em Março de 1994, o Banco de Ossos foi remodelado e foram criadas as condições necessárias para passar a ter um carácter Nacional, tendo disponibilizado 3030 enxertos alógenos, no período compreendido entre os anos 1982 e 2000, para o tratamento de várias situações clínicas em Ortopedia, Neurocirurgia e em cirurgia maxilo-facial. A grande maioria destes enxertos foi utilizada na cirurgia de recolocações de próteses da anca.
- O Banco de Ossos e Tecidos dos H.U.C. sofreu, ao longo de 20 anos de actividade, uma evolução na sua organização, no sentido de acompanhar os progressos que se foram registando nesta área. Dispõe de enxertos ósseos e osteocartilagíneos criopreservados (de todos os tipos, dimensões e formas), de enxertos esponjosos e corticais liofilizados, de enxertos corticais descalcificados pelo ácido clorídrico e de enxertos tendinosos criopreservados.
- Os enxertos são colhidos em doadores humanos vivos (cabeças femorais excisadas durante a implantação de artroplastias da anca), em morte cerebral (colheita multiorgânica) e em paragem circulatória. Os critérios de selecção dos doadores (epidemiológicos, clínicos e laboratoriais) cumprem as normas internacionais que regulamentam a actividade dos Bancos de Tecidos.
- As colheitas são realizadas em ambiente de assépsia cirúrgica e os enxertos conservados em azoto líquido. No caso dos enxertos liofilizados, que são posteriormente esterilizados pelos raios- γ na dose de 25 kGy, a colheita é realizada em ambiente não estéril, evitando-se a contaminação maciça.
- No período compreendido entre os anos de 1987 e 2000, foram efectuadas colheitas de enxertos alógenos em 191 doadores cadavéricos e em 323 doadores vivos. Inutilizaram-se 30 colheitas (15,7%) realizadas em

dadores cadavéricos e 108 cabeças femorais (33,4%) provenientes de dadores vivos, por critérios laboratoriais.

- A taxa global de contaminação microbiológica dos enxertos colhidos assepticamente nos dadores cadavéricos e nos dadores vivos, foi de 8,3% e de 18,2%, respectivamente.
- Em 2 dadores cadavéricos, registou-se uma serologia duvidosamente positiva para o antigénio do VIH, considerada pelo Laboratório como um falso-positivo, com o anticorpo para o VIH negativo. Em dois dadores o anticorpo para o vírus da Hepatite C foi positivo, e em 11 dadores os marcadores serológicos para a hepatite B foram positivos ou duvidosos.
- Nos dadores vivos, foram inutilizadas 20 cabeças femorais (6,1%) por apresentarem uma serologia positiva ou duvidosa para o vírus da hepatite B, uma por apresentar o AchTLV-I positivo e outra pela presença de um VDRL positivo.
- A autópsia constitui um elemento suplementar de segurança. Permitiu a exclusão de um dador em morte cerebral que apresentava uma meningite por *meningococcus*, que não foi detectada pelos exames clínico e laboratorial.
- Apesar de a lei portuguesa ser bastante favorável à colheita e transplantação de órgãos e tecidos de origem humana, continua a observar-se, à semelhança do que acontece em todo o mundo, uma escassez de tecidos ósseos alógenos para aplicação clínica.
- No nosso entender, um dos factores, entre outros, que poderá justificar esta situação, prende-se com o rigor dos critérios de selecção dos potenciais dadores e do controlo da qualidade dos enxertos colhidos, que conduzem à exclusão e à inutilização de um número considerável de dadores e de enxertos alógenos.

BIBLIOGRAFIA

- 1.Aspenberg P, Johnsson E, Thorngren KG. Dose-dependent reduction of bone inductive properties by ethylene oxide. J Bone Joint Surg Br 72: 1036-1037, 1990.
- 2.Aspenberg P. Bank bone, infections and HIV. Acta Orthop Scand 69: 559-565, 1998.

