

Obtención y utilización de injertos óseos de donantes vivos

*Jose M. Varaona**
*Mariela F. Basso***

RESUMEN

Los aloinjertos óseos en cirugía traumatológica y ortopédica, son cada vez más empleados en procedimientos que logran mejorar la calidad de vida de los pacientes. El Banco de Huesos del Hospital Alemán, habilitado desde octubre de 2003, sigue normas de trabajo y calidad, nacionales e internacionales. El presente artículo tiene por objetivo describir la obtención y utilización de injertos óseos en el Banco de Huesos del Hospital Alemán de Buenos Aires, Argentina. La metodología llevada a cabo consiste en: localización del potencial donante, su selección, la procuración de la pieza (cabeza femoral), el procesamiento de la misma, los controles anatómo-patológicos y microbiológicos, los métodos de esterilización y el almacenamiento. Con el procedimiento descrito, los resultados microbiológicos son negativos para todos los microorganismos analizados: bacterias, micobacterias y hongos, de la misma manera lo fue el Bioburden. Estos resultados alientan a proseguir con los procedimientos descritos en el presente trabajo, los cuales permiten obtener piezas seguras, de alta calidad y que pasan satisfactoriamente los controles a las que son sometidas. Así, se puede ofrecer a los pacientes el máximo nivel de calidad y seguridad disponibles en la actualidad. (MÉD.UIS. 2010;23(3):237-43).

Palabras clave: Bancos de huesos. Aloinjerto. Transplante homólogo.

SUMMARY

Obtaining and use of bony grafts in alive donors.

Bone allografts in trauma and orthopedic surgery, are everytime more used in procedures wich improve the life state of the patients. The Banco Huesos of the Hospital Alemán of Buenos Aires, Argentina, authorized by the Instituto Nacional Central Único Coordinador de Ablación e Implante since 2003 for its following work procedures of national and international standards. The procedures correspondingly for donor selection, femoral head, procurement, processing, controls of pathology, microbiology, methods of sterilitation and storage. With the described methods the microbiology results, both of procurement and processing tested negative for bacteriae, micobacteriae and fungi. Bioburden results likewise resulted negative. The forementioned results encourage to continue with the procedures used which allow to obtain safe and high quality allografts according to regulations. Thus can be offered to the patients the highest standards of quality and safety presently available. (MÉD.UIS. 2010;23(3):237-43).

Keywords: Bone banks. Allografts. Homologous transplantation.

INTRODUCCIÓN

Los bancos de huesos son organizaciones encargadas de realizar la detección del potencial donante, obtención de los injertos, su procesamiento, almacenamiento, y distribución. La utilización de injerto óseo es una de las técnicas quirúrgicas más empleadas en la actualidad en

la cirugía traumatológica y ortopédica. Últimamente, muchas enfermedades e infecciones precisan el aporte de este material, entre ellas: algunos tumores o lesiones pseudotumorales, defectos de consolidación, pseudoartrosis, malformaciones congénitas, artrodesis de columna, defectos óseos y revisiones protésicas, entre otras.

*MD Traumatólogo. Director Banco de Huesos. Servicio de Ortopedia y Traumatología. Hospital Alemán. Profesor autorizado de la Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires. Argentina.

**Lic Ciencias biológicas. Subdirectora Banco de Huesos. Servicio de Ortopedia y Traumatología. Hospital Alemán. Buenos Aires. Argentina.

Correspondencia: Dr. Varaona, Av. Pueyrredón 1640, Banco de Huesos, Hospital Alemán (Apartado Postal: C1118AAT). Ciudad de Buenos Aires. Argentina. email: bhha@hospitalaleman.com

Artículo recibido el 24 de agosto de 2010 y aceptado para publicación el 12 de diciembre de 2010.

El injerto ideal para solucionar todos estos problemas, como coinciden la mayoría de los autores¹⁻⁵, es el autólogo o proveniente el mismo paciente, debido a que este no trae aparejado trastornos de tipo inmunológicos de respuesta del huésped contra el injerto donado, así como también se evita el riesgo de transmisión de enfermedades. Sin embargo, en la práctica diaria existen ciertas oportunidades en que la cantidad de hueso necesaria es superior a la que se pueda extraer del mismo paciente. Para estos casos, se justifica el empleo del homoinjerto o aloinjerto, que es obtenido de un individuo y trasplantado a otro de la misma especie.

