



Artigo Original

Prevalência de marcadores microbiológicos em tecido ósseo de doadores e cadáveres do Banco de Tecidos Musculoesqueléticos de Passo Fundo[☆]

Bruno Dutra Roos^{a,*}, Milton Valdomiro Roos^a, Antero Camisa Júnior^a, Ezequiel Moreno Ungaretti Lima^a, Rafael Noshang Pereira^a, Maurício Luciano Zangirolami^b e Gisela Machado de Albuquerque^b

^a Hospital Ortopédico de Passo Fundo (HOPF), Passo Fundo, RS, Brasil

^b Hospital São Vicente de Paulo de Passo Fundo (HSVP), Passo Fundo, RS, Brasil

INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 14 de abril de 2013

Aceito em 23 de julho de 2013

On-line em 5 de março de 2014

Palavras-chave:

Bancos de ossos

Transplante homólogo/efeito adverso

Doenças virais

Infecções bacterianas

R E S U M O

Objetivo: fazer uma análise epidemiológica dos principais marcadores microbiológicos dos tecidos ósseos processados de agosto de 2007 a outubro de 2011 no Banco de Tecidos Musculoesqueléticos do Hospital São Vicente de Paulo de Passo Fundo.

Métodos: foram feitas 202 captações de tecidos musculoesqueléticos para o Banco de Tecidos. Desse total, 159 foram de doadores e 43 de cadáveres. Foram solicitados testes sorológicos para hepatite B, hepatite C, sífilis, citomegalovírus, doença de Chagas, toxoplasmose, HIV e HTLV.

Resultados: dos 159 doadores, 103 (64,75%) eram do sexo masculino e 56 (35,25%) do feminino. A idade média foi de $59,35 \pm 8,87$ anos. Foram descartados 76 (47,8%) tecidos de doadores. Não houve diferença significativa no número de descartes em relação a sexo ($p=0,135$) ou idade ($p=523$). A principal causa de descarte foi a sorologia positiva para o vírus da hepatite B, responsável por 48 (63,15%) descartes. Já entre os 43 cadáveres, a média de idade foi de $37,84 \pm 10,32$ anos. Desses, 27 (62,8%) eram do sexo masculino e 16 (37,2%) do feminino. Foram descartados seis (13,9%) cadáveres. A principal causa de descarte foi a sorologia positiva para o vírus da hepatite C, responsável por três (50%) casos. Não houve diferença significativa no número de descartes em relação a sexo ($p=0,21$) ou idade ($p=252$).

Conclusão: houve um número maior de descarte de tecidos de doadores (47,8%) em comparação com os cadáveres (13,9%). Nos doadores, a principal causa de descarte foi a presença de sorologia positiva para o vírus da hepatite B; nos cadáveres, para o vírus da hepatite C.

© 2014 Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

[☆] Trabalho realizado no Hospital Ortopédico de Passo Fundo Centro de Estudos Ortopédicos, Faculdade de Medicina da Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, Brasil.

* Autor para correspondência.

E-mail: brunodroos@gmail.com (B.D. Roos).

Prevalence of microbiological markers in bone tissue from live and cadaver donors in the musculoskeletal tissue bank of Passo Fundo

A B S T R A C T

Keywords:

Bone banks
Homologous
transplantation/adverse effects
Viral diseases
Bacterial infections

Objective: to conduct an epidemiological analysis on the main microbiological markers in bone tissue that was processed at the musculoskeletal tissue bank of Hospital São Vicente de Paulo, in Passo Fundo, between August 2007 and October 2011.

Methods: between August 2007 and October 2011, 202 musculoskeletal tissue samples were collected for the tissue bank. Among these, 159 samples were from living donor patients and 43 were from cadaver donors. The following serological tests were requested: hepatitis B, hepatitis C, syphilis, cytomegalovirus, Chagas disease, toxoplasmosis, HIV and HTLV.

