

IFPG - INSTITUTO FRIBURGUENSE DE PÓS GRADUAÇÃO
FACSETE- FACULDADE SETE LAGOAS

CARLOS EDUARDO DOS SANTOS THULER

BIOMATERIAIS DE ORIGEM BOVINA PARA
ENXERTIA ÓSSEA X DOAÇÃO DE SANGUE

Nova Friburgo- RJ

2021

CARLOS EDUARDO DOS SANTOS THULER

**BIOMATERIAIS DE ORIGEM BOVINA PARA ENXERTIA ÓSSEA X
DOAÇÃO DE SANGUE**

MONOGRAFIA APRESENTADA AO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMPLANTODONTIA COMO REQUISITO À OBTENÇÃO DO GRAU DE ESPECIALISTA EM IMPLANTODONTIA.

ORIENTADOR: PROF. MARCELO HARDUIN COUTO

NOVA FRIBURGO

2021

Thuler, Carlos Eduardo dos Santos

Biomateriais de origem bovina para enxertia óssea x doação
de sangue – 2021.

31 f.

Orientador: Prof. Marcelo Harduin Couto

Nova Friburgo, RJ. 2021



Monografia intitulada “**Biomateriais de origem bovina para enxertia óssea x doação de sangue**” de autoria do aluno **Carlos Eduardo dos Santos Thuler**.

Aprovada em ____________ pela banca constituída pelos seguintes professores:

Prof. Marcelo Harduin Couto

Prof. Diego Benini

Prof. Carla Suely Pereira Ribeiro

Nova Friburgo, 05\08\2021.

Dedico este trabalho a Marcia, Ana Clara e Alice, pelo apoio e
compreensão.

Amor eterno....

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos os professores e colegas que me tiraram da zona de conforto e me ajudaram a crescer profissionalmente.

“Dê-me, Senhor, agudeza para entender, capacidade para reter, método e faculdade para aprender, sutileza para interpretar, graça e abundância para falar, acerto ao começar, direção ao progredir e perfeição ao concluir...”

São Tomás de Aquino

RESUMO

Uma das limitações associada à utilização dos enxertos xenógenos em implantodontia está relacionada a aspectos culturais e religiosos, além da possibilidade de transmissão de doenças. Apesar de seu amplo uso, estudos laboratoriais apontam para o risco desses biomateriais transmitirem o príon patológico da Encefalopatia Espongiforme Bovina ou BSE (do acrônimo inglês “bovine spongiform encephalopathy”), ou em português EEB (encefalopatia espongiforme bovina), popularmente conhecida como “doença da vaca louca”. Trata-se de uma doença neurodegenerativa causada por uma proteína denominada príon, que afeta o gado doméstico e pode ser transmitida ao homem. Processos fabris ineficientes, controle de qualidade e fontes de matéria-prima questionáveis podem gerar o fornecimento de enxertos ósseos de baixa qualidade biológica, apresentar resquícios de matriz orgânica (fragmentos celulares, príons e proteínas) e, potencialmente, podem sensibilizar o receptor. Assim, o recebimento cirúrgico deste tipo de biomaterial está contemplado na legislação internacional de hemovigilância com algumas restrições impeditivas pertinentes à doação sanguínea. Neste trabalho fazemos uma análise dos processos de tratamento dos biomateriais xenógenos de origem bovina, os riscos de transmissão de doenças priônicas, e as restrições que impedem temporária ou permanentemente a doação de sangue pelos receptores.

Palavras Chave: Enxerto ósseo, Encefalopatia Espongiforme Bovina, Doação de Sangue.

ABSTRACT

One of the limitations associated with the use of xenogenous grafts in implant dentistry is related to cultural and religious aspects, in addition to the possibility of disease transmission. Despite its wide use, laboratory studies point to the risk of these biomaterials transmitting the pathological prion of Bovine Spongiform Encephalopathy or BSE (from the English acronym “bovine spongiform encephalopathy”), or in Portuguese EEB (bovine spongiform encephalopathy), popularly known as “disease of the mad cow”. It is a neurodegenerative disease caused by a protein called prion, which affects domestic livestock and can be transmitted to humans. Inefficient manufacturing processes, quality control and questionable raw material sources can lead to the supply of low biological quality end products, present organic matrix remnants (cell fragments, prions and proteins) and potentially can sensitize the recipient. Thus, the surgical receipt of this type of biomaterial is contemplated in the international legislation on hemovigilance with some restrictive restrictions pertaining to blood donation. In this work, we analyze the treatment processes of xenogeneic bovine biomaterials, the risks of transmission of prion diseases, and the restrictions that temporarily or permanently prevent blood donation by recipients.