En el año 1879, el cirujano escocés Maceren, fue el primero en emplear un fragmento de tibia para el tratamiento de una pseudoartrosis infectada de húmero en un niño. El Dr. Ollier, uno de los precursores del empleo del aloinjerto, en 1867 pregonizó el efecto conservador del frío. Años más tarde, en 1905, Albee, difundió la preservación del tejido óseo a bajas temperaturas. En 1907, Judet utilizó de manera experimental un injerto osteoarticular. Un año más tarde, Eric Lexer publicó sus primeras experiencias con injerto osteocartilaginosos homólogos. Luego, en 1925, revisó sus resultados incluyendo los trasplantes de articulaciones completas. Por su parte, Inclan en Cuba y en 1942, creó el primer banco de tejido con conservación del material a 4°C. Weaver, en el año 1949, fue el primero en emplear hueso de donante cadavérico. En Argentina, Ottolenghi, aportó su experiencia de siete injertos masivos osteocartilaginosos homólogos para el tratamiento de tumores óseos y fundó el primer banco de huesos del país en el año 1966⁶.

De manera adicional, se encuentra una ventana de seguridad muy amplia. El riesgo de transmisión viral es de 1/1 000 000 y de transmisión del VIH con donantes seleccionados apropiadamente es de 1/667 600⁶⁻¹⁰. Pero, si los requisitos y estándares para la selección del donante no son cumplidos el riesgo puede ser de 1/61, un rango casi inaceptable^{7,9}. La sangre y la médula ósea son los principales responsables de la transmisión viral, pero existen evidencias que también el cartilago, ligamentos, tendones y meniscos tienen esta propiedad⁶. Por esto, para la prevención de la transmisión viral a través del aloinjerto óseo, la *American Association of Tissue Banks*, publicó una guía estandarizada para confección de historias clínicas. Con esto aproximadamente el 90% de los donantes inapropiados son desechados^{8,11}.

La contaminación bacteriológica de un aloinjerto óseo tiene un rango del 1 al 92%, según el método empleado para su detección^{12,13}. Según la bibliografía consultada, el promedio de contaminación de las cabezas femorales donadas es de 2 al 22%¹³.

En general, se considera que la contaminación se produce en el momento de la ablación¹²⁻¹⁴. Los factores posibles de contaminación de las piezas óseas obtenidas en una ablación se pueden agrupar en ambientales, dependientes del donante y ligados al hueso.

El riesgo de contaminación se incrementa a medida que aumenta el número de personas presentes en el quirófano o sala de ablación. Está comprobado que el número de Unidades Formadoras de Colonias, UFC, en un quirófano con cinco personas presentes es de aproximadamente 37 veces más importante que la de un quirófano vacío^{12,15}.

Por su parte, Veen consideró como factores de la contaminación a la causa de muerte, sobretodo accidentes; los donantes multiorgánicos y el número de miembros del equipo ablacionista, siendo importante un valor mayor de cuatro¹⁴. En otros estudios similares, se demostró que el rango de contaminación depende además del número de personas que manipulen el material. Barrios y cols.^{14,15} indicaron que las piezas que requerían una manipulación prolongada son las que con más frecuencia tienen cultivos positivos.

Basados en trabajos previos sobre ventajas y desventajas de los distintos métodos de esterilización y almacenamiento de tejidos¹⁶⁻⁸, se ha adoptado en el Banco alemán, como forma de trabajo la esterilización por radiación gamma y el congelamiento a -80°C, como forma de conservación y almacenamiento de las piezas óseas. El trabajo de los bancos de tejidos, está además regulado por organizaciones nacionales e internacionales que controlan y certifican su labor. En Argentina, el organismo regulador es el Instituto Nacional Central Único Coordinador de Ablación e Implante, INCUCAI.

MATERIALES

Los materiales utilizados para el procedimiento son especificados en la tabla 1.

PROCEDIMIENTOS

SELECCIÓN DE DONANTE

Los criterios de selección de donantes y de consentimiento informado de donación utilizados en el Banco de Huesos del Hospital Alemán de Buenos Aires, se basan en los dispuestos por la disposición legal en la Resolución N°260.99 del INCUCAI¹⁹, realizándose un profundo análisis de la historia clínica del donante con los criterios de exclusión correspondientes: antecedentes de sepsis o bacteremia, exposición a productos químicos o

tóxicos, envenenamiento, enfermedades autoinmunes, cáncer, antecedentes de enfermedades óseas, entre otros. Se realiza una serología completa que incluye: Virus de la Inmunodeficiencia Humana, Hepatitis B y C, Sífilis, Enfermedad de Chagas, Virus Linfotrópico de Células T Humano, Brucelosis, Toxoplasmosis y Citomegalovirus.

