Este artigo de revisão foi escrito segundo as regras do Acordo Ortográfico da Língua Portuguesa de 16 de Dezembro de 1990, publicado no Diário da República nº 193, Série I-A, págs. 4370 a 4388 a 23 de Agosto de 1991

AGRADECIMENTOS

Ao Senhor Professor Doutor Fernando Judas

À Senhora Dra. Margarida Amil

À Isabel Pedro

ÍNDICE

ÍNDICE 5

RESUMO 8

ABSTRACT 10

INTRODUÇÃO 12

MATERIAL E MÉTODOS 15

RESULTADOS 17

Resultados sobre Segurança 20

Resultados sobre Legislação 27

Resultados do Estudo Casuístico 29

Critérios de Seleção do Dador 32

Triagem 32

Rastreio Laboratorial 34

Assepsia e esterilização 38

Hemoculturas 40

DISCUSSÃO 42

CONCLUSÃO 51

REFERÊNCIAS 53

ANEXOS 57

ANEXO 1 Sinais a valorizar no contexto 58

ANEXO 2 Doenças a valorizar no contexto 59

AATB – Associações Americanas dos Bancos de Tecidos

ASST – Autoridade para os Serviços de Sangue e da Transplantação

C – Celcius

CHUC – Centro Hospitalar Universitário de Coimbra

DNA – Desoxiribonucleic Acid

DOPKI – Improving the Knowledge and Practices in Organ Donation

EAMST – European Association of Musculo Skeletal Transplantation

EATB – European Association of Tissue Banks

EUSTITE – European Union Standards and Training in the Inspection of Tissue Establishments

FTA – Fluorescência do anticorpo do treponema

HCV – Hepatitis C virus

HIV – Human immunodeficiency virus

HTLV – Human T lymphotropic virus

HUC – Hospitais da Universidade de Coimbra

NaClO – Hipoclorito de sódio

NaOH – Hidróxido de sódio

OMS – Organização Mundial de Saúde

PCR – Polymerase Chain Reaction

RENNDA – Registo Nacional de Não Dadores

RIHUC – Repositório Institucional dos Hospitais da Universidade de Coimbra

RNA – Ribonucleic acid

SIDA – Síndrome de Imunodeficiência adquirida

TMA – Transcription Mediated Amplification

TPH – Treponema pallidum *haemagglutination*

VDRL – Venereal Disease Research Laboratory

RESUMO

Introdução: O tecido ósseo é o segundo tecido de origem humana mais transplantado. Isto deve-se sobretudo aos avanços científicos nas áreas da segurança microbiológica, imunologia e biologia de incorporação dos aloenxertos e à evolução da legislação internacional que regulamenta as transplantações de órgãos e tecidos. Este trabalho pretende conhecer a forma como tem sido abordada em alguns artigos recentes a temática da segurança dos aloenxertos disponíveis para transplantação, uma das principais preocupações presentes na legislação europeia e nacional sobre Bancos de Tecidos.

Materiais e métodos: Efetuou-se uma pesquisa na PUBMED e na Base de Artigos da Biblioteca Central dos Hospitais da Universidade de Coimbra/Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra para identificar artigos sobre segurança, qualidade e legislação referentes a aloenxertos do aparelho locomotor. Consultaram-se também o *website* da Autoridade para os Serviços de Sangue e da Transplantação, o seu "Manual de Boas Práticas", a legislação nacional vigente, as Diretivas do Parlamento Europeu e Comissão Europeia e a Declaração de Istambul de 2008. Procedeu-se ainda a um estudo quantitativo dos resultados analíticos dos aloenxertos preparados, conservados e disponibilizados pelo Banco de Tecidos dos Hospitais da Universidade de Coimbra entre janeiro 2009 e dezembro 2011.

Resultados: Os artigos pesquisados mostram a preocupação de entidades governamentais, Bancos de Tecidos e utilizadores em que seja estabelecido maior rigor e controlo na aplicação de critérios de seleção de dadores. Evidenciam os avanços das tecnologias laboratoriais e das técnicas de esterilização e o rigor organizativo do controlo de qualidade. A harmonização e regulamentação dos critérios de seleção de dadores facilitam a aplicação de critérios de

segurança e qualidade. Não há relatos significativos de contaminação microbiológica dos aloenxertos, mas o aparecimento de novas doenças infeciosas, como o vírus do Nilo Ocidental, indica a necessidade de constante atualização da triagem e das técnicas de esterilização. Os resultados encontrados no estudo casuístico revelam que a taxa de contaminação e de recusa dos aloenxertos está dentro dos valores de outras unidades de transformação.

Discussão: O risco de transmissão de doenças é remoto se forem cumpridos os protocolos de seleção dos dadores, da colheita e do controlo microbiológico dos aloenxertos. A exigente legislação europeia contribuiu para altos níveis de qualidade e segurança microbiológica na transplantação de órgãos e tecidos, respeitando a dignidade humana e os direitos dos cidadãos. Os Estados-Membros devem implementar diretrizes para os aspetos organizacionais, de gestão, documentação e controlo de qualidade.

Conclusão: A conservação e a disponibilização dos aloenxertos para aplicação clínica só são possíveis em Bancos de Tecidos acreditados. As alterações legislativas da União Europeia originaram profundas reformas estruturais, exigindo elevados padrões de qualidade e segurança biológicas. Embora a transmissão de doenças pelos aloenxertos seja rara, são necessárias uma seleção ainda mais rigorosa do potencial dador e a uma melhoria dos sistemas de qualidade.

ABSTRACT

Introduction: Bone tissue is the second most transplanted tissue of human origin. This is mostly due to scientific advances in microbiological safety, immunology and the biology of allograft incorporation, as well as to the progress of legislation regulating tissue and organ transplantation worldwide. This dissertation aims to understand how the issue of safety and biological quality of allografts for transplantation, one of the major concerns of EU and Portuguese legislation on Tissue Banking, is discussed in recent articles.

Material and methods: Research was carried out in PUBMED and the Central Library of the Hospitais da Universidade de Coimbra/Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra Article database to identify articles on musculoskeletal allograft quality and safety, and relevant legislation. Also consulted were the Autoridade para os Serviços de Sangue e da Transplantação webpage, their Good Practices Manual, the relevant Portuguese legislation in place, European Parliament and European Commission Directives, and the 2008 Declaration of Istanbul. A quantitative study of the analytical results of the allografts processed, stored, and distributed by the Hospitais da Universidade de Coimbra Tissue Bank between January 2009 and December 31st 2011 was also undertaken.

Outcomes: The findings show that government agencies, Tissue Banks, and their users strongly believe that criteria for donor selection should be more strictly set and monitored. Advances in laboratorial technologies and sterilization techniques are emphasized, as is the need for rigour in the adoption, management and monitoring of Quality Control Systems. The measures taken to promote harmonization and regulation of the criteria for donor selection

facilitate the implementation of safety and quality criteria. No significant accounts of allograft microbiological contamination were found. However, the emergence of new infectious diseases, e.g. the West Nile virus, indicates the need for permanent updating of donor selection and sterilization techniques. The case study shows that the Hospitais da Universidade de Coimbra Tissue Bank allograft contamination and refusal rates are similar to those of other processing units.

Discussion: Disease transmission is remote if protocols are rigorously adhered to as concerns donor selection, allograft retrieval and microbiological control. EU legislation on Tissue Banking was of paramount importance to ensure that organ and tissue transplantation is carried out with high levels of quality and microbiological security, and with respect towards human dignity and citizens rights. In compliance with the rules laid down in the European Directive, member states must operate efficient frameworks for quality and safety in all aspects of organization, management, documentation and quality control.

Conclusion: Allograft storage and supply for clinical application is possible only in accredited Tissue Banks. Changes in EU legislation have produced important reforms in the structure of Tissue Banks, leading to high biological quality and safety standards. Although disease transmission via allografts is rare, an even more rigorous selection of donors and improved quality systems are still needed.

INTRODUÇÃO

O primeiro relato de um transplante de aloenxerto num ser humano surge em 1881 (Manyalich et al. 2009), tendo posteriormente começado a surgir os métodos primitivamente utilizados para o armazenamento ósseo (Hartge et. al.1992, Iwamoto et. al.2003). Contudo, o relato do primeiro Banco de Armazenamento dedicado ao tecido ósseo é realizado em 1942, por Inclan (Iwamoto et. al.2003). Nasce assim o conceito atual de Banco de Tecidos, um organismo que faz a triagem dos dadores e o processamento, armazenamento e conservação do tecido de enxerto (Doppelt et.al.1977) disponibilizando aloenxertos biologicamente seguros.

Atualmente são aplicados perto de 1000.000 de substitutos ósseos por ano nos Estados Unidos da América, mais de 450.000 dos quais são aloenxertos ósseos (Strong D 2010), verificando-se recentemente um aumento de aplicação de tecido conjuntivo, nomeadamente dos tendões patelar e de Aquiles, da fáscia lata e do menisco. Dado a procura ser intensa, é necessário que os procedimentos de colheita e preparação sejam efetuados de forma a obter o máximo potencial terapêutico dos aloenxertos[1].

Nos últimos anos, assistimos a importantes avanços científicos nas áreas da segurança microbiológica, da imunologia e da biologia de incorporação dos aloenxertos, assim como a alterações da legislação que regulamenta as transplantações de órgãos e tecidos de origem humana, conduzindo a modificações importantes na organização dos Bancos de Tecidos em todo o mundo (Lister et. al. 2004, Patel 2004, Lawrence et. al. 1999).

A seleção de um potencial dador de aloenxertos ósseos obedece a rigorosos critérios epidemiológicos, clínicos e laboratoriais, constituindo uma etapa crucial na metodologia dos Bancos de Tecidos, independentemente do método da sua preparação. Esses critérios

[1]Newsletter 2009 da DOPKI, consórcio internacional composto por 13 organizações de países da União Europeia, estando Portugal representado pela ASST.

"baseiam-se numa análise dos riscos relacionados com a aplicação dos tecidos ou células específicos. Devem ser identificados indicadores destes riscos por exame físico, uma análise dos antecedentes médicos e comportamentais, análises biológicas, exame post mortem e outras indagações adequadas, no caso de dadores cadáveres." (Lei 12/2009 de 26 de Março)

Portugal é considerado um país com elevada prevalência de SIDA. O total acumulado de casos de SIDA no período compreendido entre 1 de Janeiro de 1983 e 31 de Dezembro de 2010 era de 16370, dos quais 513 causados pelo vírus HIV; destes, 212 casos eram de infeção associada aos vírus HIV1 e HIV2. Durante o ano de 2010, foram notificados 2325 casos de infeção pelo vírus da imunodeficiência humana, tendo nesse ano sido diagnosticados 1020 (43,9%). Da análise da distribuição de casos de SIDA pelas principais categorias de transmissão, estádio, e sexo, desde 1983 a 2010 constata-se que 85,6% correspondem ao sexo masculino. Por grupo etário, verifica-se que 85,6% correspondem a idades entre os 20 e 49 anos, ou seja, uma faixa etária na qual se situa uma parte importante dos potenciais dadores de órgãos e tecidos. A idade média dos dadores passou de 51,3 em 2010 para 48,7 em 2011, com a Mediana de 54 anos, sendo 2/3 dos dadores indivíduos com menos de 60 anos[2]. Estes dados são importantes pois o tecido ósseo tem alterações significativas nas suas propriedades mecânicas após os 65 anos.