Key Words: Bone Graft, Bovine Spongiform Encephalopathy, Blood Donation.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	MÉTODO	13
3	REVISÃO DA LITERATURA	14
4	DISCUSSÃO	24
5	CONCLUSÃO	28
6	REFERÊNCIAS	29

INTRODUÇÃO

A instalação do implante para reabilitação de pacientes desdentados é dificultada pela insuficiência de volume ósseo, sendo necessária uma reconstrução óssea prévia. O osso autógeno continua sendo o biomaterial “padrão ouro”, pois apresenta-se eficaz no processo de regeneração óssea, não transmitindo doenças infecciosas ou desencadeando reações imunológicas. Além disso, apresenta rápida incorporação e consolidação. Por outro lado, esse tipo de enxerto apresenta desvantagens como uma maior morbidade e disponibilidade limitada. Diante da constante busca por substitutos ósseos que possam apresentar propriedades semelhantes às do osso autógeno, mas que não necessitem de um segundo sítio cirúrgico, tem aumentado bastante o uso de enxertos xenógenos (proveniente de espécie diferente) em reabilitações com implantes.

Os biomateriais de origem bovina têm sido estudados desde a década de 60. Sua resistência biomecânica é similar à do osso humano e tratamentos adequados para a sua obtenção podem evitar respostas imunológicas ou inflamatórias adversas. Os xenoenxertos podem ser produzidos a partir de osso bovino cortical ou medular. Uma das limitações associada à utilização dos enxertos xenógenos está relacionada a aspectos culturais e religiosos, além da possibilidade de transmissão de doenças.

Apesar de seu amplo uso, estudos laboratoriais apontam para o risco desses biomateriais transmitirem o príon patológico da Encefalopatia Espongiforme Bovina ou BSE (do acrônimo inglês “bovine spongiform encephalopathy”), ou em português EEB (encefalopatia espongiforme bovina), popularmente conhecida como “doença da vaca louca”. Trata-se de uma doença neurodegenerativa causada por uma proteína denominada príon, que afeta o gado doméstico e pode ser transmitida ao homem. Porém, este fato tem sido raramente abordado na literatura Odontológica (Kim; Nowzari, Rich, 2011).

Os biomateriais mineralizados industrializados de origem xenogênica devem ser completamente isentos de matriz orgânica. Logo, deixam de ser osso em essência semântico-fisiológica e passam a ser exclusivamente um material com biocompatibilidade humana, portanto um biomaterial, em tese, incapaz de sensibilizar o organismo receptor. Todavia, os estudos que comprovam a eficácia da inativação do príon da BSE no tratamento utilizado no processo de obtenção do substituto ósseo bovino são controversos. Processos fabris ineficientes, controle de qualidade e fontes

de matéria-prima questionáveis podem gerar o fornecimento de produtos finais de baixa qualidade biológica, apresentar resquícios de matriz orgânica (fragmentos celulares, príons e proteínas) e, potencialmente, podem sensibilizar o receptor. Assim, o recebimento cirúrgico deste tipo de biomaterial está contemplado na legislação internacional de hemovigilância com algumas restrições impeditivas pertinentes à doação sanguínea. No caso de enxertos xenógenos com indicação de impedimento permanente (WHO Guidelines. Blood donor selection, 2017).

Neste trabalho fazemos uma análise dos processos de tratamento dos biomateriais xenógenos de origem bovina, os riscos de transmissão de doenças priônicas, e as restrições que impedem temporária ou permanentemente a doação de sangue pelos receptores.

O objetivo desta revisão é tornar claro aos profissionais, os reais riscos de transmissão de doenças priônicas e o impedimento temporário ou permanente de doação de sangue, para que os pacientes possam ser devidamente esclarecidos.