Results: among the 159 living donors, 103 (64.75%) were male and 56 (35.25%) were female. The patients' mean age was 59.35 ± 8.87 years. Out of this total, 76 tissue samples (47.8%) from donors were rejected. There was no difference in the number of rejections in relation to sex ($p=0.135$) or age ($p=0.523$). The main cause of rejection was serologically positive findings for the hepatitis B virus, which was responsible for 48 rejections (63.15%). Among the 43 cadaver donors, the mean age was 37.84 ± 10.32 years. Of these, 27 (62.8%) were male and 16 (37.2%) were female. Six of the samples collected from cadaver donors were rejected (13.9%), and the main cause of rejection was serologically positive findings for the hepatitis C virus, which was responsible for three cases (50%). There was no significant difference in the number of rejections in relation to sex ($p=0.21$) or age ($p=0.252$).

Conclusion: there was a greater number of rejections of tissues from living donors (47.8%) than from cadaver donors (13.9%). Among the living donors, the main cause of rejection was the presence of serologically positive findings of the hepatitis B virus, while among the cadaver donors, it was due to the hepatitis C virus.

© 2014 Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. Published by Elsevier Editora Ltda. All rights reserved.

Introdução

Os bancos de tecidos musculoesqueléticos apresentaram um significativo progresso nos últimos anos, tornaram-se uma ferramenta de extrema importância para a feitura de procedimentos cirúrgicos ortopédicos mais complexos e proporcionam uma oferta abundante e segura de materiais osteo-fascio-condro-ligamentares para enxertos.^{1,2} A preocupação dos cirurgiões ortopédicos com a transmissão de doenças por meio dos enxertos ósseos está diminuindo por causa dos rigorosos critérios de seleção, da alta sensibilidade dos testes sorológicos e dos exames seriados feitos durante a captação, o armazenamento, o processamento e a esterilização desses enxertos.³⁻⁸ O Banco de Tecidos Musculoesqueléticos do Hospital São Vicente de Paulo (HSVP) de Passo Fundo foi fundado em 1982 e adequado à nova legislação em 1995, com o objetivo de armazenar adequadamente tecidos ósseos e tendões e beneficiar, assim, o tratamento de pacientes da área de traumatologia e odontologia.

O presente trabalho visa a analisar retrospectivamente a prevalência dos principais marcadores microbiológicos em tecidos ósseos no Banco de Tecidos Musculoesqueléticos do Hospital São Vicente de Paulo em Passo Fundo e as possíveis causas de descarte de material.

Materiais e métodos

Entre agosto de 2007 e outubro de 2011, no Hospital São Vicente de Paulo, foram feitas 202 captações de tecido musculoesquelético para o Banco de Tecidos. Desse total, 159 foram de doadores e 43 de cadáveres.

Os doadores foram submetidos a procedimentos cirúrgicos ortopédicos de artroplastia total do quadril na qual foi retirada a cabeça do fêmur. Foram aplicados um questionário e detalhada história médica pregressa dos doadores, além da coleta de exames laboratoriais no pré-operatório para detecção de doenças infecciosas. Foram solicitados os seguintes testes sorológicos: hepatite B (anti-HBsAg e anti-HBc total), hepatite C (anti-HCV), sífilis (hemaglutinação do *Treponema pallidum*, VDRL), citomegalovírus (anti-CMV IgG e IgM), doença de Chagas (anti-*T. cruzi*), toxoplasmose (anti-toxoplasma IgG e IgM), HIV (anti-HIV 1 e 2) e HTLV (anti-HTLV 1 e 2). Os doadores tiveram as sorologias novamente testadas após seis meses da data de captação. Os tecidos não são liberados para uso antes da obtenção de resultados finais dos testes acima. Os pacientes que tiveram as sorologias positivas para as doenças infecciosas testadas em qualquer uma das amostras ou que entraram nos critérios de exclusão do protocolo tiveram o tecido doado descartado (tabela 1).

Tabela 1 – Critérios de exclusão de tecidos de doadores

Neoplasias malignas	Tratamento com hormônio de crescimento
Aids	Icterícia de causa não obstrutiva
Enfermidades neurológicas degenerativas	Pessoas submetidas a acupuntura, tatuagens e maquiagem definitiva 12 meses antes da doação
Grandes queimaduras	Uso de substâncias tóxicas
Enfermidade de Creutzfeldt Jakob	Tratamento com radioterapia ou quimioterapia (exceto para tratamento de patologias benignas)
Doenças de etiologia desconhecida	Hábitos homossexuais
Malária	Sexo em troca de dinheiro
Infeção bacteriana sistêmica ou fúngica	Heterossexuais com múltiplos parceiros (as) sexuais
Pessoas submetidas à diálise ou parceiros sexuais de dialisados	Acidente com sangue suspeito, exame não confirmado para HIV, hepatite B ou C.
Transplante de órgão ou tecidos no prazo inferior a 12 meses da doação	Detentos ou pessoas detidas por mais de 24 horas em instituição carcerária.
Tuberculose ativa	Pessoas que mantêm relações sexuais com pessoas com testes positivos para HIV e hepatites B e C