Um dos principais objetivos de um Banco de Tecidos é a prevenção da transmissão de doenças aos recetores de aloenxertos. Esse risco é minimizado se forem seguidos escrupulosamente os procedimentos de segurança microbiológica e se forem cumpridas com rigor as disposições legais da legislação portuguesa, que resultam da transposição de Diretivas da Comissão Europeia, relativas à organização dos Bancos de Tecidos. Um Banco de Tecidos deve ter um modelo de organização bem estruturado e definido, um rigoroso controlo de qualidade, incluindo um completo controlo microbiológico dos enxertos, por forma a

[2] Relatório de 2011 da ASST

minimizar o risco potencial da transmissão de doenças ao recetor, nomeadamente as hepatites virais, o HTLV I e II, o HIV e outras doenças microbianas ou fúngicas.

Em Portugal, tendo entrado em vigor no dia 26 de Março de 2009, a Lei n.º 12/2009, de 26 de Março, estabelece o regime jurídico relativo a dádiva, colheita, análise, processamento, preservação, armazenamento, distribuição e aplicação de tecidos e células de origem humana, incluindo células estaminais hematopoiéticas do sangue periférico, do sangue do cordão umbilical e da medula óssea, e de resíduos cirúrgicos. Essa lei transpõe para a ordem jurídica interna as Diretivas n.º 2004/23/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 31 de Março, 2006/17/CE, da Comissão, de 8 de Fevereiro, e 2006/86/CE, da Comissão, de 24 de Outubro.

Estes documentos legislativos são um suporte legal imprescindível para a otimização da organização dos Bancos de Tecidos. Segundo o Artigo 2 do Decreto Regulamentar n.º 67/2007, de 29 de Maio, competia à ASST, fiscalizar a qualidade e segurança da dádiva, colheita, análise, processamento, armazenamento e distribuição de sangue humano e de componentes sanguíneos, bem como garantir a qualidade da dádiva, colheita, análise, manipulação, preservação, armazenamento e distribuição de órgãos, tecidos e células de origem humana. Presentemente, e após nova regulamentação, de dezembro de 2011, as competências da ASST passaram para a Direção-Geral da Saúde e para o Instituto Português do Sangue e da Transplantação

MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia seguida foi a realização de uma pesquisa na PUBMED segundo as palavras-chave, na língua inglesa, "Bone Grafts", "Bone and Tissue Banking", "Tissue Bank Security and Legislation", "Viral Diseases Transmission in Alografts", "Coding", "Traceability", "Transplantation", complementada por uma pesquisa na Base de Artigos da Biblioteca Central do Centro Hospitalar Universitário de Coimbra - Hospitais da Universidade de Coimbra - e na RIHUC sobre o tema "Bancos de Tecidos no Séc. XXI: Legislação e Segurança", sobre trabalhos relativos a estes temas, e uma consulta sobre Legislação, Alertas, Novidades e Circulares sobre o tema em estudo na página oficial da Internet da ASST. Foi realizada também uma consulta ao "Manual de Boas Práticas das Unidades de Colheita, Bancos de Tecidos e Células, Unidades de Aplicação" da ASST assim como às Leis nacionais de, ao Decreto-Lei 553/76 de 13 de julho, à Lei 22/2007, à Lei 12/93 de 22 de abril e à Lei 12/2009 de 26 de março, e ainda às Diretivas 2004/23/CE do Parlamento Europeu, à Diretiva da Comissão de 31 de março 2006/17/CE e 2006/86/CE, assim como à Declaração de Istambul sobre Tráfico de Órgãos e Turismo de Transplante, assinada em 2008. As pesquisas efetuadas nas bases de dados referidas forneceram 200 referências na língua inglesa e 5 em língua portuguesa. Das várias listas de referência foram selecionados estudos de relevo atuais, mais especificamente, a partir do ano 2000. Também foi realizado um estudo quantitativo dos resultados analíticos dos aloenxertos preparados, conservados e disponibilizados pelo Banco de Tecidos dos HUC no período de Janeiro 2006 a Dezembro de 2011.

O Banco de Tecidos dos HUC foi pioneiro a nível nacional, tendo iniciado a sua atividade em 1982. Foi remodelado no ano de 1994, tendo sido dotado de condições estruturais que lhe permitiram fornecer aloenxertos para todo o território nacional. Assim, desde a sua constituição, em 1982, até 31 de dezembro de 2011 disponibilizou 6250 aloenxertos para

cirurgia reconstrutiva do aparelho locomotor, neurocirurgia e cirurgia maxilo-facial. Dispõe atualmente de enxertos ósseos e osteocartilagíneos criopreservados (de todos os tipos, formas e dimensões), de enxertos corticais descalcificados por ácido clorídrico, e de enxertos tendinosos criopreservados[3].

A pesquisa e a sumarização das evidências foram realizadas em exclusivo por um investigador, sendo o método para a avaliação do nível dos estudos o do Oxford Centre for Evidence-based Medicine, atualizado em 2001.

Os principais parâmetros descritos pela literatura foram a segurança e qualidade dos aloenxertos, e a legislação.

[3] Manual do Banco de Tecidos dos HUC - Serviço de Ortopedia, edição de 2010.

RESULTADOS

Os resultados obtidos foram divididos em três grupos diferentes: 1. Estudo das condições de segurança; 2. Legislação que regulamente a colheita, processamento, armazenamento e aplicação dos aloenxertos; 3. Estudo casuístico do Banco de Tecidos dos HUC. O primeiro grupo engloba 14 estudos que abordam as questões de segurança na utilização dos aloenxertos. O segundo grupo engloba 3 artigos sobre a legislação vigente e o terceiro grupo reflete sobre os resultados dos aloenxertos processados e que foram objeto de inutilização durante o período entre 1 de janeiro de 2006 e 31 de dezembro 2011. Para uma melhor sistematização dos resultados deste trabalho, estes foram agrupados segundo os seguintes parâmetros: critério de seleção do dador, triagem, rastreio laboratorial, assepsia e esterilização, e hemoculturas. Devido ao facto de não existirem estudos randomizados e multicêntricos, não foi possível a introdução dos parâmetros de evidência. Há somente dois trabalhos de estudos retrospetivos e dois de estudo prospetivo.

Apesar de em 2009 ter entrado em vigor a Lei n.º 12/2009, de 26 de março, que altera substancialmente as condições de colheita e processamento dos Bancos de Tecidos em Portugal, o período estudado é bastante significativo, havendo uma margem de segurança satisfatória. O facto de o Banco de Tecidos ter iniciado a determinação da PCR em 2009 apenas alterou os tempos de quarentena, que foram diminuídos. As principais características do estudo do primeiro e segundo grupos podem ser observadas na Tabela 1. Os resultados do estudo casuístico dos aloenxertos processados no período anteriormente referido (entre 1 de janeiro de 2006 e 31 de dezembro de 2011) podem ser consultados na Tabela 2 (pág. 20) e na Tabela 3 (pág. 30).

TABELA 1 – CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS ANALISADOS

Estudos	Grupo	Tema	Tipo
Thomas E. E et l.2008	Segurança	Risco de transmissão	Estudo retrospetivo
Judas et al. 2005	Segurança	Estudo casuístico	
R A Smith et al 2001	Esterilização	Irradiação gamma	
Eline W Zwitser et al. 2009	Segurança	Linfoma Células B	
Kappe Thomas et al. 2010	Segurança	Estudo de contaminação	Estudo prospetivo
Cornu Olivier et al. 2011	Segurança	Estudo de tipos de esterilização	
Cobo F et al. 2005	Segurança	Doenças do dador	
Gocke DJ. 2005	Segurança	Seleção do dador e rigor	
Chandrasekar et al 2010	Segurança	Seleção do dador e autópsia	Estudo retrospetivo
Arjmand B et al 2009	Segurança	Marcadores e novas tecnologias de pesquisa	Estudo prospetivo
Manyalich M 2009	Segurança e Qualidade	Intercâmbio de tecidos	
Young L et al 2010	Segurança	Infeção por Mycoplasma	
Kaminski A et al. 2007	Segurança	Formação	
Centers for Disease Control and Prevention (CDC) 2003	Segurança	Infeção por Streptococcus pyogenes	
D. Micael Strong et al . 2010	Legislação	Normas comunitárias	
Birk et al. 2010	Legislação	Aplicabilidade das normas e dificuldades	
Tatarenko A 2006	Legislação	Normas comunitárias	

TABELA 2 – Número de colheitas e aloenxertos no período de 2006 a 2011

Anos	2006	2007	2008	2009	2010	2011	Total
Nº Enxerto dadores não vivos	312	383	420	492	362	322	2291
Nº Dadores não vivos	27	31	37	43	35	34	207
Nº Dadores vivos	54	61	30	18	5	0	168
Nº Enxertos de Dadores vivos	54	61	30	18	5	0	168
Nº Enxertos Disponibilizados HUC e outras Instituições de Saúde	289	243	284	238	292	276	1622
Total de Nº enxertos eliminados							**248**

Nota: Os valores apresentados relativos aos aloenxertos eliminados, que correspondem a 10,08% do número total de aloenxertos, têm por base os seguintes motivos: HCV, adenocarcinoma, resultados analíticos não conclusivos: Hepatite C, HIV, *Stafilococus coagolase negativa, Streptococus viridans*.

Resultados sobre Segurança

Thomas E et al.2008

Neste estudo foram pesquisadas todas as informações disponíveis para agrupar e relatar os tecidos que tinham sido distribuídos pelos Bancos de Tecido no período de janeiro de 1994 a 30 de junho de 2007. O estudo envolveu 63 Bancos dos Estados Unidos. O risco global de transmissão de doenças víricas pelo aloenxerto é muito baixo. Contudo, quando estas situações ocorrem é porque existe uma inadequada triagem do dador ou insuficiência dos testes laboratoriais. A ocorrência de infeção bacteriana foi relacionada com o aumento de tempo entre a morte do dador e o tempo de colheita. O estudo revelou que a grande fonte de contaminação é exógena. Os métodos utilizados para a cultura do tecido do dador também são pouco eficientes, devendo ser analisados fragmentos de tecido.

A incidência de transmissão de HIV a partir do aloenxerto é diminuta e está estimada numa ratio de 1 para 6.000.000. No entanto, o aparecimento de novas doenças infeciosas, como o vírus do Nilo Ocidental ou o HCV, aponta para a necessidade de atualizações e novas regras para a triagem dos dadores, e de novas tecnologias de esterilização. Os autores preconizam o teste com ADN. Devem existir orientações e novas pesquisas, sendo também necessário um sistema de notificação de efeitos adversos, assim como medidas adicionais de proteção, como a esterilização dos tecidos, sem que tenha impacto na capacidade biomecânica do enxerto ou da sua incorporação.

Judas et al. 2005

Os autores relatam a taxa de contaminação microbiológica de 3953 aloenxertos de tecidos alógenos obtidos no período de 1982 a 2003. No período de 1987 a 2000, foram realizadas 191 colheitas em dadores cadáver e 323 em dadores vivos. No primeiro grupo foram

excluídas 30 colheitas (15,7%) por critérios laboratoriais. Nos dadores vivos, foram excluídas 108 cabeças femorais (33,4%) pelos mesmos critérios laboratoriais. A taxa de contaminação microbiológica dos aloenxertos colhidos no bloco operatório foi de 8,3% para os dadores cadáver e de 18,2% para os dadores vivos. Foi observada sorologia positiva para o antigénio HIV em dois dadores de coração parado. Foi registada a positividade do anticorpo do HCV em outros dois dadores vivos. Os marcadores da hepatite B foram positivos ou inconclusivos em 11 dadores de coração parado. Nos dadores vivos, 20 cabeças femorais (6,1%) foram excluídas por apresentarem resultados positivos ou inconclusivos para a hepatite B. Um dador vivo apresentou anticorpo HTLV-1 positivo e outro apresentou sorologia positiva para a sífilis. Não foi encontrado qualquer caso de sorologia positiva para anti-HIV. Não houve nenhum caso de registo de transmissão de doenças virais do dador ao recetor. Os critérios, extremamente rigorosos, levaram à exclusão de um número importante de dadores e aloenxertos.