MÉTODO

Para o levantamento bibliográfico, foi utilizada uma estratégia de busca detalhada nas seguintes bases de dados: Pubmed, Bireme, Scielo e Google Acadêmico. Foram utilizados como descritores em inglês e português:

Bovine spongiform encephalopathy + Xenograft

Bovine spongiform encephalopathy + Blood transfusion

Xenograft + Blood transfusion

Xenograft + Prions

Xenograft + Creutzfeldt – Jakob disease

Bovine bone substitutes + Prions

Os critérios de inclusão foram artigos internacionais em língua inglesa e portuguesa que apresentassem estudos envolvendo investigações *in vitro* e *in vivo*, relatos de casos clínicos, revisões sistemáticas e revisões convencionais. Após a análise crítica da bibliografia, foram selecionados os artigos de interesse, publicados desde 1996 (ano do surgimento da nova variante da Creutzfeldt – Jakob na Inglaterra até os dias atuais. Os dados obtidos foram criteriosamente analisados, correlacionados ou confrontados para a discussão dos resultados destacados na literatura.

REVISÃO DA LITERATURA

As doenças priônicas foram descobertas Stanley B. Prusiner, que em 1997 venceu o Prêmio Nobel de Medicina. Prusiner definiu príons como partículas proteicas transmissíveis e infecciosas que não possuem ácido nucleico (sem bagagem hereditária) e são compostos exclusivamente de uma isoforma modificada celular de uma proteína priônica (PrPC).

Príons são partículas proteicas responsáveis por diversas atividades, como amadurecimento dos neurônios. Entretanto, podem se tornar patogênicas, causando doenças crônicas e degenerativas do sistema nervoso central, deixando tais regiões com aspecto de esponja, ao serem observadas ao microscópio.

A doença de Creutzfeldt-Jakob (DCJ) é a mais comum das doenças priônicas humanas, caracterizada por um quadro de demência rapidamente progressiva, desordem na marcha, postura rígida, crises epiléticas e paralisia facial que confere ao indivíduo acometido a aparência de sempre estar sorrindo. Esta doença faz parte do grupo das encefalopatias espongiformes. (Pustiglione, *et al.* 2014).

O exame histopatológico do cérebro das vítimas revela um acúmulo de príons no sistema nervoso central e microscopicamente observa-se vacúolos na substância cinzenta, resultando em morfologia espongiforme generalizada do cérebro (semelhante a esponja), daí o nome Encefalopatias Espongiformes. (Gambetti, Kong, Zou. 2017).

A DCJ tem três formas: Esporádica, Familiar e Adquirida:

A DCJ esporádica é o tipo mais comum, sendo responsável por cerca de 85% dos casos. A DCJ esporádica geralmente afeta pessoas com mais de 40 anos de idade (média etária de cerca de 60 anos).

A DCJ familiar ocorre em cerca de 5 a 15% dos casos. A hereditariedade é autossômica dominante; a idade no início costuma ser mais precoce do que na e DCJ e a duração da doença é mais longa.

A DCJ adquirida é provavelmente responsável por 1% dos casos. Ela ocorreu após a ingestão de carne ou produtos de origem bovina contaminados por príons.

Não há cura para doença, nem uma terapêutica capaz de atrasar a evolução da afecção. A única opção é a realização de medidas paliativas, por meio do tratamento sintomático. Como esta doença é contagiosa, são necessárias medidas que impeçam sua propagação.

Os príons possuem outras características importantes como resistência a radiação, calor e tratamento com proteases. Sua recente descoberta como agentes infecciosos vem modificando os conceitos atuais sobre alimentação e uso de tecidos de origem animal para seres humanos. Barreiras biológicas entre as espécies, que restringem a disseminação de outros tipos de patógenos, parecem ter pouco efeito contra a disseminação de doenças priônicas. O longo período de incubação dessas doenças, às vezes medido em décadas, não permite chegar a conclusões mais exatas a respeito da extensão da contaminação humana. O fato é que a maioria das técnicas antes consideradas muito seguras, como protocolos de esterilização e reciclagem de proteínas animais, está sendo revisada. Parece sensato, portanto, tomar medidas semelhantes em relação ao uso de produtos de origem animal em implantes, suturas e formulações tópicas (Lupi, 2003).

Embora o autoenxerto seja considerado a primeira opção para enxertos ósseos ou “padrão-ouro” devido ao seu potencial osteogênico, osteoindutor e osteocondutor, sua disponibilidade é limitada, incorre em maiores custos operacionais e morbidade (sensibilidade aumentada) do sítio doador a curto e longo prazo. Devido aos aspectos negativos do enxerto autógeno, os enxertos alógeno/homógeno (proveniente de indivíduo diferente, porém, da mesma espécie) e xenógeno (proveniente de espécie diferente) surgem com alternativas que viabilizam as reabilitações implantossuportadas em regiões comprometidas pela ausência de osso.