La edad no es un criterio de selección riguroso, siendo 15 años la edad mínima del donante, pero la máxima es evaluada por el médico tratante con el fin de asegurar una buena calidad ósea. Para injertos estructurales se sugiere un máximo de 75 años de edad.

MATERIAL ÓSEO

Las piezas óseas obtenidas son cabezas femorales de donantes vivos en el transcurso de artroplastias de cadera. Con el fin de mantener el anonimato de los donantes, se les asigna un número para permitir la trazabilidad o seguimiento del injerto.

PROTOCOLO OPERATORIO Y ABLACIÓN

Se coloca al donante decúbito lateral (Figura 1), fijado con un posicionador para artroplastia de cadera y con el miembro inferior sano en semiflexión y fijo a la mesa de operaciones. El miembro del lado del miembro inferior afecto, se deja libre para ser pintado y cubierto por los campos estériles. Se emplea el abordaje postero-lateral.

Se disecan tejidos blandos hasta llegar a la cápsula articular y se realiza artrotomía, según técnica quirúrgica y se procede a la ablación de la cabeza femoral (Figura 2). Las ablaciones se realizan en el área quirúrgica. En el momento de la ablación se extraen muestras de tejido esponjoso de aproximadamente 1cc, para estudios microbiológico y anátomo-patológico.



Figura 1. Posición en decúbito lateral del donante

La pieza ablacionada se embala con el sistema de triple malla tubular y triple bolsa de polietileno de alta densidad y esterilizados por óxido de etileno. Se rotula con el número de donante, fecha de la ablación y nombre del médico ablacionista. Luego es conservada en el refrigerador a una temperatura de -20 °C a la espera de los resultados de los estudios de rutina de patología y microbiología, los cuales incluyen: cultivo de bacterias; cultivo de micobacterias y directo (estudio rápido de 24hrs) y cultivo micológico.

PROCESAMIENTO DE LA PIEZA

Posteriormente, y con las pruebas mencionadas negativas, el material se trasladada a la sala de procesamiento del área de quirófanos, debido a que es un ambiente de máxima asepsia. Esta sala fue diseñada siguiendo las normas de seguridad y calidad descritas en la resolución del INCUCAI correspondiente⁷, las cuales incluyen utilizar materiales no porosos para todas las superficies, asegurando una fácil limpieza y desinfección del área y evitar piletas, desagües, estantes, placards, etc. La sala posee una cabina de seguridad biológica clase IIA certificada, apta para proteger de los trabajadores de los materiales manipulados y al mismo tiempo, proteger dichos materiales de la contaminación externa.

El área de trabajo es recorrida por un flujo descendente de aire filtrado estéril o flujo laminar vertical. En la cabina certificada se realizan todas las manipulaciones de los tejidos óseos. En este sector sólo puede ingresar personal del Banco de Huesos y autorizados, con ropa habitual de quirófanos. En primera instancia, se realiza la esqueletización del cartílago articular y demás partes blandas adheridas. Se realizan cortes con sierra oscilante en bloques de 2 cm² y en ocasiones se lleva a cabo el molido de los mismos.

LAVADO POR AGITACIÓN

Los bloques o el hueso molido se colocan en frascos *shott* con líquido de enjuague: solución fisiológica estéril para el primer lavado y agua estéril apirógena en los siguientes, ambas a 55 °C. El volumen de solución empleada mantiene una relación de 3:1 con el volumen del tejido. Se coloca los frascos en un agitador *wrist-shaker*. Luego de cada enjuague el líquido resultante es descartado (Figura 4).

El número de lavados depende de cada pieza. Se considera finalizado el proceso cuando en dos lavados consecutivos no se observan cambios notorios de turbidez en el líquido de lavado (Figuras 5 y 6).

ENVASADO, ROTULADO Y CONSERVACIÓN

Antes del envasado final de la pieza se toman muestras para realizar un análisis microbiológico como control del procesamiento: cultivo de

bacterias, micobacterias y hongos. A continuación se envasa el hueso molido en su envase final y se lo embala en condiciones de vacío (Tabla 2), entonces se rotula y almacena (Figura 7). Se realiza el mismo

procedimiento para la muestra destinada al control de esterilidad y Bioburden, estudio realizado para cuantificar la cantidad de UFC por unidad o porción normalizada de producto.

Tabla 1. Materiales necesarios para cada etapa del procedimiento.