3. Bright R, Burchart H. The biomechanical properties of preserved bone grafts. In *Osteochondral allografts*, pp 241-247. Edited by Friedlander G, Mankin H, Sell K, Boston, Little Brown, 1983.
4. Burchardt H. Biology of bone transplantation. *Orthop Clin N Am* 18 (2): 187-196, 1987.
5. Burchardt H: The biology of bone graft repair. *Clin Orthop* 174: 28-42, 1983.
6. Burwell RG. History of bone grafting and bone substitutes with special reference to osteogenic induction. In *Bone Grafts, Derivatives & Substitutes*. Chapter 2: 3-102. Edited by Urist M, O'Connor B, Burwell R, Butterworth-Heinemann Ltd, 1994.
7. Chiron N. Training Course. TMA HIV1/HCV assay. Emeryville, S. Francisco, December 2000.
8. Chiron PH. La stérilisation par la chaleur humide. *Rev Chir Orthop* 84: 49-51; 1998.
9. Chiron PH. La stérilisation par la chaleur humide. Table Ronde du GESTO 1997. *Rev Chir Orthop* 84: 35-63, 1998.
10. Common standards for musculoskeletal tissue banking. European Association of Musculoskeletal Transplantation (EAMST) and European Association of Tissue Banks (EATB), Vienna, 1997.
11. Conrad EU, Gretch DR, Obermeyer KR, et al. Transmission of the hepatitis C virus by tissue transplantation. *J Bone Joint Surg* 77A: 214-224, 1995.
12. Cornu O, Banse X, Docquier PL, et al. Effect of freeze-drying and gamma irradiation on the mechanical properties of human cancellous bone. *J Orthop Res* 18: 426-431; 2000.
13. Dean GS, Holliger EHT, Urbaniak JR. Elbow allograft for reconstruction of the elbow with massive bone loss. Long term results. *Clin Orthop* 341: 12-22; 1997.
14. Deijkers RLM, Bloem RM, Veen MR, et al. Contamination of bone allografts analysis of incidence and predisposing factors. *J Bone Joint Surg Br* 79-B: 161-6, 1997.
15. Delloye Ch. Current situation and future of tissue banking in orthopaedics. In: *Post Graduate Lectures - EFFORT 1*, Masson Ed., 161-172, 1993.
16. Delloye C. Bone banking in orthopaedic surgery. Éditions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS (Paris). *Surgical Techniques in Orthopaedics and Traumatology*, 55-020-E-10, 2000.
17. Delloye C. The bridging capacity of a cortical bone defect by different bone grafting materials and diaphyseal distraction lengthening. An experimental study. Thesis, Catholic University of Louvain, 1990.

18. Delloye C. The use of freeze-dried mineralised and demineralised bone. In *Advances in Tissue Banking*, vol 3: 45-61, Edited By Phillips GO, Strong DM, von Versen R, Nather A, World Scientific, 1999.
19. Delloye C. Tissue allografts and health risks. *Acta Orthop Belg* 60 (suppl 1): 62-67, 1994.
20. Dodd R. The risk of infection transmitted by transfusion. *N Engl J Med* 327: 419-421, 1993.
21. Eggen B, Nordbo S. Transmission of HCV by organ transplantation. *N Engl J Med* 322: 411-417, 1990.
22. Friedlaender G E. Current concepts review. Bone grafts. The basic science rationale for clinical applications. *J Bone Joint Surg Am* 69-A(5): 786-790, 1987.
23. Goldberg VM. Selection of bone grafts for revision total hip arthroplasty. *Clin Orthop* 381: 68-76, 2000.
24. Guide pour le prélèvement, la sélection et la conservation des allogreffes osseuses en 1993. Edité par l'association pour l'étude des Greffes Et Substituts Tissulaires en Orthopédie GESTO, 1993.
25. Henrard D, Reichelderfer P. Assays for the diagnosis of HIV infection. In *Textbook of AIDS Medicine*, Chapter 40, Edited by Merigan TC, Bartlett JG, Bolognesi D, Williams & Wilkins, 1999.
26. Hernigou P, Glorion C, Girard-Pipau F, et al. Libération in vitro et in vivo des antibiotiques à partir des greffes osseuses. *Rev Chir Orthop* 78 (suppl 1): 217, 1992.
27. Hernigou P, Marce D, Juliéron A, et al. Stérilisation osseuse par irradiation et virus VIH. *Rev Chir Orthop* 79: 445-451, 1993.
28. Hirn MYJ, Krusius T. Retesting of bone donors 2 months after donation guarantees sufficient safety of bone allografts. *Acta Orthop Scand* 69: 566-569, 1998.
29. Johnson CA, Brown BA, Lasky LC. Rh immunization caused by osseous allograft. *N Engl J Med* 312: 121-122, 1985.
30. Lelie P, Zaaier H, Cuypers H. Risk of virus transmission by tissue, blood and plasma products. *Transplant Proc* 28: 29-39, 1996.
31. Lemaire R, Masson JB. Risk of transmission of blood borne viral infection in orthopaedic and trauma surgery. *J Bone Joint Surg Br* 82-B: 313-323; 2000.
32. Les substituts osseux en 2001. Monographie éditée par GESTO sous la direction de D. Mainard, Édition Romillat, Paris, 2001.
33. Loty B. Allogreffes osseuses: aspects fondamentaux et techniques de conservation en 1992. *Cahiers d'enseignement de la SOFCOT. Conférences d'enseignement*: 211-237, 1992.