A disponibilidade de substitutos ósseos xenogênicos derivados de bovinos tornou possível evitar cirurgias secundárias traumáticas e com custo elevado para obter osso autógeno.

Diversas empresas estrangeiras produzem materiais osteosubstitutos de origem xenógena a mais de 20 anos, as quais detêm 80% do mercado mundial de enxertos ósseos dentários. Paralelamente, empresas nacionais também têm investido no desenvolvimento de materiais biocompatíveis capazes de aumentar e/ou acelerar o reparo ósseo. As aplicações mais comuns dos xenoenxertos em Odontologia são os tratamentos de defeitos periodontais, preenchimento dos alvéolos pós- extração dentária, levantamento de seio maxilar e aumento de rebordo alveolar (Rodolfo, *et al.* 2017).

Os xenoenxertos são predominantemente de origem bovina, mas também podem derivar de suínos ou equinos, sendo sua matéria-prima obtida pelo

processamento de ossos longos, tendão, pericárdio, submucosa intestinal ou outros sítios anatômicos. O processamento de um biomaterial substituto xenógeno permite várias alternativas quanto às formas isoladas ou conjugadas dos seguintes constituintes biológicos: fração orgânica do osso (desmineralizada), fração cortical ou medular inorgânica desproteïnizada, na forma de grânulos ou blocos, ou ainda, como membrana reabsorvível desmineralizada. Por vezes, a dispersão dos grânulos pode dificultar a implantação do material e a associação com um aglutinante (como colágeno) tem sido usada pela indústria. Dentre os enxertos xenogênicos de origem bovina, os produzidos com o osso esponjoso são de particular interesse devido a sua arquitetura constituída de poros biologicamente desenhados que favorecem a invasão celular e vascular até o centro do defeito.

O processamento do xenoenxerto, com tratamento mecânico e químico, via álcalis e solventes orgânicos, para remoção de debris, células e sangue, e ácido clorídrico, resulta em osso bovino desmineralizado biocompatível e biodegradável. Temperaturas superiores a 700°C permitem a completa eliminação do conteúdo proteico e manutenção das características naturais da fração mineral do osso bovino, resultado em grânulos biocompatíveis e com boa estabilidade mecânica, livres de espículas e fragmentos micrométricos prejudiciais ao processo de reparo (Castro-Silva, Zambuzzi, Granjeiro. 2009).

Já em 1999, Sogal e Tofe foram os primeiros a alertar que a conveniência de usar xenoenxertos poderia ser influenciada pela possibilidade de transmissão de doenças do gado para o homem. Os incidentes da época de encefalopatias espongiformes bovinas (EEB) em seres humanos enfatizaram essa probabilidade. Os autores fizeram uma análise de risco de transmissão dessa doença a partir de um substituto do enxerto ósseo disponível no mercado que é popularmente usado em odontologia clínica (BGS).

Foi realizada uma extensa revisão da literatura sobre o status da avaliação de risco da transmissão da EEB, e dois modelos de avaliação de risco foram identificados como aplicáveis ao presente estudo. Modelos de avaliação de risco desenvolvidos pelo Ministério Federal da Saúde Alemão e pela Associação de Fabricantes e Pesquisa Farmacêutica da América foram aplicados aos substitutos ósseo bovino.

Os resultados das análises realizadas usando os dois modelos mostraram que o risco de transmissão da doença encefalopatias espongiformes bovinas (EEB) a partir de substitutos ósseos bovinos era insignificante, mas que depende dos protocolos

rigorosos seguidos no fornecimento e processamento do osso bovino cru, usados no produto comercial.

Taylor em 2002, declarou que os príons, responsáveis pela doença de Creutzfeldt-Jakob em humanos e a Encefalite Espongiforme Bovina, diferentemente de bactérias e vírus, é resistente a procedimentos como autoclave ou exposição ao hidróxido de sódio. No entanto, o agente de EEB parece ser efetivamente inativado pela exposição a soluções de hipoclorito de sódio contendo altos níveis de cloro disponível. Mas a associação de substâncias alcalinas e o calor, mesmo a 100°C por 1 minuto, parece ser eficaz para desativar príons.