R A Smith et al. 2001

Este trabalho teve como objetivo o estudo da inativação por irradiação do HIV1. A capacidade de replicação do HIV foi avaliada pela presença de atividade da transcriptase-reversa e estudos da imunofluorescência para o antigénio p24. Os resultados demonstraram a presença de replicação viral ativa em células que foram expostas até doses de 5,0 Mrad de radiação gamma. A radiação gamma próxima de 10Mrad[4] altera as propriedades das células. Os autores concluíram que a radiação gamma de 1,5-2,5 Mrad não é viricida para o HIV1 e há necessidade de desenvolver melhor as tecnologias de triagem dos dadores e os procedimentos de preparação.

[4] O rad é a unidade de medida, 1 Mrad equivale a 1000 rad

Eline W Zwitser et al. 2009

Estes autores realizaram um estudo histopatológico das cabeças femorais retiradas por artroplastia total da anca e incluíram-nas no protocolo do Banco de Tecidos, de acordo com as recomendações das Associações Americanas dos Bancos de Tecidos (AATB) e da Associação Europeia de Transplantação Músculo Esquelética (EAMST). Este estudo decorreu de 1994 a 2005. De 852 cabeças femorais, 14 (1,6%) apresentavam alta suspeição de linfoma de células B de baixo grau de malignidade. Das 852 cabeças, 504 foram consideradas aptas para transplante de osso, de acordo com os critérios do AATB e do EAMST (testes de rastreio sorológicos protocolados e culturas microbiológicas) e 6 cabeças femorais (1,2%) apresentavam alta suspeição de linfoma de células B. No acompanhamento a longo prazo dos dadores de cabeça femoral, 2 (0,2%) desenvolveram a doença maligna sistémica e um deles necessitou de tratamento médico. Os autores concluíram que, apesar de não existir comprovação de transmissão alogénica da doença, a avaliação histopatológica de rotina de todas as cabeças femorais removidas por artroplastia primária total da anca é uma ferramenta de controlo de qualidade para avaliação das cabeças femorais aproveitadas para o Banco de Tecidos.

Kappe Thomas et al. 2010

Este trabalho analisa prospetivamente o processo de triagem de doações de ossos e o resultado de cirurgias que utilizaram osso alógeno de cabeças femorais de dadores vivos. Foram aplicados 188 aloenxertos em 160 doentes, que foram seguidos num período de entre 12 a 36 meses. Ocorreram infeções bacterianas em 11 doentes (6,9%). Os autores fizeram a revisão clínica e dos resultados de revisão intraoperatórios, tendo concluído que nenhuma das infeções era suscetível de ter sido ocasionada pelo aloenxerto ósseo. Não foi verificada qualquer infeção por HIV. Os autores concluíram que os aloenxertos congelados a partir de

dadores vivos podem ser considerados seguros. No entanto, considerou-se serem necessários mais estudos clínicos.

Cornu Olivier et al. 2011

Os autores realizam um estudo sobre a associação de liofilização e a irradiação com raios gamma a Kgy 25[5]. O estudo foi realizado com osso esponjoso de cabeças femorais. A irradiação do osso congelado não causou qualquer redução significativa das propriedades mecânicas. A adição do processo de liofilização, antes ou depois da irradiação, resultou em alterações das propriedades mecânicas do osso congelado. Assim, os autores concluíram que a irradiação do osso esponjoso congelado não alterou as suas propriedades mecânicas, a liofilização sem a irradiação não alterou as propriedades mecânicas, mas a combinação da irradiação com a liofilização mostrou um efeito prejudicial, apoiando a ideia de um efeito sinérgico negativo entre os dois procedimentos.

Cobo F et al. 2005

Os Bancos de Tecidos devem assegurar a qualidade, rastreabilidade e segurança de culturas para o transplante e devem implementar medidas para evitar a contaminação do produto final. Os autores fazem referência à necessidade de se avaliar outras patologias nos dadores quando são diagnosticados micro-organismos infeciosos, como o vírus do HIV, da HCV e linfoma T. As outras patologias que também devem ser investigadas nestas situações são a encefalopatia espongiforme e o síndrome respiratório agudo. Por outro lado, a introdução de testes de amplificação do ácido nucleico pode reduzir o período de janela. Os autores realçam igualmente a necessidade de realização da monitorização microbiológica ambiental das salas brancas. O risco de contaminação viral a partir de produtos de origem animal, como o soro de

[5] Algumas nomenclaturas mais antigas utilizam esta designação. 1 Kgy equivale a 1Mrad

bovino e fibroblastos de rato, utilizados para o desenvolvimento de linhas de células embrionárias, deve ser também considerado.

Gocke DJ. 2005

O autor refere a existência na literatura médica de relatos que indicam que a aplicação de aloenxertos associada à infeção é atribuída principalmente a violação de procedimentos adequados ao processamento de tecidos. Refere igualmente a necessidade de existir um sistema eficaz que garanta a qualidade do aloenxerto. No ano de 2002, a Musculoskeletal Transplant Foundation referiu que, para um universo de 10497 de potenciais dadores, apenas 4431 (42%) preencheram os critérios rigorosos para a colheita. Após a colheita, mais de 10% dos dadores foram rejeitados, principalmente por causa da positividade dos testes de doenças infeciosas (45%) ou por achados na autópsia (31%). O autor salienta que são necessários um rigoroso protocolo na seleção dos potenciais dadores e a confirmação de ausência de doenças infeciosas no aloenxerto pela autópsia e pelos exames laboratoriais. Após a aplicação de mais de 2 milhões de aloenxertos em 15 anos, a Musculoskeletal Transplant Foundation não teve casos confirmados de infeção do aloenxerto.

Chandrasekar et al 2010

A Diretiva 2006/17/CE da Comissão Europeia prevê a avaliação de toda a informação médica do dador antes de os aloenxertos serem disponibilizados para uso clínico. Os autores investigaram as razões médicas da exclusão de dadores após o processamento, permitindo assim ter um melhor conhecimento sobre a situação, permitindo a maximização da segurança das doações. As informações foram recolhidas a partir dos Serviços que regulamentam os processos de transplantes, tendo sido analisados 1000 dadores falecidos. Dos 1000 dadores, 60 (6%) foram excluídos por não preencherem os requisitos de seleção. As principais razões para a exclusão médica foram a presença de infeção local ou sistémica significativa em 32

dadores (53% dos excluídos por razões médicas) e história de doença maligna no passado ou de doença oculta em 9 dadores (15% dos excluídos por razões médicas). A informação que originou a exclusão após o processamento foi a autópsia em 35 dos 60 dadores excluídos por razões médicas (58%) e pelas informações do médico assistente, em 10 dadores (17% dos excluídos por razões médicas). Os autores concluíram que a avaliação cuidadosa dos registos do dador reduz o risco potencial de transmissão de doenças por aloenxertos e garante a conformidade com os regulamentos e orientações. Estes factos podem levar a mudanças nas políticas de seleção dos dadores, com o objetivo de melhorar a eficiência sem comprometer a segurança.

Arjmand B et al 2009

Os autores relatam um estudo efetuado no Banco de Tecidos Iraniano sobre a prevalência de HTLV no soro em dadores de tecidos. O estudo realizado englobou 1548 dadores de tecidos e durou cinco anos, tendo sido utilizado o teste ELISA. Foram pesquisados os anti-corpos HTLV (1,2) e os exames padronizados pela AATB em todos os dadores (HIV, HBV, HCV, sífilis, HTLV, CMV). Cerca de 25 (1,61%) dos 1548 dadores estudados eram HTLV positivos, sendo 17 do sexo masculino e 8 do sexo feminino. Devido à prevalência do HTLV entre os dadores e dada a importância da segurança e da garantia de qualidade, os autores recomendam que todos os Bancos de Tecidos devem realizar a pesquisa por vários meios ao dispor, tais como a PCR, para o diagnóstico de HTLV.

Manyalich M 2009

O Hospital Clinic I Provinçal de Barcelona realizou um trabalho cujo objectivo foi analisar os fatores que influenciam a qualidade e a segurança dos tecidos para transplantes, bem como desenvolver uma metodologia para garantir padrões de qualidade e segurança, tal como é exigido pela Diretiva Comunitária de 2004/23/CE. Foram organizados 4 grupos de trabalho e

o grupo encarregado deste estudo realizou um protótipo de registo multinacional de tecido músculo-esquelético, tendo sido igualmente levada a cabo uma avaliação da eficácia e da sustentabilidade dos resultados. Os autores demostraram que é possível o intercâmbio, com níveis de segurança e qualidade, de tecidos entre os estabelecimentos europeus. Este modelo demonstrou também a sua eficácia na formação e na obtenção de experiência dos profissionais.

Young L et al 2010

O Mycoplasma é um organismo procariótico que contamina as células frequentemente e de forma oculta. Devido às suas pequenas dimensões, este microrganismo pode passar pelos filtros utilizados para evitar a contaminação bacteriana e fúngica. Para evitar a contaminação, os autores recomendam a utilização de técnicas baseadas na PCR: a coloração indireta, ágar e cultura em caldo. Esta pesquisa demora de 1 a 3 semanas e estes testes devem constituir uma componente obrigatória do controlo de qualidade.

Kaminski A et al. 2007

O objetivo principal do projeto do Sistema Europeu de Qualidade para os Bancos de Tecidos é analisar todas as diferentes áreas de trabalho e os fatores que podem influenciar a qualidade do tecido final e a segurança para o transplante, proporcionando maiores vantagens para os beneficiários desses transplantes. Participam neste projeto 15 organizações e estruturas de Bancos de Tecido de 12 países europeus. Este projeto tem 4 grupos de trabalho distribuídos por áreas específicas: Grupo de Trabalho de Normas, que analisa diferentes padrões de Qualidade e Segurança utilizados em diversos Bancos de Tecidos europeus, Grupo de Trabalho para a criação de um registo de tecidos através de um banco de dados europeu, Grupo de Trabalho da Educação, que criou um modelo de formação especializado para os funcionários dos Bancos de Tecido e um Grupo de Trabalho de Auditoria, que estuda um

modelo europeu de auditorias para os centros de tecido. O objetivo dos autores foi descrever as atividades do Grupo de Trabalho da Educação, projetando e validando um modelo de formação especializado para o pessoal do Banco de Tecidos e que poderá ser o sistema de ensino aprovado e recomendado pelos membros da União Europeia.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC) 2003

Em 2002, cerca de 1 milhão de aloenxertos foram distribuídos para transplante, segundo os dados da AATB. Relatórios de infeções associadas à aplicação de aloenxertos originaram a avaliação de métodos de processamento e controlo de qualidade utilizados. Os autores descrevem um caso de doença invasiva com *Streptococcus pyogenes* (Streptococcus do grupo A) depois de uma cirurgia de ligamentoplastia do joelho. Embora as infeções por aloenxertos sejam raras, os autores destacam a necessidade de uma avaliação mais rigorosa dos tecidos e de uma melhoria dos padrões de processamento.