A captação do tecido ósseo de cabeça femoral é feita em ambiente cirúrgico, por equipe médica especializada em procedimento de artroplastia primária de quadril. O tecido retirado é submetido a duas coletas para culturas e exames microbiológicos em toda extensão do tecido ósseo. Uma amostra é para cultura de fungos e a outra, para cultura de bactérias. Então, após a coleta de material para exames microbiológicos, o tecido é lavado em solução fisiológica com cefazolina 1 g (500 mL SF 0,9% para 1 g de cefazolina) e procedida a limpeza de todas as partes moles, inserções musculares e do periosteio para posteriormente ser acondicionado em embalagens estéreis triplas lacradas e enviadas ao Banco de Tecidos. Os tecidos selecionados são armazenados em recipientes estéreis colocados em freezer -80°C , com validade de estocagem por até cinco anos após captação, de acordo com as condições ideais de temperatura e as normas estabelecidas pela Anvisa (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) e da AATB (American Association of Tissue Banks). Todos os resultados de testes sorológicos são documentados e arquivados nos registros dos doadores e verificados cautelosamente por biólogos e enfermeiros responsáveis pelo banco de ossos.

Os cadáveres foram cuidadosamente selecionados e avaliados de acordo com as normas e diretrizes estabelecidas pela AATB e pela Anvisa. São doadores potenciais de tecido musculoesquelético pacientes com morte cerebral, com 18 a 70 anos, cujas famílias consentem a doação dos órgãos. O material é retirado em ambiente cirúrgico por equipe especializada formada por quatro ortopedistas, uma bióloga, um enfermeiro e um técnico de enfermagem. Após a coleta, o material é submetido aos mesmos critérios de seleção, exame e armazenamento que o material coletado de doadores.

Os dados foram analisados no programa SPSS 13.0; as variáveis categóricas foram descritas em porcentagem e as variáveis contínuas, em média e desvio-padrão. Usou-se o teste de qui-quadrado para variáveis categóricas e o teste t de Student para variáveis contínuas.

Resultados

Dos 159 doadores de cabeça femoral, entre agosto de 2007 e outubro de 2011, 103 (64,75%) eram do sexo masculino e 56 (35,25%) do feminino. A idade média dos pacientes foi de

$59,35 \pm 8,87$ anos, de $61,0 \pm 8,8$ anos no sexo feminino e de $58,4 \pm 8,8$ anos no masculino. Foram descartados tecidos de 76 (47,8%) doadores, 32 (42%) do sexo feminino e 44 (58%) do masculino. Não houve diferença significativa no número de descartes em relação a sexo ($p=0,135$) ou idade ($p=523$) nos enxertos oriundos de doadores (fig. 1).

A principal causa de descarte foi a sorologia positiva para o vírus da hepatite B, responsável por 48 (63,15%) descartes. Sorologia positiva para citomegalovírus foi responsável por quatro (5,2%) descartes, seguida de sorologias positivas para o vírus de hepatite C, com dois (2,6%) descartes, toxoplasmose, com dois (2,6%) descartes, HTLV, com um (1,3%) descarte, e sífilis, com um (1,3%) descarte. Contaminação bacteriana foi responsável por dois (2,6%) descartes. O *Streptococcus sp.* foi encontrado em ambas as culturas. Contaminação por fungos filamentosos foi responsável por três (3,9%) descartes. Os demais descartes foram por outros motivos, de acordo com os critérios de exclusão. Nenhuma sorologia positiva para HIV e anti-*T. cruzi* foi encontrada no presente estudo (tabela 2).

Entre os 43 cadáveres, 27 (62,8%) eram do sexo masculino e 16 (37,2%) do feminino. A média de idade foi de $37,84 \pm 10,32$ anos. Foram descartados os tecidos de seis (13,9%). Não houve diferença significativa no número de descartes em relação a sexo ($p=0,21$) ou idade ($p=252$) (fig. 2).