Ablación	Procesado	Envasado	Conservación	Almacenamiento
Material quirúrgico	Moledora manual	Envasadora al vacío	Refrigerador horizontal a -20 °C, con registrador externo de temperatura	Refrigerador* vertical a -80 °C, con visor externo de temperatura y alarma visual-sonora.
Equipos de ropa quirúrgica estériles	Cabina de seguridad biológica clase IIA	Mallas tubulares	-	-
-	Caja de material quirúrgico	Bolsas de polietileno 60 µm	-	-
-	Ropa quirúrgica estéril	Bolsas film barrera laminado de vinilo de polietileno de 120 y 200 µm	-	-
-	Frascos shott , tapa a rosca, de 250 ml	Potes de polietileno de baja densidad con tapa a rosca de boca ancha	-	-
-	Agitador wrist-shaker	Etiquetas con todos los datos del tejido e indicaciones de uso.	-	-
-	Sierra oscilante manual	-	-	-
-	Solución fisiológica y agua destilada estéril apirógena.	-	-	-
-	Baño de agua termostático	-	-	-
-	Vaso de descarté	-	-	-
-	Hipoclorito de sodio al 60%	-	-	-

*Ambos refrigeradores se encuentran en salas conectadas al sistema de generador eléctrico del hospital para prevenir fallas en el suministro eléctrico.



Figura 2. Cabeza femoral luxada

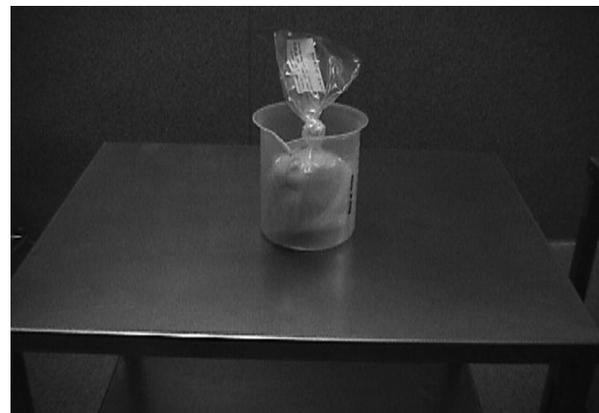


Figura 3. Pieza ablacionada embalada para almacenar en el refrigerador de -20°C

Se colocan las etiquetas entre el envase tres y cuatro. El hueso molido así acondicionado, se mantiene en el refrigerador a una temperatura de -80°C a la espera del momento de la esterilización.

BIOBURDEN Y ESTERILIZACIÓN

A los injertos se les realiza el Bioburden en el laboratorio de microbiología y se esterilizan en la planta de irradiación del Centro Nacional de Energía Atómica, Ezeiza, en Buenos Aires, Argentina. Para esto se acondicionan los tejidos con hielo para su traslado. La Planta cuenta con una fuente de radiaciones gamma cobalto-60(⁶⁰Co). Se solicita una dosis mínima de radiación de 25 kGy.

La política de trabajo del Banco de Huesos del Hospital Alemán establece que los tejidos serán eliminados si alguna de las dos pruebas de microbiología, ablación o procesado, diera positivo. El Bioburden o límite de microorganismos, definida como la población de microorganismos viables en un producto empacado previo a su esterilización, se realiza en forma habitual para productos farmacéuticos y productos médicos como medida de control de calidad. Esta unidad es medida en UFC por gramo de producto.

Los límites máximos indicados por los organismos reguladores no deben superarse para garantizar la aceptación del producto. Se considera el Nivel de aseguramiento de la Calidad (SAL) o Coeficiente de Seguridad de Esterilización (C.S.E.), como la probabilidad esperada de encontrar un microorganismo vivo en una unidad de producto, posterior a la esterilización. Este estudio valida la dosis de irradiación, pero sólo es realizado cuando el bioburden arroja un resultado inapropiado.