Resultados sobre Legislação

D. Micael Strong et al. 2010

Estes autores abordam o problema da regulamentação dos aloenxertos e destacam a sua importância para que haja um conhecimento e exista uniformidade e padronização na codificação e rotulagem dos tecidos. Devido ao intercâmbio de órgãos e tecidos, a rastreabilidade pode ser difícil ou mesmo impossível. Foram criados sistemas de vigilância de tecidos e de reações adversas, bem como sistemas de qualidade. As Organizações de Bancos de Tecidos (a AATB nos Estados Unidos e a EATB na Europa) publicaram normas que exigem melhor organização dos Bancos de Tecidos. Para solucionar esta situação, a OMS

preconiza que a eficácia dos sistemas de vigilância deve ser medida pela análise dos resultados mas também pela utilização dos sistemas de segurança. Foram criados vários organismos de Biovigilância e existe na Europa comunitária um organismo de ajuda (EUSTITE) aos Estados-Membros para a formação e orientação em áreas específicas de eventos e notificação de reações adversas. Durante 2008 e 2009 foram testadas várias ferramentas de vigilância do EUSTITE em 20 Estados-Membros, tendo sido relatados mais de 300 eventos adversos. Há necessidade de estabelecer normas legislativas que regulamentem os Bancos de Tecidos, nomeadamente em relação a seleção do dador, colheita, processamento, armazenamento, distribuição, rastreabilidade, e normas de segurança e de qualidade.

Birk et al. 2010

Os Bancos de Tecidos da Comunidade Europeia foram reestruturados, tendo por base a Directiva 2004/23/CE. Os objetivos desta reestruturação eram a melhoria da segurança do fornecimento do tecido ósseo e a facilitação do intercâmbio interno. Este trabalho realiza um estudo de entrevista com a finalidade de explorar o efeito da Diretiva Comunitária sobre os Bancos de Tecidos da Dinamarca em termos de restruturação organizacional, oferta da variedade da troca e custos económicos. Os autores concluíram que a restruturação preconizada levou a um aumento importante da carga de trabalho, sendo duvidoso se vai aumentar a oferta e a variedade da troca. Além disso, a transposição daquela Diretiva está associada a um custo adicional considerável. Por último, o estudo revelou que os elementos do processo de segurança foram idealizados pelos cirurgiões para evitar que potenciais dadores sejam recusados.

Tatarenko A 2006

O autor reflete sobre a legislação europeia das transplantações e Bancos de Tecido e o seu impacto. As extensas normas e recomendações da U.E. estabelecem requisitos juridicamente vinculativos. A existência de um conjunto comum de padrões facilita a cooperação entre os diferentes sistemas de saúde, especialmente em casos de emergência e questões de importação e exportação. A adoção dos mesmos sistemas de qualidade de gestão e de rastreabilidade ajuda a minimizar os riscos e a evitar transmissões de doenças. Por outro lado, pretende-se que os doentes que sejam submetidos a tratamentos no exterior dos seus países de origem tenham mais confiança. No entanto, para a aplicação destas novas regras comunitárias, os Bancos de Tecido tiveram de introduzir alterações técnicas e estruturais.

Resultados do Estudo Casuístico

No que se refere ao Banco de Tecidos dos HUC, entre 2006 e 2011, foram efetuados 2291 enxertos alógenos em 207 dadores em ambiente de colheitas multiorgânicas e 168 aloenxertos em dadores vivos (cabeças femorais na condição de resíduo cirúrgico).

Foram disponibilizados 1622 aloenxertos para os HUC e outras instituições de saúde. Invalidaram-se 248 aloenxertos (10%) provenientes de 19 dadores cadáver (colheitas multiorgânicas) e de 41 dadores vivos (resíduo cirúrgico). A invalidação foi devida a contaminação microbiológica, testes HIV e HCV positivos ou inconclusivos, adenocarcinoma e alteração do estado de embalagem do aloenxerto, conforme a Tabela 3.

TABELA 3 –Proveniência dos aloenxertos invalidados no período de 2006 a 2011

	Aloenxertos invalidados	Dadores cadáver	Dadores vivos
	248	**19**	**41**
microbiologia positiva		12	2
HBV		1	8
HVC		0	12
HTLV1/2		0	5
HIV		1	0
ausência de quarentena		3	2
rejeição de aloenxerto renal		1	
danificação da embalagem		1	0
protocolos laboratorias insuficientes			10
doença de Guillan-Barré			1
adenocarcinoma			2

Nota: Os valores apresentados dos aloenxertos inviabilizados correspondem a 10,08 % do total dos aloenxertos. O número total dos aloenxertos colhidos foi de 2291. Total de 248 aloenxertos invalidados provenientes de 19 dadores cadáver (colheitas multiorgânicas) e 41 dadores vivos (resíduo cirúrgico)

A taxa de invalidação nos dadores vivos foi de 24,4% e nos dadores cadáver de 9 %. Nestes últimos, as causas de invalidação dos aloenxertos de 18 colheitas foram as seguintes: culturas microbiologicas positivas – *staphylococcus aureus*, *staphylococcus coagulase negativa*, *streptococus viridans* – (12 colheitas); sorologia inconclusiva para o antigénio do HIV (1 colheita); anticorpo positivo para HBV (1 colheita); falta de quarentena (3 colheitas) e rejeição de aloenxerto renal vascularizado (1 colheita). Um aloenxerto ósseo foi invalidado por danificação da embalagem.

Nos dadores vivos as causas da invalidação foram as seguintes: culturas microbiológicas positivas – *staphylococcus aureus, corynebacterium* – (2 casos);. sorologia positiva o VHC

(12 casos), para o anticorpo da VHB (8) e para o HTLV1/2 (4); falta de quarentena (2); protocolos laboratoriais insuficientes (10); adenocarcinoma (2) e doença de Guillan-Barré.

Em outros 12 dadores, os aloenxertos apresentavam cultura positiva: 8 para o *staphylococcus staphylococcus aureus*, 2 para *staphylococcus coagulase negativa* e 2 *para o streptococus viridans*. Em três dadores os aloenxertos foram inutilizados porque não foi possível efetuar a quarentena. Num outro caso, o recetor de um aloenxerto vascularizado de rim desencadeou uma rejeição grave. Um aloenxerto ósseo foi invalidado por danificação da embalagem. Em duas situações, os dadores faleceram antes do período do término da quarentena, impossibilitando a confirmação sorológica. Em 10 outros dadores, não foram realizadas com rigor as colheitas laboratoriais do protocolo. Noutros 12 dadores, as sorologias para o VHC foram positivas. Em 8 dadores foram positivos os resultados sorológicos para Hepatite B e em 5 dadores a sorologia foi positiva para o HTLV 1/2. Nos aloenxertos provenientes dos resíduos cirúrgicos registou-se uma alta taxa de invalidação, por duas razões essenciais: 1- nem todos os dadores eram submetidos aos protocolos analíticos, implicando a inviabilização dos aloenxertos; 2- não existia uma equipa cirúrgica rotinada nestes procedimentos de colheitas e atenta aos problemas da contaminação.

Critérios de Seleção do Dador

Triagem

1 — A colheita de tecidos e células de origem humana e a sua aplicação em seres humanos só pode ser efectuada após terem sido cumpridos todos os requisitos obrigatórios relativos ao consentimento informado previstos no artigo 8.o do anexo à Lei n.o 22/2007, de 29 de Junho, e no anexo IV da presente lei, da qual faz parte integrante, sem prejuízo do disposto na legislação que regulamenta a utilização e aplicação de técnicas de procriação medicamente assistida.

2 — Para a colheita de resíduos cirúrgicos deve obter-se o consentimento informado dos dadores, aplicando-se os mesmos princípios aplicáveis ao dador vivo (artigo 24, Lei n.º 12/2009 de 26 de Março)

Antes da colheita de células ou tecidos de um potencial dador não vivo e após a consulta sobre a eventual manifestação da sua qualidade de não dador junto do Ministério da Saúde, no RENNDA, são efetuadas a pesquisa de informações e a exploração física do corpo (ver Anexo 1 e Anexo 2), procurando identificar: hábitos de alto risco, viagens recentes, sinais de infeção por HIV ou sinais de hepatite, infeções bacterianas ou víricas, traumatismos localizados nas zonas que podem afetar a qualidade do tecido a colher. A Diretiva 2006/17/CE da Comissão Europeia, transposta para a Lei da República Portuguesa nº 22/2007 de 29 de junho, regulamenta este procedimento. Por outro lado, há uma ficha de avaliação do dador adequada a todas as situações relativas ao território nacional.

A autópsia anatomopatológica permite o diagnóstico de diversas afeções que não são despistadas pelo exame clínico e pelos marcadores sorológicos, como por exemplo a doença

de Creutzfeld-Jakob.

Os dadores vivos de tecidos e células para uso alogénico também são submetidos a critérios seletivos que têm em conta a história clínica, os hábitos sociais e os resultados das provas laboratoriais realizadas para o estudo do estado de saúde do dador. Deve ser seguido o mesmo critério geral de exclusão que se descreveu para os dadores não vivos.

Têm sido apontadas incidências relativamente elevadas de linfomas de baixo grau de células B em doentes dadores vivos de cabeças femorais (Eline et. al. 2009). Outros estudos apresentaram evidência de células vivas no tecido dador após a criopreservação de rotina (Weyts et. al. 2003, Simpson et. al. 2007). O potencial risco de transmissão ao receptor de doenças a partir do dador, por estas células, ainda é incerto. É necessária assim a realização de exames histológicos de rotina (Palmer et. al.1999), uma vez que tem aumentado o número de doentes com alterações do sistema linfático provocadas por proliferação de células linfocíticas B e T (Devesa et. al. 1992, Coebergh et. al. 1995, Mele et. al. 2002, Talamini et. al. 2006, Joyce 2008). Ainda não há explicação para estas evidências, mas julga-se que poderão estar associadas ao aumento de diversos fatores de risco, tais como dieta, fatores ambientais e ocupacionais, substâncias utilizadas na indústria de cosméticos, vírus, infeção por hepatite C e transfusões de sangue (Negri et al. 2004). Ainda não é possível uma explicação para os aumentos de casos de Linfoma B (Inclan 1942, Doppelt et. al. 1997). Recentemente têm surgido na literatura interrogações sobre a necessidade de serem realizados exames de rotina para despiste do linfoma, tendo em consideração o pouco significado clínico que representa (Burwell 1994, Raab et. al. 1998, Lawrence et. al. 1999, Kocher et. al. 2000). Outros estudos, porém, aconselham a avaliação por rotina, sendo essa pesquisa um sinónimo de ferramenta de controlo de qualidade (Lauder et. al. 2004).

Rastreio Laboratorial

A realização de um rastreio laboratorial ao potencial dador e aos enxertos colhidos tem como objetivo detetar a presença de agentes infeciosos transmissíveis.

Há relatórios recentes de transmissão de doença infeciosa após a aplicação de aloenxertos, mas a maioria destas infeções foi verificada após a utilização de aloenxertos com tecidos moles. No entanto, a grande maioria das infeções é de origem bacteriana, embora também haja registo de vírus da hepatite C (HCV) e de vírus da imunodeficiência humana (HIV). A transmissão da hepatite por um aloenxerto ósseo está descrita desde 1954 num caso de aplicação de aloenxerto congelado de cabeça femoral (Fonseca F 1995).