Tabela 2 – Causas de descarte de tecido de doadores

Testes microbiológicos e sorológicos	Nº de doadores com testes positivos descartados
HBV (anti-HBsAg e anti-HBc total)	48
HCV (anti-HCV)	2
Sífilis (hemaglutinação do <i>T. pallidum</i> , VDRL)	1
CMV (anti-CMV IgG e IgM)	4
Doença de Chagas (anti- <i>T. cruzi</i>)	0
Toxoplasmose (anti-toxoplasma IgG e IgM)	2
HIV (anti-HIV 1 e 2)	0
HTLV (anti-HTLV 1 e 2)	1
Culturas bacterianas positivas	2
Cultura para fungos positiva	3
Outros critérios de exclusão	13
Total	76

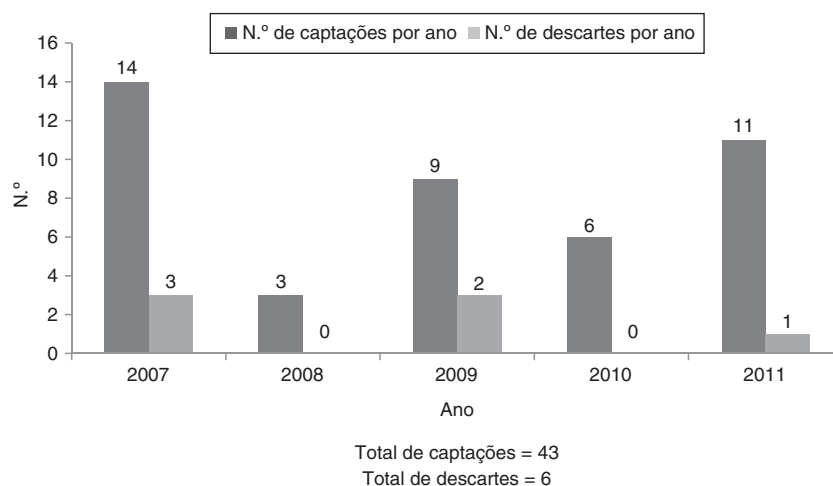


Figura 1 – Relação entre o número de captações de doadores e o de descartes feitos entre 2007 e 2011.

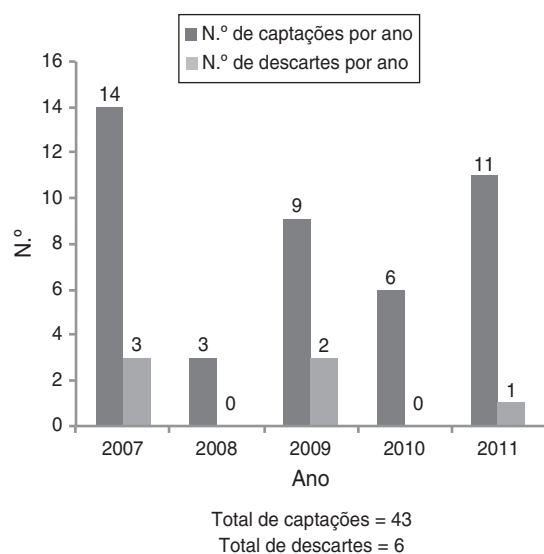


Figura 2 – Relação entre o número de captações de cadáveres e o de descartes feitos entre 2007 e 2011.

A principal causa de descarte entre os cadáveres foi a sorologia positiva para o vírus da hepatite C, responsável por três (50%). Sorologia positiva para toxoplasmose foi responsável por um (16,6%) descarte. Os demais foram excluídos por outros motivos, de acordo com os critérios de exclusão (tabela 3).