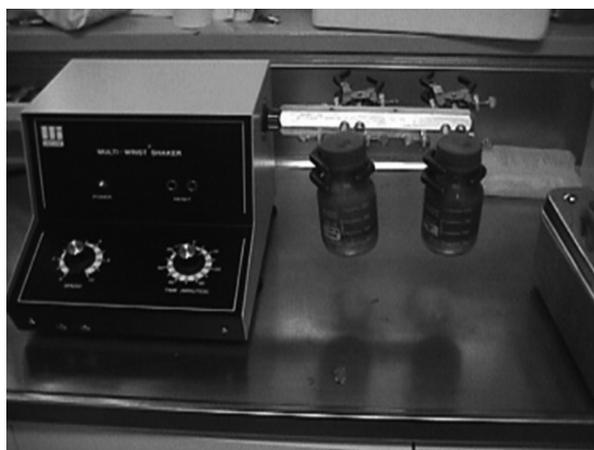


Figura 4. Enjuague del hueso molido en agitador Wrist-Shaker

La determinación de la carga microbiana del tejido se realizó con 10 muestras de producto o porciones normalizadas de producto, de aproximadamente 1 cm³. De acuerdo al resultado, se determinó la dosis subesterilizante o dosis de verificación, Dv (dosis necesaria para alcanzar un C.S.E. de 10⁻¹). Para evaluar la radiosensibilidad de los microorganismos

a la radiación mediante controles de esterilidad, con la dosis subesterilizante que se determinó en el punto anterior, se irradiaron 10 muestras y se realizaron los controles de esterilidad correspondientes una vez que las muestras fueron irradiadas.

Finalmente, para definir la dosis de esterilización de las muestras de las cuales los controles de esterilidad del punto anterior fueron óptimos para alcanzar un C.S.E. de 10⁻⁶, se realizó una transpolación del bioburden expresado como UFC/cm³, al producto de mayor tamaño. Este valor no debe exceder las 1000 UFC/producto. Una vez que se obtuvo este valor, se buscó en tablas cual es la dosis de esterilización necesaria para alcanzar un SAL de 10⁻⁶.

CONSERVACIÓN Y ALMACENADO

El método de conservación utilizado para las piezas procesadas, luego de la irradiación es el congelamiento a temperatura de -80°C, sin crioprotectores.



Figura 5. Frascos después del primer lavado.

COMENTARIOS

Hasta el momento, se han realizado en el Hospital más de 70 procedimientos obteniendo productos similares en todos ellos. Los resultados de estudios microbiológicos y anátomo-patológicos de las muestras tomadas durante la ablación de las cabezas femorales utilizadas, fueron negativos para el hallazgo de microorganismos o patología osteocartilaginosa.

Así mismo, lo fueron los resultados de los estudios microbiológicos de muestras de los injertos, tomadas durante el procesamiento de la pieza. En caso que los resultados microbiológicos fueran positivos, tanto de la ablación como del procesado, se descartarían los tejidos.

En los resultados de Bioburden y control de esterilidad no se observó crecimiento bacteriano o en algunos casos un recuento muy bajo, pero ninguno sobre los

límites de aceptación. Sobre los injertos estudiados, el 86,5% dieron por resultado una carga microbiana menor a 0,2 UFC/cm³, por lo cual no se realizó la determinación de la Dv para un C.S.E por considerarlo de muy baja contaminación.

En el resto de los injertos, donde la Dv para un C.S.E. 10-1 fue necesaria de determinar, la misma, estuvo entre los valores de 0,5-2,1 kGy. Sólo en el 13,5% de los tejidos fue necesario realizar el estudio de dosis mínima de esterilización por radiación gamma para un C.S.E de 10-6. En estos casos se obtuvo un valor entre 17,9 y 23 kGy.

Por el trabajo se obtiene en total, de cada cabeza femoral, aproximadamente 100 cc de hueso molido o chips. Los donantes se someten a un segundo control serológico de HIV y hepatitis a los seis meses de la donación, siendo los resultados de nuevo negativos. Con los resultados finales de todos los estudios realizados, el director del Banco libera la pieza, quedando ésta disponible para su utilización en un implante.

CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos de los estudios microbiológicos y el Bioburden se puede establecer que la forma de trabajo del Banco de Huesos Alemán de Buenos Aires, mantiene las condiciones óptimas de calidad, evitando la contaminación de las piezas. Es decir, que todos los procedimientos descritos pueden aplicarse obteniendo resultados exitosos de la pieza resultante, pudiendo ser así utilizado el hueso molido como relleno de defectos tumorales óseos, agregado de prótesis de caderas, etc., puesto que el método de esterilización por irradiación de los injertos permite obtener piezas seguras.

Hasta diciembre de 2010, se han realizado más de 45 cirugías con la utilización de injertos procedentes del Banco, obteniendo excelentes resultados y sin presentar caso alguno de complicación debido al uso de los mismos. En la actualidad existen diversas formas de trabajo en varios Bancos de tejido óseo. Algunos utilizan hueso liofilizado, otros fresco congelado, con o sin irradiación. Las propiedades mecánicas y de bioseguridad para evitar la transmisión de enfermedades varían en cada caso²⁰. El objetivo de este trabajo es, a través del procedimiento ya descrito, obtener los injertos de la mayor alta calidad posible, pero teniendo especial cuidado en su seguridad para el donante con el fin de estimular en médicos y pacientes el uso de los mismos.