Azarpazhooh e Leake (2006), revisando as características dos príons, o risco de transmissão e as implicações para o controle de infecções em odontologia, concluíram que houve um aumento da conscientização científica e pública sobre as doenças causadas por príons. Embora a prevalência da doença seja baixa, o risco teórico de transmissão da doença por meio de tratamento odontológico aponta para a importância de manter padrões ótimos de controle de infecção e descontaminação.

Ghanaati et al. (2014), analisaram histologicamente a estrutura de dois blocos ósseos alogênicos e três xenogênicos, utilizados em cirurgia odontológica e ortopédica. O objetivo final era avaliar, após a aplicação de técnicas convencionais de coloração histológica e histoquímica, a presença de componentes orgânicos dentro dos blocos ósseos e sua qualidade de purificação. Foram obtidas comercialmente três amostras de cada material.

Os blocos de enxerto ósseo marcas, DIZG Human Spongiosa (Deutsches Zentrum für Zell- und Gewebeersatz, GmbH [DIZG]/German Institute for Cell and Tissue Replacement, Berlin, Germany), Tutobone block (Tutogen Medical GmbH, Neunkirchen am Brand, Germany), Puros Allograft block (Zimmer Dental GmbH, Freiburg, Germany), OsteoBiol Sp-Block (Tecross, Giaveno, Italy) e Bio-Oss block (Geistlich Biomaterials, Wolhusen, Switzerland), foram preparados histologicamente e analisados de acordo técnicas padronizadas.

Os resultados mostraram que três dos cinco blocos ósseos continham remanescentes orgânicos/celulares (Puros Allograft block, OsteoBiol Sp block e Tutobone block), conforme revelado pela histologia. Embora os fabricantes de todos os cinco materiais substitutos ósseos declararam que seus blocos estavam livres de tais remanescentes. Segundo os autores, esses remanescentes podem resultar em

uma inesperada resposta imune indesejada, induzindo uma reação de corpo estranho, comprometer a segurança, biocompatibilidade e função, além de transmitir doenças.

Neste estudo, os resultados histológicos dos blocos do Bio-Oss block revelaram a ausência de componentes celulares. Não houve discrepância entre os resultados observados e os descritos pelo fabricante.

Os autores concluem que existem aspectos regulatórios complexos e dificuldades relacionadas à seleção de doadores, processamento de material para remoção de todos os agentes transmissores de doenças e processos de esterilização, que precisam ser melhor estudados.

Kim, Nowzari e Rich (2011), em uma extensa revisão da literatura onde pesquisaram presença de infecciosidade de príons de EEB (encefalopatia espongiformes bovinas) no osso bovino cru, inativação de príons de EEB pelo processo de fabricação de substitutos ósseos, conteúdo de proteínas em substitutos ósseos bovinos anorgânicos e validade dos métodos de diagnóstico de EEB, concluíram que ainda não existem estudos que comprovem a eficácia da inativação do príon da EEB no tratamento utilizado no processo de obtenção do substituto ósseo bovino. Indica que biomateriais de enxerto derivados de bovinos podem apresentar risco de transmissão de príons para os pacientes.

De acordo com Singh, Mahesh, Shukla, (2013), apesar dos xenoenxertos serem usados a décadas, após a descoberta da encefalopatia espongiforme bovina (EEB), o uso dos xenoenxerto “sem risco de doença” começou a ser questionado. O xenotransplante pode permitir que organismos infectem os receptores do enxerto, que podem, conseqüentemente, contrair doenças desconhecidas. Dessa forma, o xenoenxerto pode representar um risco tanto para a saúde pública quanto para a saúde individual.

Em 2016, Kim, Rodriguez e Nowzari, em um novo trabalho, realizaram uma revisão bibliográfica, onde quatro perguntas foram apresentadas para investigação pela literatura disponível.

1. Existe infecciosidade com príons da EEB em osso bovino cru?
2. Se presente, a infecciosidade será inativada pelo tratamento utilizado no processo de fabricação de substitutos ósseos bovinos anorgânicos?
3. Os processos de desproteinização podem remover as proteínas dos substitutos ósseos bovino anorgânico completamente?
4. Os testes de diagnóstico atuais de EEB são confiáveis e válidos?