Tabela 3 – Causas de descarte de tecido de cadáveres

Testes microbiológicos	N.º de descartes em cadáveres
Hepatite C (anti-HCV)	3
Toxoplasmose (anti-toxoplasma IgG e IgM)	1
Amostra insuficiente para análise	1
Contaminação na coleta do material	1
Total	6

Discussão

O enxerto ósseo em cirurgias ortopédicas está se tornando cada vez mais frequente e é usado em cirurgias de ressecção de tumores, coluna e revisão de prótese do quadril e joelho, além de seqüela de trauma.⁹⁻¹³ O uso de enxerto homólogo de osso oriundo de Banco de Tecidos tem se mostrado vantajoso em muitos aspectos: não há a necessidade de acesso cirúrgico secundário para retirada do tecido, possibilidade de grande quantidade de material e uma variedade de formas anatômicas.^{14,15} Outras vantagens são sua biocompatibilidade, baixa imunogenicidade e seu custo operacional não muito elevado. Anualmente, cerca de 150 mil aloenxertos musculoesqueléticos, que incluem ossos, tendões e cartilagens, são usados por cirurgiões ortopedistas nos EUA.² Diferentemente de outros transplantes, o índice de rejeição óssea é mínimo e o paciente não necessita de medicações imunossupressoras.

A contaminação do material do enxerto ósseo não é um evento incomum e a incidência relatada na literatura médica apontam índices de descarte que variam entre 17% a 50%.⁹⁻¹³ A variação do índice de descartes de tecidos ósseos está relacionada com a incidência de doenças infectocontagiosas por região e também com os cuidados e protocolos estabelecidos na captação e manipulação dos tecidos.¹²⁻¹⁵ Por causa do rigoroso protocolo cumprido em nosso banco, nosso índice de descarte após captação dos tecidos ósseos foi de 40,5% até o momento. Segundo registros na literatura atual, a incidência de contaminação em material de enxertos ósseos oriundo de cadáveres é maior do que a de doadores.¹⁰⁻¹³ O índice de descarte de tecidos musculoesqueléticos captados de cadáveres está relacionado com o tempo entre o óbito e a retirada dos tecidos.¹³

Apesar de o risco de transmissão viral por meio de aloenxertos musculoesqueléticos ser considerado baixo, a maior desvantagem do uso de aloenxertos ósseos é a possibilidade de transmissão de doenças. Tomford⁷ relatou quatro casos de transmissão de HIV e três de transmissão de hepatite C após doação de enxertos ósseos nos EUA, até 1995. Após as

confirmações desses casos, a AATB formulou protocolos rigorosos a serem seguidos pelos bancos de tecidos e especificou normas e cuidados e serem adotados na escolha de doadores, captação, estocagem e no processamento dos tecidos. Desde então, conforme a AATB, e de acordo com as orientações e as normas estabelecidas, a chance de transmissão de HIV em transplantes ósseos nos Estados Unidos é de um em 25 milhões.⁴ No Brasil ainda não dispomos desses dados estatísticos. Em nosso banco, até o momento não há registro de qualquer transmissão de doenças aos receptores de enxerto ósseo.

Estudos recentes observaram que enxertos ósseos congelados, devidamente armazenados e que sigam os critérios de proteção contra contaminações não apresentaram alterações em sua estrutura e mantiveram sua qualidade por tempo indeterminado de armazenamento.³ No entanto, em nosso serviço determinamos o prazo de cinco anos, a contar da data de coleta, para o uso do enxerto armazenado, conforme as normas recomendadas pela Anvisa e pela AABT.

O enxerto ósseo congelado obtido em condições assépticas funciona como base para neoformação óssea e age mais como osteocondutor do que como osteoindutor. Em nosso Banco de Tecidos não trabalhamos com esterilização por meio de radiação. Os tecidos são congelados a fresco e processados em área limpa e estéril (ar classe 100 por fluxo laminar na área de processamento). Por esse motivo, os protocolos e os cuidados na coleta e na manipulação do material são rigorosamente seguidos. Caso haja qualquer tipo de contaminação, os tecidos são descartados. Dessa maneira, é assegurada a segurança do receptor e são reduzidos a níveis insignificantes os riscos de transmissão de doenças.