O risco de transmissão do vírus de HIV por aplicação de aloenxerto é estimado numa ratio de 1 em cada 1,6 milhões (Boyce et. al. 1999).

Em 1994, ao utilizar-se apenas os exames de 3ª geração para a deteção do HIV, o risco de transmissão deste vírus através de um dador de tecidos era de 6 por milhão (Delloy 1993) [6]. O risco diminuiria se fossem considerados o valor do processamento e da quarentena [7] dos enxertos. Presentemente, com os exames da 4ª geração e com a pesquisa de DNA para o HIV e HCV e HBV, o risco de transmissão é de 1 para 1 milhão. Em Portugal, a obrigatoriedade da realização dos testes de DNA existe a partir de 2009, com a Lei 12/2009.

As infeções dos aloenxertos parecem estar associadas ao aumento do tempo entre a morte do dador e o tempo de colheita, sendo a fonte de contaminação na grande maioria das vezes exógena (Deijkers et. al. 1997). Recentemente a transmissão bacteriana tem sido documentada em estudos e a adição de soluções antimicrobianas (iodo e álcool) ou antibióticos

[6] Calculado a partir de dados epidemiológicos na Bélgica e tendo por referência um período de janela sorológica de 22 dias.

[7] Os produtos em quarentena deverão ser separados dos produtos validados e identificados de forma inequívoca, a fim de evitar a sua utilização antes da adoção das medidas apropriadas por parte das pessoas qualificadas e designadas para esse efeito.

(gentamicina e polimixina) pode diminuir esse efeito. No entanto, como estas soluções não penetram no tecido, somente são eficazes na superfície[8], sendo que as contaminações após a invasão *post mortem* da flora intestinal podem permanecer nos tecidos mais profundos.

Os métodos utilizados para a cultura dos tecidos do dador são processos críticos, pois não basta realizar as colheitas dos líquidos envolventes e utilizados no processamento, sendo necessárias a análise e a cultura dos tecidos. 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.

Apesar de a incidência do HIV a partir do aloenxerto ser baixa, as boas práticas e a legislação impõem a determinação dos marcadores biológicos para este vírus (AcVIH-1/2) assim como para os vírus da hepatite B (AgHBs, AcHBc) e para o vírus da hepatite C (AcHCV) independentemente do tipo de processamento a que o enxerto venha a ser submetido. Qualquer positividade leva à inutilização formal dos enxertos.

O vírus HTLVI, descoberto em 1980, é responsável por leucemias e linfomas de células T do adulto e pela paraplegia espástica. O período de latência entre a contaminação e os primeiros sinais clínicos varia entre 15 e 20 anos, e a doença é fatal de forma rápida. O Japão, a Bacia das Caraíbas e as Antilhas são zonas endémicas, sendo a prevalência nas Antilhas de 2 a 3% (Palmer et. al. 1999). A legislação comunitária, revertida para a legislação nacional na Lei nº 22/2007 de 29 de junho, especifica nos critérios de seleção a obrigatoriedade de exclusão de potenciais dadores de proveniência de zonas endémicas. Os toxicodependentes constituem uma população de risco. Presentemente, o diagnóstico de uma infecção pelo vírus HTLV é realizado pela pesquisa de anticorpos AcHTLVI/II.

Conhece-se desde 1997 um caso de transmissão do HTLVI por transplantação de enxerto ósseo congelado (Sanzén 1997).

[8] A rifampicina terá uma ligação mais profunda aos tecidos.

A presença do anticorpo CMV num dador não implica a rejeição dos enxertos. Há uma grande percentagem de resultados positivos na população adulta (40 a 60%). Sendo o CMV um vírus patogénico de elevada frequência, pode ocasionar infeções mortais em doentes imunodeprimidos, como nos doentes com programas de quimioterapia, embora esse risco não esteja confirmado. É aconselhável na população infantil e nos imunodeprimidos e não portadores da imunização contra o CMV selecionar-se um dador que apresente CMV negativo.

O rastreio sorológico da sífilis deve ser realizado através de dois exames diferentes, VDRL e TPHA[9] e/ou FTA. A pesquisa por rotina dos marcadores sorológicos para a sífilis não é consensual nem é realizada por todos os Bancos de Ossos e Tecidos porque o treponema é inativado após 7 horas com temperatura inferior a 4 º C. No entanto a sorologia positiva para a sífilis coloca o dador no grupo de risco das doenças sexualmente transmissíveis, especificamente o HIV, aconselhando as boas práticas a exclusão destes dadores.

A transmissão de agentes como os priões também deve ser considerada, apesar de os tecidos do aparelho locomotor serem reconhecidos pela OMS como pouco ou não infectantes. Não há critérios de diagnósticos clínicos e biológicos para detetar a presença destes agentes infeciosos. O diagnóstico é realizado pelo perfil imunohistoquímico do cérebro no *post mortem*. Por isso, a detecção de uma doença degenerativa neurológica num potencial dador é uma contraindicação absoluta para a colheita de tecidos. No entanto, não está demonstrada a transmissão da doença de Creutzfeldt-Jacob tendo como origem a transplantação óssea alógena (Marx et. al. 1993).

Há registo de transmissão, em casos raros, de infeções como a raiva (enxertos de córnea), vírus de Epstein Barr, febre-amarela e vírus da febre hemorrágica, através de transplantações de tecidos alógenos (Delloy 1994).

[9] Em alguns casos podem existir falsos positivos para a bactéria *Mycobacterium leprae* (Doença de Hansen)

O avanço mais notável no rastreio sorológico 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 infeção e a PCR pode detetar a presença de uma célula infetada numa população de 10^6 de células não infetadas. Tem a capacidade de replicar mais de 1 milhão de cópias do ADN do HIV em menos de 3 horas. Esse exame sorológico é muito sensível (mais sensível do que as culturas virais) e tem uma alta especificidade (Hernigou 1992, Henrard et. al. 1999).

Estima-se que a PCR tenha a capacidade de detectar a presença do HIV a partir do 7º dia após a contaminação, com um tempo médio de deteção ao 13º dia, reduzindo deste modo o período de janela de soroconversão do HIV, que é de 3 a 5 semanas em média. Os exames sorológicos de terceira geração são capazes de detetar a presença dos anticorpos do vírus a partir do 22º dia após a contaminação (Lelie et. al. 1996). Por outro lado, o antigénio p24 do VIH pode ser detetado antes do aparecimento dos anticorpos para o VIH em mais de 90% dos casos. Atualmente, com a utilização por rotina dos exames de 4ª geração que pesquisam em simultâneo os AcHIV1/2 e AgHIV1, é possível despistar a presença da infeção pelo HIV a partir dos 16 dias.

A PCR pode ser realizada para a deteção dos vírus da hepatite B, hepatite C e VIH no sangue dos dadores vivos e no sangue ou medula óssea dos dadores cadavéricos. Assim, pode ser vantajosa na seleção 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 HIV e a PCR para o vírus da hepatite C nos casos em que não é possível proceder à quarentena dos enxertos. Segundo as normas europeias, o resultado negativo da PCR para os vírus da hepatite C e para os VIH ou, na sua ausência, uma antigenémia p24 negativa, pode dispensar uma quarentena.

A quarentena permite aumentar o nível de segurança dos enxertos, contornando o período de soroconversão, 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 HIV no dador vivo 6 meses após a colheita do enxerto. Para a infecção pelo HIV, dois meses parecem ser suficientes nos países com uma baixa incidência da SIDA. 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 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 3 meses após a transplantação.

Recentemente há importantes progressos na investigação de novas tecnologias que pesquisam a presença do ARN do vírus da Hepatite C e do VIH em dadores de sangue, por amplificação do genoma. Desde 2008 é obrigatória em Portugal a realização destes testes de ácidos nucleicos aos dadores de sangue.

O despiste genómico viral mais utilizado é o TMA (Transcription Mediated Amplification), que deteta em simultâneo o ARN-HCV e o ARN-HIV1. É uma tecnologia de amplificação de ácidos nucleicos que utiliza a transcriptase-reversa e a RNA-polimerase para alcançar uma amplificação exponencial dos alvos de ARN. Este exame é bastante sensível e reduz significativamente o período de janela imunológica, uma vez que a infeção pelo HCV/HIV1 pode ser detetada 10 a 11 dias após estas terem acontecido (Chandrasekar et. al. 2011). Este exame ainda não faz parte do protocolo de rotina do crivo analítico.

Assepsia e esterilização

Durante o processamento há que distinguir a assepsia e a esterilização. A assepsia consiste na prevenção da introdução de novos microrganismos durante a manipulação. A esterilização é

um processo que elimina as bactérias, fungos, esporos e por vezes vírus, e pode ser conseguida por várias técnicas: frio, irradiação gamma ou por feixe de eletrões ou óxido de etileno. Na prática, um tecido esterilizado significa que a probabilidade de sobrevivência de 1 organismo é de cerca de 1 para 1000000. A inativação 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 gérmenes 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[10]. A eficácia de um processo de esterilização deve ser demonstrada por indicadores biológicos do Sistema de Qualidade utilizado pelo Banco de Tecidos. Para que a política de segurança da aplicação dos aloenxertos seja mais eficaz, os procedimentos de esterilização devem ser estandardizados (Patel et. al. 2004) assim como devidamente validados e utilizados por todos os Bancos de Tecidos.

A esterilização do tecido ósseo e do tecido tendinoso alógeno por irradiação gamma, embora segura em doses superiores a 2,5Mrad, levanta alguns problemas de alteração da estrutura do aloenxerto. Alguns estudos realizados (Smith et. al. 2001) revelam que a irradiação gamma em doses de 1,5-2,5 Mrad não tem efeito viricida para o HIV de tipo 1. Há necessidade de maior desenvolvimento e aproveitamento das tecnologias atuais para a triagem ser mais segura. Por outro lado, a associação de irradiação com a liofilização parece ser prejudicial para as propriedades mecânicas do aloenxerto esponjoso (Cornu et. al.2011). O óxido de etileno não penetra na totalidade do tecido e tem sido associado a resultados adversos nos pacientes recetores bem como à diminuição da capacidade biomecânica e de osteoindução por diminuição da atividade fibroblástica no leito recetor (Arizono et. al.1994). Por outro lado,

[10] Judas F, Pina C, Dias F (2002) Banco de Tecidos em Ortopedia.

avaliações epidemiológicas de trabalhadores com exposições prolongadas ao óxido de etileno demonstraram que há grande risco de neoplasias malignas, e de abortos espontâneos em grávidas com exposição a este gás.

A criopreservação suprime todas as reações químicas e todos os fenómenos de desintegração cadavérica, permitindo a conservação dos enxertos por um tempo prolongado, em teoria, indefinidamente. Com efeito, o azoto líquido permite conservar a uma temperatura constante, que pode atingir o -196º C, ossos completos, articulações completas, a viabilidade das células cartilagíneas, as fibras e os fibroblastos contidos nos ligamentos e nas cápsulas.

A esterilização química foi recentemente referida como uma técnica promissora, sendo sugerido o risco zero de infeção.

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 ação permanece desconhecido.

Hemoculturas

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 a sua descontaminação efetiva. Se forem isolados microrganismos de alta patogenicidade, os enxertos não são aceitáveis para transplantação, a não ser que o seu processamento garanta a inativação dos micro-organismos sem potenciais efeitos secundários, tendo em consideração as possíveis endotoxinas.