Concluíram que a capacidade limitada de rastrear príons dentro do genoma animal, juntamente com um longo período de latência para manifestação da doença (1 a mais de 50 anos) em pacientes infectados, fornece uma estrutura para discutir possíveis riscos a longo prazo dos xenoenxertos que são usados tão extensivamente em odontologia. O aconselhamento do paciente deve incluir uma descrição clara da origem do enxerto. Uma avaliação cuidadosa dos artigos publicados revela uma grande variação nos desenhos dos estudos, criando condições para conclusões errôneas a partir dos métodos utilizados. Frequentemente, pode-se notar o uso de definições amplas ou vagas e erros em modelos analíticos. Com os avanços feitos na biologia óssea, as alternativas disponíveis devem ser consideradas. Sugerem abolir o uso do osso bovino da odontologia.

Os materiais substitutos ósseos xenógenos têm que passar por processos de purificação controlados para serem adequados para aplicação clínica. Assim, Orłowska *et al.* (2018) analisaram a estrutura e composição de um novo material disponível no mercado para substituto ósseo derivado de osso bovino, o SmartBone® (IBI SA Indústria Biomédica Insubri SA Mezzovico-Vira, Suíça; distribuído por RESORBA® Medical GmbH, Nürnberg-Alemanha). Histologicamente os blocos sintéticos de xenoenxertos Smart-Bone mostraram que alguns dos canais haversianos estavam livres de material orgânico, enquanto outros incluíam estruturas tipo tecido conjuntivo. Além disso, restos orgânicos de matriz extracelular e resíduos celulares foram encontrados na área intertrabecular. Algumas das lacunas dos osteócitos exibiram resíduos celulares. Os autores concluem não saber se esses restos orgânicos podem influenciar na estabilidade dos blocos e na capacidade de regeneração tecidual ou mesmo levar a uma reação imunológica. Deste modo, questionam se os clínicos devem aceitar ou não os remanescentes orgânicos dentro dos blocos ósseos.

Benke, Olah e Möhler (2001) analisaram por meio de cinco métodos diferentes, o substituto ósseo Bio-Oss (Geistlich-Pharma) em relação às suas propriedades biofísicas, características de coloração histológica e conteúdo de proteínas, incluindo TGF. Dentro dos limites de detecção desses sistemas de ensaio, nenhum material proteico foi detectado no conteúdo do substituto ósseo Bio-Oss.

Já, Wenz, Oesch e Horst (2001), afirmam que o processo de fabricação da maioria desses substitutos ósseos inclui aquecimento por várias horas a temperaturas acima de 1000°C, transformando o material em cerâmica. No entanto, esses

produtos podem perder a micro porosidade do osso nativo e, portanto, sua capacidade osteocondutora pode ser reduzida. Além disso, a cerâmica não pode ser tão degradada quanto o material não sinterizado e, portanto, não é reabsorvida adequadamente.

Essas desvantagens podem ser superadas através do tratamento térmico do osso a temperaturas máximas em torno de 300°C, permitindo a preservação da estrutura óssea. Os autores afirmam que o tratamento alcalino associado à temperatura promoveu a inativação completa dos príons, tornando os substitutos ósseos testados seguros para uso clínico.

A Organização Internacional de Padronização (ISO), através da norma 1099 e seus subitens, compilou as fases pré-clínicas necessárias para caracterização de biomateriais, desde os estudos físico-químicos até os biológicos (*in vitro e in vivo*). Por outro lado, a Sociedade Americana de Testes e Materiais (ASTM) contribuiu para padronizar os métodos para avaliação da composição do osso inorgânico bovino para implantes cirúrgicos e, no cenário nacional, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é o órgão responsável por autorizar a comercialização de dispositivos para a saúde. A Organização Mundial de Saúde e o Conselho de Bioética de Nuffield determinam que animais utilizados como fonte de tecidos ou órgãos devem ser, obrigatoriamente, livres de patógenos conhecidos. Para os xenoenxertos de origem bovina, a preocupação com a encefalopatia espongiforme bovina (EEB) foi descartada com base nos seguintes aspectos: 1) uso de animais livres da EEB; 2) processamento adequado do osso com substâncias alcalinas capazes de remover o príon, agente etiológico da EEB, potencialmente existente; 3) extração da matéria-prima dos tecidos a partir de sítios com mínimo risco de transmissão da EEB: os ossos e tendões. No caso particular do Brasil, não há registros de EEB, tornando os materiais produzidos, desde que convenientemente processados, adequados para uso. (Castro-Silva, Zambuzzi, Granjeiro, 2009).