- 34.Mankin HJ, Fogelson FS, Thrasher AZ. Massive resection an allograft replacement in treatment of malignant bone tumors. N Engl J Med 294: 1247-1255, 1976.
- 35.Mankin HJ, Gebhardt MC, Jennings LC, et al. Long-term results of allograft replacement in the management of bone tumours. Clin Orthop 324: 86-97, 1996.
- 36.Marx RE, Carson ER. Tissue banking safety: caveats and precautions for the oral and maxillofacial surgeon. J Oral Maxillofac Surg 51: 1372-1379; 1993.
- 37.Mending JB, Ritter MA, Jones NL et al. Determining the necessity for routine pathologic in uncomplicated total hip and total knee artroplasties. J Artroplasty 15:69-71, 2000.
- 38.Palmer SH, Gibbons CL, Athanasou NA. The pathology of bone allograft. J Bone Joint Surg Br 81-B : 333-5, 1999.
- 39.Poitout DG, Gorce N. Banque d'os: aspects techniques de préparation et de conservation des allogreffes articulaires. Table Ronde du GESTO 1997. Rev Chir Orthop 84: 35-63, 1998.
- 40.Poitout DG. Biologie des allogreffes osseuses. Banques d'os (allogreffes). Symposium, Rev Chir Orthop 74: 112-114, 1998.
- 41.Poitout DG. Biologie des allogreffes osseuses. Rev Chir Orthop 74: 112-114, 1988.
- 42.Proença A. Transplantações ósseas e osteocartilagíneas alógenas. Tese de Doutoramento. Coimbra, 1990.
- 43.Proença A, Judas F, Canha N. Organização de um Banco de Ossos. Rev. Ortop.Traum., 12P, 1B, Fasc. 2, Dezembro de 1986.
- 44.Relatório de actividades do ano 2000. Gabinete de coordenação de Colheita de Orgãos e Transplantação dos H.U.C., 2000.
- 45.Relatório de actividades do ano 2001. Gabinete de coordenação de Colheita de Orgãos e Transplantação dos H.U.C.. 2001.
- 46.RENNDA. Tecnologia Médica, nº 9, pág. 10, 2001.
- 47.Report of a WHO consultation on public health issues related to animal and human spongiform encephalopathies. World Health Organization, WHO/CDS/VPH/92, 104, 1992.
- 48.Safety and quality assurance for organs, tissues and cells. European Association of Tissue Banks (EATB), CDSP Consultation, 2001.
- 49.Sanzén L, Carlsson A. Transmission of T-cell lymphotropic virus type 1 by a deep-frozen bone allograft. Acta Orthop Scand 68: 72-74, 1997.
- 50.Sarmiento C, Gama AD. Enxertos vasculares criopreservados - o estado da arte -. Revista Portuguesa de Cirurgia Cardio-Torácica e Vascular, vol III nº 7: 125-135, 1995.

- 51.SIDA a situação em Portugal a 31 de Março de 2000. Comissão Nacional de Luta Contra a SIDA, Doc. 120, 2000.
- 52.Simonds R, Holenberg S, et al. Transmission of human immunodeficiency virus type I from a seronegative organ and tissue donor. *N Engl J Med* 326: 726-32, 1992.
- 53.Spire B, Barré-Sinoussi F, Montagnier L, Chermann JC. Inactivation of lymphadenopathy associated virus by chemical disinfectants. *Lancet* 2: 899-901, 1984.
- 54.Stevenson S. Biology of bone grafts. *Orthop Clin N Am* 30(4): 543-552, 1999.
- 55.Sugihara S, van Ginkel AD, Jiya TU, et al. Histopathology of retrieved allografts of the femoral head. *J Bone Joint Surg Br* 81-B: 336-341; 1999.
- 56.Taylor FH, Villar RN. Bone allograft: a cause for concern? *J Bone Joint Surg Br* 79-B: 178-80, 1997
- 57.Tomford WW, Mankin HJ. Bone banking. Update on methods and materials. *Orthop Clin N Am* 30(4): 565-570, 1999.
- 58.Tomford WW. Transmission of disease through transplantation of musculoskeletal allografts. *J Bone Joint Surg Am* 77: 1742-1754, 1995.
- 59.Transmission of HIV through bone transplantation. Case report and public health recommendations. *Morbidity and mortality weekly report -MMWR-*, vol 377 nº 39, 1988.
- 60.UNAIDS/WHO (Joint United Nations Programme on HIV/AIDS – World Health Organization). AIDS epidemic update: December 1999. Geneva: UNAIDS and WHO, 1999.
- 61.Veen MR, Bloem RM, Petit PL. Sensitivity and negative predictive value of subcultures in musculoskeletal allograft procurement. *Clin Orthop* 300: 259-263, 1994.
- 62.Vehmeyer SBW, Bloem RM. Bacterial contamination of post-mortal bone allografts. In *Advances in Tissue Banking* vol 3: 33-41, Edited by Phillips GO, Strong DM, von Versen R, Nather A, World Scientific, 1999.