A diminuição dos riscos de contaminação por aplicação de aloenxertos passa de forma importante pela formação e consequente aumento da compreensão da equipa cirúrgica. A Lei

Nº 12/2009 de 26 março de 2009, no seu artigo 15 do Cap. V, refere: "O pessoal afecto às unidades de colheita e aos bancos de tecidos e células e aos serviços responsáveis pela sua aplicação deve possuir as qualificações adequadas ao desempenho das suas funções e receber formação adequada, atempada e regular". Posteriormente, a Directiva 2010/45/UE do Parlamento Europeu e do Conselho de 7 de julho de 2010, no artigo 4º do Cap. II, legisla sobre a qualidade e a segurança, referindo que os Estados-Membros devem garantir o estabelecimento de um regime para a qualidade e a segurança que abranja todas as etapas do processo, desde a dádiva até à transplantação ou eliminação. A mesma Diretiva refere ainda que o regime para a qualidade e a segurança *"*deve assegurar que os profissionais de saúde envolvidos em todas as etapas do processo, desde a dádiva até à transplantação ou eliminação, sejam devidamente qualificados ou habilitados e competentes, e criar programas específicos para estes profissionais*"*.

A necessidade de se manter uma base de dados que permita a pesquisa e a rastreabilidade do aloenxerto é uma etapa fundamental para a segurança. Esta condição também está contemplada na legislação, no artigo 8 do Cap. III da Lei Nº 12/2009 de 26 março de 2009, nos seguintes termos: "Os dados necessários para assegurar a rastreabilidade (…) são conservados durante pelo menos 30 anos após a sua utilização clínica, independentemente do tipo de suporte e desde que salvaguardada a respectiva confidencialidade".

DISCUSSÃO

O risco potencial da transmissão de doenças aos recetores dos enxertos alógenos deverá constituir a maior preocupação dos Bancos de Tecidos. Esse risco é remoto se forem cumpridos os rigorosos protocolos de seleção dos dadores, da colheita e de controlo microbiológico dos enxertos, efectuado o rastreio sorológico adequado e atualizado ao dador, e realizada a quarentena dos enxertos. É fundamental sensibilizar e esclarecer os cirurgiões e a comunidade médica em geral para o risco real da transmissão de doenças aos recetores dos enxertos ósseos alógenos e para a eficácia biológica dos vários tipos de enxertos alógenos utilizados no tratamento das várias situações clínicas.

Apesar da existência do risco de transmissão de doenças, a principal causa que limita a transplantação alógena em todo o mundo é a escassez de órgãos e tecidos disponíveis. O único modo de ultrapassar esta situação é, naturalmente, aumentar o número de dadores.

A diretiva da União Europeia para a aplicação de tecidos impõe elevados padrões de qualidade e segurança, evitando as doenças transmissíveis nos transplantes de tecidos. Há necessidade de os Estados-Membros implementarem diretrizes para os aspectos organizacionais, de gestão, documentação e controlo de qualidade. Exemplos do referido são os projetos "EUSTITE" e "NOTIFY", ambos financiados pela UE. O primeiro, que teve como objetivo fundamental a formação de inspetores e a definição de *guidelines* para as auditorias internas e externas, terminou em dezembro de 2009, tendo desenvolvido uma série de ferramentas de vigilância para tecidos e células. Participaram 22 autoridades dos países da União Europeia, estando Portugal nele representado pela ASST. Os resultados destacaram a necessidade da orientação para a vigilância e investigação de atividades ilegais e fraudulentas. Posteriormente foi desenvolvido o segundo projeto referido, denominado "NOTIFY", que decorreu entre setembro de 2010 e fevereiro de 2011. Este trabalho teve a colaboração de

mais de 100 participantes (autoridades, médicos, peritos e representantes de sociedades profissionais), com o objetivo de reunir numa página do Google (já desativada) casos documentados de reações e eventos no âmbito de aplicação dos materiais de transplantação, utilizando artigos publicados e relatórios de sistemas de vigilância. Foram inseridas no *site* perto de 1400 referências publicadas. Os casos foram utilizados como base para o desenvolvimento do projeto e de orientações sobre a deteção e confirmação de reações e eventos, dando especial ênfase ao papel fundamental do médico.

Como já foi referido, em Portugal, a Lei n.º 12/2009, de 26 de março, estabelece o regime jurídico relativo aos diferentes aspetos relevantes dos Bancos de Tecidos, sendo uma transposição para a ordem jurídica interna das Diretivas n.º 2004/23/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho da Europa, de 31 de março, 2006/17/CE, da Comissão Europeia, de 8 de Fevereiro, e 2006/86/CE, da Comissão Europeia, de 24 de Outubro, e tem igualmente em conta as recomendações da Declaração de Istambul sobre o Tráfico de Órgãos, assinada em 2008, na reunião Internacional de Transplantes, onde foi analisado o referido tema.

Em 1993 foi introduzida em Portugal a Lei nº 12/93 de 22 de abril, que revogou o Decreto-Lei nº 553/76 de 13 de julho e definiu, de uma forma clara, a situação legal de um potencial dador no âmbito da colheita em cadáveres. Mais tarde, a Lei nº 22/2007 transpôs a Diretiva nº 2004/23/CE do Parlamento e Conselho Europeus de 31 de Março, alterando a Lei nº 12/93. Em 2010, a Diretiva 2010/53/EU estabeleceu as normas de qualidade e segurança dos órgãos humanos destinados a transplantação.

O Decreto-Lei 553/76 colocava restrições às colheitas de órgãos e tecidos nos casos em que havia oposição do falecido (Artigo 5.ª) ou suspeita de morte em consequência de ação criminosa (Artigo 4.º, alínea 2). Esta alínea introduzia muitas dúvidas e dificuldades na colheita de tecidos, em dadores cadavéricos, apesar dos despachos legais subsequentes. Uma das dúvidas importantes consistia em saber se era ou não necessário obter o consentimento

dos familiares do falecido, situação que não estava perfeitamente definida, sendo objeto de diferentes interpretações. Apresentava-se, portanto, como um obstáculo à colheita de tecidos.

A clarificação deste problema foi obtida com a Lei nº 12/93, no Capítulo III, Artigo 10.º, alínea 1, que explicita: "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, refere a lei, "é criado um Registo Nacional de Não Dadores (RENNDA), para registar 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 de tecidos em dadores menores ou incapazes foi também regulamentada no Capítulo III, Artigo 10.º, alínea 3, com a seguinte redação: "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 funcionamento do Registo Nacional de Não Dadores (RENNDA) e a emissão do respetivo cartão individual de não dador foram regulamentados e organizados pelo Decreto-Lei nº 244/94, de 26 de Setembro. O RENNDA funciona no âmbito do Instituto de Gestão Informática e Financeira da Saúde, registando a identificação de todos aqueles cujas convicções determinem a sua indisponibilidade para a dádiva *post mortem* de órgãos e tecidos, dando substância ao primado da vontade e da consciência individual.

Desde que o RENNDA foi criado e até 31 de dezembro de 2011, 38469 mil portugueses foram registados como não dadores, representando 0,36% da população[11].

A legislação portuguesa é bastante favorável à colheita e transplantação de órgãos e tecidos de origem humana. A doação foi entendida como um ato voluntário, altruísta e solidário porque beneficia uma ou várias pessoas sem ter compensações monetárias, tendo havido uma

[11] Colheita e Transplantação -Dados preliminares 2011 Relatórios da Actividade-ASST

intenção bem clara de estabelecer uma base legal que contemple o respeito pelo corpo humano, o consentimento e gratuitidade da dádiva, a confidencialidade do dador e do receptor e, de um modo geral, o desenvolvimento e o aumento do número de transplantações de órgãos e tecidos no nosso país, com reconhecidos benefícios para os pacientes.

A transplantação de órgãos e tecidos necessita de ter regulamentado o problema da confidencialidade do dador e do receptor. Assim a Lei nº 67/98 de 26 de outubro transpõe para a ordem jurídica portuguesa a Diretiva 95/46/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 24 de outubro de 1995. A Lei portuguesa, que inclui capítulos como Tratamento de dados pessoais, Direitos do titular dos dados, Segurança e confidencialidade do tratamento, Transferência de dados pessoais, Comissão Nacional de Protecção de Dados e Códigos de conduta, refere no Artigo 2.º do Capítulo I e como princípio geral que "O tratamento de dados pessoais deve processar-se de forma transparente e no estrito respeito pela reserva da vida privada, bem como pelos direitos, liberdades e garantias fundamentais". O Artigo 4.º do mesmo Capítulo define o âmbito de aplicação da lei "ao tratamento de dados pessoais por meios total ou parcialmente automatizados, bem como ao tratamento por meios não automatizados de dados pessoais contidos em ficheiros manuais ou a estes destinados".

A regulamentação sobre a atividade dos Bancos de Tecidos também é contemplada pela atual legislação, que segue as diretrizes da União Europeia, e pela Lei 12/2009 de 26 de março, sendo apoiada pelo Manual de Boas Práticas da ASST. Este Manual é uma ferramenta imprescindível para a atividade de colheita e preparação de órgãos e tecidos[12].

Um Banco de Tecidos é atualmente uma organização complexa que deve garantir aplicação de sistemas de controlo de qualidade, tendo como objectivo último que a qualidade e a segurança de células e tecidos sejam garantidas, utilizando normas internacionais. Assim, e de acordo com artigo 13º da Lei nª 12/2009 de 26 de março, "Os bancos de tecidos e células, as unidades de colheita e os serviços responsáveis pela sua aplicação devem desenvolver e

[12] O Manual pode ser consultado na página oficial da ASST.

manter operacional um sistema de qualidade e de gestão de qualidade, baseado nas boas práticas que inclua, pelo menos, a documentação seguinte:

a) Procedimentos operacionais normalizados das actividades autorizadas e de processos críticos;

b) Manuais de formação e referência;

c) Formulários de transmissão de informação;

d) Registo de dadores/receptores (se aplicável);

e) Informação sobre o destino final dos tecidos e células;

f) Sistema de detecção e comunicação de reacções adversas.

Esta lei estabelece o regime jurídico da qualidade e segurança relativa à dádiva, colheita, análise, processamento, preservação, armazenamento, distribuição e aplicação de tecidos e células de origem humana, sendo aplicável

a) À dádiva, colheita, análise, processamento, preservação, armazenamento, distribuição e aplicação de tecidos e células de origem humana destinados à utilização em seres humanos, incluindo células estaminais hematopoiéticas do sangue periférico, do sangue do cordão umbilical e da medula óssea, resíduos cirúrgicos, bem como às células reprodutivas, aos tecidos e células fetais e às células estaminais embrionárias sem prejuízo do disposto na legislação específica;

b) À dádiva, colheita, análise, processamento, preservação, armazenamento e distribuição de produtos manufacturados derivados de tecidos e células de origem humana destinados a aplicações em seres humanos;

c) Aos tecidos e células de origem humana, desde que inclua a aplicação em seres humanos, no âmbito de ensaios clínicos."

O Manual de Boas Práticas da ASST é uma adaptação do documento francês "Règles de

bonnes pratiques relatives aux activités de preparation, de conservation, de transport, de distribution et de cession des tissus, de leurs derives et des preparations de therapie cellulaire d'origine humaine, utilisés à des fins thérapeutiques"[13]

Este Manual apresenta, entre vários temas, a conceção de áreas classificadas, o controlo de partículas, o controlo microbiológico das referidas áreas, a periodicidade dos controlos, a conservação de tecidos, a disponibilidade e transferência de tecidos e células.