Temperaturas superiores a 700°C permitem a completa eliminação do conteúdo proteico e manutenção das características naturais da fração mineral do osso bovino, resultado em grânulos com boa estabilidade mecânica do material, livre de espículas e fragmentos micrométricos prejudiciais ao processo de reparo e biocompatível.

Segundo Barbeck, *et al.* (2017), inicialmente, a seleção dos animais doadores é o primeiro passo no processo de produção. Assim, para a produção dos materiais substitutos ósseos Bio-Oss e Cerabone, são utilizadas cabeças femorais bovinas de

matadouros registrados na Austrália e Nova Zelândia, pois os dois países são classificados como tendo um risco insignificante de EEB, de acordo com a Organização Mundial da Saúde Animal (OIE).

Uma outra etapa é a aplicação de métodos químicos e físicos. No entanto, esses métodos de purificação às vezes têm sido contestados. Assim, possíveis reações de rejeição e transferência de patógenos pela aplicação de materiais de reposição óssea xenogênica foram demonstrados, especialmente no período da crise da EEB. Como a purificação dos substitutos ósseos xenogênicos inclui tratamento térmico a diferentes temperaturas, essa diferença tornou-se de importância significativa para a segurança. Nesse contexto, sabe-se que o tratamento com temperatura acima de 800 ° C permite reduzir o risco de transferência de encefalopatias espongiformes bovinas (EEB) para um mínimo aceitável.

De acordo com Kacarevic; *et al.* (2018), enquanto o substituto ósseo Bio-Oss (Geistlich Biomaterials, Wolhusen, Switzerland) é submetido a um tratamento térmico baixo com temperaturas em torno de 300°C (xenoenxerto "não sinterizado"), O Cerabone (Botiss Biomaterials, Zossen, Germany) é tratado a temperaturas de até 1.250°C (chamado xenoenxerto "sinterizado"). É interessante notar que os processos de limpeza no processo de purificação da ossos de bovinos parecem influenciar as propriedades físico-químicas desses materiais substitutos ósseos. Embora esses materiais sejam aplicados com muita frequência na prática clínica diária, apenas existe um conhecimento escasso sobre as consequências biológicas das diferentes temperaturas na purificação do enxerto.

No caso de Bio-Oss, é aplicada uma etapa inicial de tratamento térmico em temperaturas de até 300°C, seguida de uma etapa de limpeza com um agente fortemente alcalino hidróxido de sódio (NaOH). O tratamento a baixa temperatura no caso de Bio-Oss tem por objetivo a preservação dos cristais minerais da matriz óssea.

Além disso, foi demonstrado que o tratamento de cepas de laboratório de gado ou hamster com hidróxido de sódio (NaOH) por 30 a 120 min resultaram em uma redução de pelo menos 100.000 vezes a infectividade por príons.

No processo de purificação do Cerabone, o tecido ósseo é tratado em alta temperatura (1.250 ° C) para remover todos os compostos orgânicos e também para matar príons, bactérias e vírus. Apesar do tratamento a alta temperatura, a porosidade e a estrutura da superfície da matriz óssea são preservadas.

Oliveira, Leão, Kiyota (2019), afirmam que a seleção de candidatos à doação de sangue tem como parâmetros de classificação o impedimento permanente ou temporário em virtude do risco de transmissão de agentes patogênicos e respostas reacionais no organismo receptor. As potenciais respostas imunogênicas podem representar um agravo ao estado fisiológico e real risco de morte no receptor de hemoderivados, por isso também são devidamente consideradas para o estabelecimento de critérios de impedimentos à doação. Alguns destes impedimentos afetam o cirurgião-dentista na sua prática clínica odontológica. Merecem destaque os procedimentos cirúrgicos de reconstruções teciduais em virtude das diferentes origens de tecidos e biomateriais empregados para estes fins, especialmente nas reconstruções ósseas.

A legislação brasileira, sobre o uso do sangue para fins transfusionais e hemoterápicos, versa de forma abrangente sobre todos os critérios metodológicos, desde a captação deste material humano até sua aplicação terapêutica, seus prognósticos e notificações compulsórias de possíveis reações adversas. Ela está baseada em diretrizes internacionais da Organização Mundial de Saúde (OMS) e é constituída por portarias ministeriais e resoluções colegiadas, pelo Ministério da Saúde (MS) e Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa).