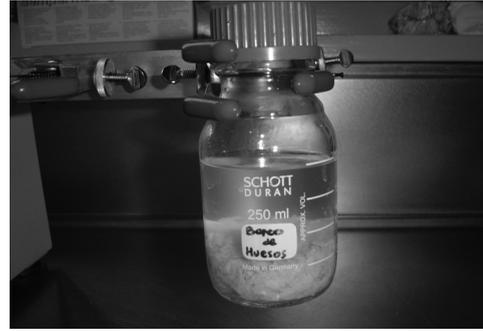


Figura 6. Frascos después del último lavado.



Figura 7. Hueso molido en su envase final.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Amillo S, Cañadell J. Banco de Huesos y otros Tejidos del Sistema Musculoesquelético. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Navarra, S. A. España 1989.
2. Estándares de la Asociación Española de Bancos de Tejidos. España 1999.
3. Doncel A, Roig JL y col. Banco de Huesos. Revista de Ortopedia y Traumatología. España 1989;33(2):151-4.
4. Fernández-Arroyo, J.M.; León, C. y Col. Nuestra metódica en la organización y control del Banco de Huesos del Hospital Universitario de "San Carlos". Revista Ortopedia y Traumatología. España 1989;33(2):155-60.
5. Ortiz-Cruz, E.J.; Campo-Loarte, J. y Col. Estructura y organización de un Banco de Huesos y Tejidos. Revista de ortopedia y traumatología. España 1989;44:127-38.
6. Silverman, F.S. Aloinjertos Oseos. Revista de la Asociación Argentina de Ortopedia y Traumatología. 1999;64:69-74.
7. Tomford, W. W. Transmission of disease through transplantation of musculoskeletal allografts. J. Bone Joint Surg. 1995;77:1742-54.
8. Ehrler, D.M.; Vaccaro, A.R. The use of Allograft Bone in Lumbar Spine Surgery. Clin. Orthop. 2000;371:38-45.
9. Asselmeier, M.A.; Casperi, R.B.; Bottenfield, S.A review of allograft processing and sterilization technique and their role

- in transmission of the human immunodeficiency virus. *Am. J. Sports Med.* 1993;21:170-5.
10. Buck, B.E.; Resnick, L.; Shah, S.M.; Malinin, T.I. Human immunodeficiency virus cultured from bone. *Clin. Orthop.* 1990;251:249-53.
 11. AATB. American Association of Tissue Bank. Standards for tissue banking. 10ma Edición 2002.
 12. Mirabet Lis, V.; Bonanad Boix, S.; Ibáñez, M.; Ródenas Guaita, T.; Pamplona Layunta, T.; Soler García, M. Centralización de los procedimientos de criopreservación de tejidos óseos y osteotendinosos. *Rev. Ort. y Traumat. España* 1997;41:588-93.
 13. Chapman, P.G.; Villar, R.N. The bacteriology of bone allografts. *J. Bone Joint Surg (Br)* 1992;74(B):398-99.
 14. Segur Vilalta, J. M.; Suso Vergara, S. y Col. Factores de contaminación de los aloinjertos óseos. *Rev. Ort. y Traumat. España* 1996;41:584-7.
 15. Barrios, R.H.; Leyes, M.; Amillo, S.; Oteiza, C. Bacterial contamination of allografts. *Acta Orthop. Belg.* 1994;60:152-54
 16. Kostiak, Paul E. The evolution of quality systems in human bone banking. The U.S. experience. *Cell and Tissue Banking.* Kluwer Publishers. Netherlands 2000 1:155-160.
 17. Phillips, DM Strong, R von Versen, A Nather. *Advances in Tissue Banking.* Singapore 2000;4.G.O.(World Scientific).
 18. Phillips, DM Strong, R von Versen, A Nather. *Advances in Tissue Banking.* Singapore 1997;1.G.O.(World Scientific).
 19. Resolución N°260.99 del INCUCAI: Habilitación de bancos de Tejidos del Sistema Músculo Esquelético y Osteoarticular. Disponible en: www.incucai.gov.ar
 20. Radiación y Operación de Bancos de Tejidos. Editor: Phillips, Glyn O. 2001. IAEA