A lei portuguesa é um suporte legal imprescindível para a optimização da organização dos Bancos de Tecidos existente nas nossas instituições públicas de saúde (Judas et al.2005), permitindo também à autoridade competente organizar inspeções e medidas de controlo adequadas, de forma a garantir o cumprimento dos requisitos constantes do diploma legal. Este facto é uma mais-valia para a continuidade das atividades dos Bancos de Ossos Nacionais, de forma a continuarem a disponibilizar aloenxertos do aparelho locomotor nas mais elevadas condições de integridade biológica e de segurança microbiológica, de acordo com as normas europeias[14]. O potencial terapêutico da doação deve ser maximizado para todos os de órgãos e tecidos, sendo adequado às necessidades de cada país. Deve existir uma política de identificação e referência de potenciais dadores de órgãos e tecidos, pois o processo de doação e colheita é complexo e moroso.

A história da transplantação é longa e teve início, ainda que de forma rudimentar, no séc. XVIII. Contudo, foi Judet que, em 1907, realizou, em laboratório, o primeiro enxerto osteo-articular em animal, tendo Lexer, na mesma altura, efetuado este tipo de enxerto no humano. (Burwell 1994, Delloye 1920). Foi a partir de 1915 que a transplantação de osso autógeno começou a ser amplamente efectuada, após a publicação nos Estados Unidos, pelo cirurgião

[13] Manual de Boas Práticas - Unidades de Colheita, Bancos de Tecidos e Células

[14] Anteriormente, o Banco de Tecidos dos HUC estava organizado segundo os protocolos recomendados pelas Associações Internacionais de Bancos 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).

americano F. Albee, de um livro sobre cirurgia de enxertos ósseos. Em 1923, Albee documentou a aplicação clínica, com bons resultados, de mais de 3000 enxertos ósseos autógenos. Como já foi referido, o mais antigo relato conhecido de banco de armazenamento dedicado ao tecido ósseo foi realizado por Inclan em 1942.

O desenvolvimento de novas abordagens cirúrgicas para o tratamento das complicações das fraturas e das doenças ortopédicas, associadas ao aumento exponencial de traumatismos de viação e de guerra, originou grandes necessidades de tecidos e órgãos para transplantar. A aplicação de aloenxertos implicou rapidamente a criação de Bancos de Tecidos para os armazenar e conservar nas melhores condições. São criados, a nível mundial os primeiros Bancos de Tecidos: em 1949 é criado o Banco de Tecido Ósseo da Marinha dos Estados Unidos da América e, nos anos cinquenta, na Europa, os primeiros Bancos Europeus de Tecido Ósseo surgem na Checoslováquia, na Polónia e em Inglaterra. Em Portugal foi criado no ano de 1982 o Banco de Tecidos dos Hospitais da Universidade de Coimbra, o primeiro do país.

Com a utilização cada vez mais frequente de órgãos e tecidos a nível mundial e particularmente europeu, é necessário que se estabeleçam as bases legais e jurídicas do transplante e aplicação de aloenxertos. Assim, no ano de 1947, surge a Lei francesa de 20 de outubro, em 1950, a Lei espanhola de 18 de dezembro, em 1950, o Decreto suíço de 20 de dezembro, em 1952, a Lei inglesa de 26 de julho, em 1957, a Lei italiana de 3 de Abril e, em Portugal, só no ano de 1964 foi publicado o Decreto-Lei 45683 de 25 de Abril, que regulamentava a colheita de orgãos e tecidos.

Portugal é presentemente um país com programas desenvolvidos de transplante de rim, coração e fígado, atingindo um nível de valores comparável à média dos países europeus. Contudo, o número de potenciais dadores em morte cerebral tem vindo a diminuir, o que conduz ao aumento do número de candidatos em lista de espera para transplantação, muitos dos quais acabam por falecer sem ter tido sem acesso a esta terapêutica.

Os acidentes vasculares cerebrais e outras patologias encefálicas não traumáticas contribuem com apenas 32%[15] de um total de 10 dadores, enquanto na maior parte da Europa o contributo dos falecidos por acidentes vasculares cerebrais atinge os 60% e, especificamente na Alemanha, os 70%. Os últimos dados indicam a tendência para valores próximos dos verificados nestes países.

O estudo realizado a partir dos dados do Banco de Tecidos dos HUC demonstrou que existe grande preocupação para que os aloenxertos sejam biologicamente seguros e satisfaçam os critérios de qualidade.

As colheitas realizadas por este Banco de Tecidos foram preferencialmente em dadores com morte cerebral e num contexto multiorgânico. Assim, o período de quarentena foi realizado no recetor de órgãos hipervascularizados (fígado ou rim) e qualquer alteração grave neste receptor é indicativo da necessidade de abandonar os aloenxertos ósseos em quarentena. Os dados disponíveis apontam para que a taxa de contaminação e de recusa dos aloenxertos estejam dentro de valores de outras unidades de transformação.

É igualmente constatado que os critérios de seleção a que são submetidos os potenciais dadores de tecido ósseo e o rigoroso controlo da qualidade dos aloenxertos colhidos contribuem, de forma importante, para a diminuição do aproveitamento de aloenxertos a disponibilizar para a aplicação clínica.

A presente revisão de artigos não é isenta de limitações. Por um lado, a pesquisa foi limitada, como foi referido do início do presente estudo, pela disponibilidade dos artigos na Biblioteca Central dos HUC/CHUC ou na Internet. Estes dois factos podem alterar os resultados. Para além disso, verificou-se não haver muitos estudos comparativos sobre estas matérias.

Os estudos apresentados demonstraram uma enorme preocupação no sentido de os aloenxertos disponibilizados serem biologicamente seguros e eficazes sob o ponto de vista clínico, e em número suficiente para tratar os doentes que deles necessitem. Por outro lado,

[15] Colheita e Transplantação - Dados preliminares2011 - Relatórios da Actividade-ASST

para combater a escassez de aloenxertos, é necessária a implementação de protocolos de deteção de potenciais dadores.

A legislação comunitária tem refletido as preocupações de segurança por parte da comunidade científica, permitindo estabelecer normas de procedimento comuns para os Bancos de Tecidos. Com a mobilidade facilitada, quer das populações quer dos produtos, tornou-se necessária uma legislação que dê segurança e confiança aos beneficiários da terapia com aloenxertos.

CONCLUSÃO

O risco potencial da transmissão de doenças aos recetores dos enxertos alógenos é remoto se forem cumpridos os rigorosos protocolos de seleção dos dadores, da colheita e de controlo microbiológico dos enxertos, efetuado o rastreio sorológico adequado e atualizado ao dador e realizada a quarentena dos enxertos.

A aplicação dos conhecimentos científicos registados nas áreas da segurança microbiológica e biologia de incorporação dos enxertos alógenos, e as modificações legislativas que regulamentam 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.

A seleção de um potencial dador de aloenxertos obedece a rigorosos critérios epidemiológicos, clínicos e laboratoriais, e constitui uma etapa primordial na metodologia dos Bancos de Tecidos, independentemente do método de preparação dos enxertos, devendo estar de acordo com as normas internacionais que regulamentam a atividade dos Bancos de Tecidos.

Se forem cumpridas todas as recomendações sobre os critérios de seleção e realizados os exames sorológicos ao dador, conforme a legislação vigente, o risco de transmissão da infecção pelo VIH e por outros vírus através de um enxerto músculo-esquelético é muito baixo, como se referiu, cerca de 1 em 1,6 milhões.

A irradiação ionizante pode inativar o HIV, o HBV e o HCV, mas a dose de radiação necessária para se alcançar um estado de esterilização depende da radiossensibilidade do vírus e da carga viral inicial presente nos tecidos. A inativação 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 na dose recomendada de 25 kGy não dispensa o cumprimento dos critérios de seleção do dador.

A conservação e disponibilização de enxertos alógenos do aparelho locomotor provenientes de dadores humanos só é possível em Bancos de Ossos e Tecidos que, possuindo condições estruturais, humanas, técnicas e administrativas adequadas, permitam o aprovisionamento de grandes reservas de enxertos para aplicação clínica.

A lei portuguesa é um suporte legal imprescindível para a otimização da organização dos Bancos de Ossos e Tecidos existente nas nossas instituições públicas de saúde. Nos ultimos anos, houve uma enorme preocupação do Parlamento Europeu e e dos Estados-Membros com a segurança e a qualidade de orgãos e tecidos humanos destinados à transplantação. Nos ultimos cinquenta anos a transplantação de orgãos e a aplicação de aloenxertos ósseos foi amplamente generalizada. Devido à existência de alguns riscos, é necessário que a aplicação de orgãos e tecidos alogénicos seja efetuada com elevados níveis de qualidade e segurança para minimizar quaisquer riscos de transmissão de doenças. Para que haja disponibilidade de orgãos e tecidos de origem humana, é necessário que haja cidadãos da União Europeia dispostos a realizar essa doação. Uma das práticas repugnantes e inaceitáveis em matéria de doação e transplantação é o tráfico de órgãos, algumas vezes associado ao tráfico de seres humanos, constituindo uma violação grave dos direitos fundamentais, particularmente da integridade física e da dignidade humana. As diretivas que regulamentaram as atividades de colheita e processamento de orgãos de origem humana combatem o tráfico de órgãos, ao designarem as autoridades com competência para a fiscalização, autorizarem os centros de transplantação e de aplicação dos aloenxertos, definirem as condições de colheita e criarem sistemas de rastreabilidade.

É necessário que o cirurgião tenha conhecimento dos processos utilizados pelos Bancos de Ossos e Tecidos na colheita, preparação, conservação e transporte dos enxertos, e que conheça as propriedades biológicas do material, podendo assim selecionar o tipo de enxerto mais indicado para a solução de cada situação clínica.

REFERÊNCIAS

Arizono T, Iwamoto Y, Okuyama K, et al (1994) Ethylene oxide sterilization of bone grafts. Residual gas concentration and fibroblast toxicity. *Acta Orthop Scand 65:* 640 – 642,

Arjmand B, Aghayan SH, Goodarzi P, Farzanehkhah M, Mortazavi SM, Niknam MH, Jafarian A, Arjmand F, Jebelly far S (2009) Seroprevalence of human T lymphtropic virus (HTLV) among tissue donors in Iranian tissue bank. Cell Tissue Bank. Aug;10(3):247-52. Epub 2008 Nov 27. PMID: 19037751 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Birk, Sofie Okkels, Hoeyer Klaus (2010) The effect of the EU Tissues and Cells Directive on bone banking in Denmark: a case study. Cell & Tissue Banking. 11(3):225-232, August. AN: 00130929-201008000-00002

Boyce T, Edwards J, Scarborough N (1999) Allograft bone: The influence of pro- cessing on safety and performance. *Orthop Clin North Am*;30:571- 581.

Burwell RG (1994) 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,.

Centers for Disease Control and Prevention: Invasive Streptococcus pyogenes after allograft implantation: Colorado (2003) *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2003;52:1174-1176.

Chandrasekar A, Warwick RM, Clarkson A (2010) Exclusion of deceased donors post-procurement of tissues. Cell Tissue Bank. 2011 Aug;12(3):191-8. Epub May 27. PMID: 20505995 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Cobo F, Stacey GN, Hunt C, Cabrera C, Nieto A, Montes R, Cortés JL, Catalina P, Barnie A, Concha A. (2005) Microbiological control in stem cell banks: approaches to standardisation. Appl Microbiol Biotechnol. Sep;68(4):456-66. Epub 2005 Oct 26. PMID: 16012832 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Coebergh JWW, Heijden LH van der, Janssen-Heijnen MLG (1995) eds Cancer incidence and survival in the Southeast of the Netherlands 1955–1994: A report from the Eindhoven Cancer Registry. *Integraal Kankercentrum Zuid Eindhoven*.