No Hospital São Vicente de Paulo, a equipe do Dr. Milton V. Roos fez o primeiro transplante ósseo há 30 anos e há 25 anos transplantou o primeiro segmento de terço proximal de fêmur. O hospital consolidou-se como a instituição que tem o Banco de Tecidos Musculoesqueléticos mais antigo do país em operação contínua. Naquela época ainda não havia regras para os transplantes. Em 1997, por meio da Lei n° 9.434, de 4 de fevereiro de 1997, os serviços de transplante de órgãos foram criados oficialmente. Em 20 de setembro de 2002, a Portaria 1.686 do Ministério da Saúde determinou as normas para o funcionamento dos bancos de tecidos musculoesqueléticos em todo o país. Após adaptar-se às novas exigências, por meio da Portaria n° 556, de 5 de outubro de 2005, do Ministério da Saúde, foi regulamentado e autorizado o Banco de Tecidos Musculoesqueléticos do HSVP. Desde a sua regulamentação até o segundo semestre de 2011, fez 202 captações e cedeu 2.650 tecidos para 1.869 receptores.

Conclusão

O enxerto de material ósseo proveniente de banco de tecidos tem se mostrado seguro e é cada vez mais usado em procedimentos ortopédicos de alta complexidade. Existe o risco de transmissão de doenças infectocontagiosas, mas esse risco potencial de contaminação do receptor pode ser reduzido se houver um adequado e rigoroso monitoramento microbiológico.

No presente trabalho, houve um número maior de descarte de tecidos de doadores (47,8%) em comparação com os de cadáveres (13,9%). Esse fato ocorreu, provavelmente, pela idade superior dos doadores em comparação com a dos cadáveres e, conseqüentemente, ao maior tempo de exposição a doenças infectocontagiosas.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

1. Tomford WW. *Musculoskeletal tissue banking*. New York: Lippincott-Raven; 1993.
2. Tomford WW, Mankin HJ. Bone banking. Update on methods and materials *Orthop Clin North Am*. 1999;30(4):565-70.
3. Friedlaender GE. Bone-banking. *J Bone Joint Surg Am*. 1982;64(2):307-11.
4. Alencar PGC, Vieira IFV. Banco de ossos. *Rev Bras Ortop*. 2010;45(6):524-8.
5. Kappe T, Cakir B, Mattes T, Reichel H, Flören M. Infections after bone allograft surgery: a prospective study by a hospital bone bank using frozen femoral heads from living donors. *Cell Tissue Bank*. 2010;11(3):253-9.
6. Yao F, Seed C, Farrugia A, Morgan D, Cordner S, Wood D, et al. The risk of HIV, HBV, HCV, and HTLV infection among musculoskeletal tissue donors in Australia. *Am J Transplant*. 2007;7(12):2723-6.
7. Tomford WW. Transmission of disease through transplantation of musculoskeletal allografts. *J Bone Joint Surg Am*. 1995;77(11):1742-54.
8. Granjeiro RC, Souza BGS, Antebi U, Honda EK, Guimarães RP, Ono NK, et al. Aspectos da distribuição de tecidos musculoesqueléticos de um banco de tecidos. *Acta Ortop Bras*. 2009;17(6):336-9.
9. Zou S, Dodd RY, Stramer SL, Strong DM, Tissue Safety Study Group. Probability of viremia with HBV, HCV, HIV, and HTLV among tissue donors in the United States. *N Engl J Med*. 2004;351(8):751-9.
10. Galea G, Dow BC. Comparison of prevalence rates of microbiological markers between bone/tissue donations and new blood donors in Scotland. *Vox Sang*. 2006;91(1):28-33.
11. Judas F, Teixeira L, Proença A. Coimbra University Hospitals' bone and tissue bank: twenty-two years of experience. *Transplant Proc*. 2005;37(6):2799-801.
12. Sommerville SM, Johnson N, Bryce SL, Journeaux SF, Morgan DA. Contamination of banked femoral head allograft: incidence, bacteriology, and donor follow up. *Aust N Z J Surg*. 2000;70(7):480-4.
13. Lord CF, Gebhardt MC, Tomford WW, Mankin HJ. Infection in bone allografts. Incidence, nature, and treatment. *J Bone Joint Surg Am*. 1988;70(3):369-76.
14. Roos MV, Camisa Junior A, Michelin AF. Procedimentos de um banco de ossos e a aplicabilidade dos enxertos por ele proporcionados. *Acta Ortop Bras*. 2000;8:124-7.
15. Chagas AM, Camisa Júnior A, Dozza PR, Roos MV. O enxerto ósseo homólogo de banco em cirurgia de revisão com prótese total de quadril não cimentada. *Rev Bras Ortop*. 1993;28(5):309-14.