Cornu Olivier, Boquet Jerome, Nonclercq Olivier, Docquier Pierre-Louis, Van Tomme John, Delloye Christian, Banse, Xavier (2011) Cell & Tissue Banking. 12(4):281-288, November. AN: 00130929-201111000-00004.

Deijkers RL, Bloem RM, Petit PL, Brand R, Vehmeyer SB, Veen MR (1997) Contamination of bone allografts: Analysis of incidence and predispos- ing factors. *J Bone Joint Surg Br*; 79:161-166.

Delloye C (1990) 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

Delloy C (1993) Current situation and future of tissue banking in orthopaedics. In: Post Graduate Lectures - EFFORT 1, Masson Ed., 161-172

Delloye C (1994) Tissue allografts and health risks. Acta Orthop Belg 60 (suppl 1): 62-67

Devesa SS, Fears (1992) T. Non-Hodgkin's lymphoma time trends: United States and international data. *Cancer Res.*;52:5432s–5440s.

Doppelt SH, Tomford WW, Lucas AD, et al. (1997) Operational and financial aspects of a hospital bone bank. J Bone Joint Surg 63A: 1472–1481, 1981 16. Dziedzic-Goclawska A, Stachowocz W: Sterilization, in Phillips O, von Dersen R, Strong DM, et al. (eds): Advances in Tissue Banking. Singapore, World Scientific Publishing Co, pp 261–321.

Eline W Zwitser, Arthur de Gast, Mirjam JA Basie, Folkert J van Kemenade, and Barend J van Royen (2009) B-cell Lymphoma in retrieved femoral heads: a long term follow up. BMC Musculoskelet Disord; 10: 53. Published online May 20. doi: 10.1186/1471-2474-10-53

Fonseca F. (1995) Enxerto alógeno osso-tendão-osso nas ligamentoplastias do ligamento cruzado anterior (tese mestrado) pag. 85. Ed do autor

Gocke DJ. (2000) Tissue donor selection and safety. Clin Orthop Relat Res. 2005 Jun;(435):17-21.PMID: 15930916 [PubMed - indexed for MEDLINE]
Goldberg VM. Selection of bone grafts for revision total hip arthroplasty. Clin Orthop 381: 68-76

Hartge P, Devesa SS (1992) Quantification of the impact of known risk factors on time trends in non-Hodgkin's lymphoma incidence. *Cancer Res.*;52:5566s–5569s.

Henrard D, Reichelderfer P (1999) Assays for the diagnosis of HIV infection. In Textbook of AIDS Medicine, Chapter 40, Edited by Merigan TC, Bartlett JG, Bolognesi D, Williams & Wilkins,.

Hernigou P, Glorion C, Girard-Pipau F, et al. (1992) Libération in vitro et in vivo des antibiotiques à partir des greffes osseuses. Rev Chir Orthop 78 (suppl 1): 217,

Heyligers IC, Klein-Nulend J (2005) Detection of living cells in non-processed but deep-frozen bone allografts. Cell Tissue Bank.;6:25–31. doi: 10.1007/s10561-005-1089-4.

Inclan A (1942) The use of preserved bone grafts in orthopaedic surgery. J Bone Joint Surg 24: 81–96,

Iwamoto M, Jernigan DB, Guasch A, et al (2003) Transmission of West Nile virus from an organ donor to four transplant recipients. *N Engl J Med*;348: 2196-2203.

Joyce MJ (2008) Seven simple questions to ask your tissue processor. *AAOS Bul- letin,* June 2005. Available at http:// www2.aaos.org/aaos/archives/bullet in/jun05/fline8.asp. Accessed July 3

Judas F.F, Teixeira L L, Proença A.A (2005) Transplant Proc 37(6):2799-801 PMID 16182813. Coimbra University Hospitals' bone and tissue bank: twenty-two years of experience.

Kaminski A, Uhrynowska-Tyszkiewicz I, Miranda B, Navarro A, Manyalich M(2007) Design and validation of a specialized training model for tissue bank personnel as a result of the European Quality System for Tissue Banking (EQSTB) project. Transplant Proc. Nov;39(9):2698-700

Kappe Thomas, Cakir Balkan, Mattes Thomas, Reichel Heiko, Floren Markus (2010) Infections after bone allograft surgery: a prospective study by a hospital bone bank using frozen femoral heads from living donors. Cell & Tissue Banking. 11(3):253-259, August. AN: 00130929-201008000-00005.

Kocher MS, Erens G, Thornhill TS, Ready JE. (2000) Cost and effectiveness of routine pathological examination of operative specimens obtained during primary total hip and knee replacement in patients with osteoarthritis. *J Bone Joint Surg Am.*;82-A:1531–1535.

Lauder AJ, Cheatham SA, Garvin KL (2004) Unsuspected non-Hodgkin's lymphoma discovered with routine histopathology after elective total hip arthroplasty. *J Arthroplasty* 19:105. doi: 10.1016/j.arth.2004.03.029.

Lawrence T, Moskal JT, Diduch DR (1999) Analysis of routine histological evaluation of tissues removed during primary hip and knee arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am.*81:926–931. doi: 10.1302/0301-620X.81B5.9566.

Lelie P, Zaaijer H, Cuypers H (1996) Risk of virus transmission by tissue, blood and plasma products. Transplant Proc 28: 29-39,

Lister EA, Coffier B, Armitage JO(2004) Non-Hodgkin's lymphoma. In: Abeloff MD, Armitage JO, Lichter AS, Niederhuber JE, Kastan MB, McKenna WG, editor. *Clinical Oncology.* 3. Philadelphia, Pa. Elsevier pp. 2985–3014.

Manyalich M, Navarro A, Koller J, Loty B, de Guerra A, Cornu O, Vabels G, Fornasari PM, Costa AN, Siska I, Hirn M, Franz N, Miranda B, Kaminski A, Uhrynowska I, Van Baare J, Trias E, Fernández C, de By T, Poniatowski S, Carbonell R (2009) European quality system for tissue banking. Transplant Proc.Jul-Aug;41(6):2035-43. PMID: 19715826 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Marx RE, Carson ER. (1993.)Tissue banking safety: caveats and precautions for the oral and maxillofacial surgeon. J Oral Maxillofac Surg 51: 1372-1379;

Mele A, Pulsoni A, Bianco E, Musto P, Szklo A, Sanpaolo MG, et al.(2009) Hepatitis C virus and B-cell non-Hodgkin lymphomas: an Italian multicenter case-control study. *Blood.* 2003;102:996–999. doi: 10.1182/blood -10-3230.

Muller AM, Ihorst G, Mertelsmann R, Engelhardt M (2005) Epidemiology of non-Hodgkin's lymphoma (NHL): trends, geographic distribution, and etiology. *Ann Hematol.*;84:1–12. doi: 10.1007/s00277-004-0939-7.

Negri E, Little A, Boiocchi M, La Vecchia C, Franceschi S (2004) B-cell non-Hodgkin's lymphoma and hepatitis C virus infection: a systematic review. *Int J Cancer.*;111:1–8. doi: 10.1002/ijc.20205.

Palmer SH, Gibbons CL, Athanasou NA. The pathology of bone allograft. *J Bone Joint Surg Br.* 1999;81:333–335. doi: 10.1302/0301-620X.81B2.9320.

Patel R, Trampuz A (2004) Infections transmitted through musculoskeletal- tissue allografts. *N Engl J Med* 350:2544-2546.

Phillips CR (1977) Gaseous sterilization, in Block SS (ed): *Disinfection, Steril- ization, and Preservation.* Second edition. Philadelphia, Lea & Febiger, , pp 592–610 PMID: 14654764 [PubMed - indexed for MEDLINE]

R A Smith, J Ingels, J J Lochemes, J P Dutkowsky and L L Pifer(2001) J Orthop Res 19(5):815-9 PMID 11562126

Raab SS, Slagel DD, Robinson RA (1998) The utility of histological examination of tissue removed during elective joint replacement. A preliminary assessment. *J Bone Joint Surg Am* 80:331–335.

Sanzén L, Carlsson A (1997) Transmission of T-cell lymphotrophic virus type 1 by a deep-frozen bone allograft. Acta Orthop Scand 68: 72-74

Simpson D, Kakarala G, Hampson K, Steele N, Ashton B (2007)Viable cells survive in fresh frozen human bone allografts. Acta Orthop.;78:26–30. doi: 10.1080/17453670610013385.

Strong D, Shinozaki N (2010) Coding and traceability for cells, tisues and organs for transplantation. *Cell Tissue Bank 2010*; 11 (4): 305-323. Doi: 10.1007/s10561-010-9179-3

Talamini R, Polesel J, Montella M, Dal Maso L, Crovatto M, Crispo A, et al. (2006) Food groups and risk of non-Hodgkin lymphoma: a multicenter, case-control study in Italy. *Int J Cancer.*;118:2871–2876. doi: 10.1002/ijc.21737.

Tatarenko A. (2006) European regulations and their impact on tissue banking. Cell Tissue Bank.;7(4):231-5. Epub 2006 Jul 5. PMID: 16821111 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Thomas E, Michael J, Michael P. Steinmetz, Isador H. Lieberman, Jeffrey C. Wang (2008)MusculoskeletalAllograft Risk and Racalls in the United States. J Am Acad Orthop Surge 16:559-565

Weyts FA, Bos PK, Dinjens WN, van Doorn WJ, van Biezen FC, Weinans H, et al.(2003) Living cells in 1 of 2 frozen femoral heads. Acta Orthop Scand.;74:661–664. doi: 10.1080/00016470310018162.

Young L, Sung J, Stacey G, Masters JR (*2010)* Detection of Mycoplasma in cell cultures**.** *Nat Protoc. May;5(5):929-34.* Epub 2010 Apr 22. PMID: 20431538 [PubMed - indexed for MEDLINE]

ANEXOS

ANEXO 1 Sinais a valorizar no contexto

evidência física de doença de transmissão sexual como úlceras genitais, herpes simples, sífilis, condilomas, etc.;
evidência física de punções não terapêuticas, piercings, tatuagens, acupunctura, etc.;
tumorações e adenopatias;
lesões da cavidade oral, leucoplasia, lesões punctiformes azuladas ou púrpura sugestivas de Sarcoma de Kaposi, etc.;
hepatomegália ou icterícia não declarada;
evidência física de sépsis com o rash ou petéquias generalizadas;
lesões necróticas pós-vacinação;
rash vesicular generalizado;
cicatrizes;
traumatismo.

ANEXO 2 Doenças a valorizar no contexto

infeções crónicas; hemofilia;
doenças neoplásicas, com excepção de um epitelioma 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-mater 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 a 72 horas;
administração de grandes quantidades de líquidos para compensação do estado clínico (por causa da hemodiluição);
envenenamentos ou exposição a substancias tóxicas que possam prejudicar o recetor (ex. mercúrio, chumbo, cianeto, ouro);
doenças virais (hepatite, SIDA, herpes, citomegalovírus..);
doenças bacterianas sistémicas ou localizadas no osso;
doenças parasitárias (paludismo…); micose sistémica; tuberculose;
qualquer doença infeciosa transmissível;
morte de causa desconhecida (sem autópsia)