Segundo o Blood Donor Selection Guidelines (2017), da OMS, ao receber uma enxertia autóloga ou de material sintético ou aloplástico, o paciente não adquire nenhum tipo de resposta fisiológica sistêmica que caracterize impedimento para doação sanguínea, o que é ratificado pela legislação, exceto em função do procedimento cirúrgico pelo uso de anestésicos, medicações e de mudanças fisiológicas naturais do reparo tecidual, como alterações da concentração celular sanguínea e de mediadores inflamatórios – situação em que, transcorrido o pós-operatório, se permite a doação sanguínea.

Com relação ao enxerto alógeno (de outro indivíduo da mesma espécie –banco de ossos) relaciona um impedimento temporário de 12 meses doação sanguínea.

Para os receptores de xenoenxertos e perfusão orgânica não humana, o impedimento de doação sanguínea deve ser permanente devido aos riscos desconhecidos da transmissão de infecções animais.

Ainda segundo Oliveira, Leão e Kiyota (2019), uma opção substitutiva ao osso humano autógeno e alógeno, o osso xenógeno (de origem animal), tem proporcionado a adesão de muitos cirurgiões em todo o mundo ao longo dos anos. Os biomateriais

mineralizados industrializados de origem xenogênica devem ser completamente isentos de matriz orgânica. Logo, deixam de ser osso em essência semântico-fisiológica e passam a ser exclusivamente um material com biocompatibilidade humana, portanto um biomaterial, em tese, incapaz de sensibilizar o organismo receptor. Todavia, processos fabris ineficientes, controle de qualidade e fontes de matéria-prima questionáveis podem gerar o fornecimento de produtos finais de baixa qualidade biológica, no tangente à segurança, que podem apresentar resquícios de matriz orgânica (fragmentos celulares, príons e proteínas) e, potencialmente, podem sensibilizar o receptor.

Os implantes de origem xenógena estão contemplados na legislação internacional pertinente à doação sanguínea com indicação de impedimento permanente, tal qual um órgão ou tecido porcino, por exemplo. Entretanto, esta distinção não foi reproduzida de modo claro nas normativas nacionais, o que trouxe dificuldade de interpretação adequada e informações desencontradas em diferentes unidades de bancos de sangue brasileiros. Os serviços de hematologia e hemoterapia, na seleção de doadores, podem impedir ou dispensar da doação os indivíduos que tenham recebido qualquer tipo de xenoenxertos pelo entendimento da normativa internacional, ou admitirem o doador de sangue, pela omissão desta diretiva na normativa nacional.

DISCUSSÃO

Nas últimas décadas, a pesquisa de biomateriais e a indústria relacionada desenvolveram um grande número de diferentes materiais substitutos ósseos, todos com o objetivo de evitar a necessidade de usar transplantes ósseos autógenos.

Como uma opção substitutiva ao osso humano autógeno e alógeno, o osso xenógeno (de origem animal), tem proporcionado a adesão de muitos profissionais em todo o mundo ao longo dos anos.

A conveniência de usar xenoenxertos pode ser influenciada pela possibilidade de transmissão de doenças priônicas ao homem. Os incidentes de doenças priônicas e especificamente de Encefalopatias Espongiformes Bovinas (EEB) em seres humanos enfatizaram essa probabilidade. (Sogal e Tofe, 1999).

Resíduos orgânicos dentro desses substitutos ósseos podem conter agentes patogênicos, príons ou material genético e, portanto, devem ser cuidadosamente removidos durante o processo de fabricação. (Singh, Mahesh, Shukla, 2013).

Kim, Rodriguez e Nowzari (2016) avaliando a presença de infecciosidade de príons de EEB (encefalopatia espongiforme bovina) no osso bovino cru, a inativação de príons de EEB pelos processos de fabricação de substitutos ósseos e a validade dos métodos de diagnóstico de EEB, concluíram que ainda não existem estudos que comprovem a eficácia da inativação do príon da EEB no tratamento utilizado no processo de obtenção do substituto ósseo bovino. Sugerem que os xenoenxertos sejam abolidos da prática odontológica.

Já Orłowska *et al.* (2018), após encontrarem restos orgânicos e resíduos celulares na área intertrabecular de blocos ósseos, questionam se os clínicos devem aceitar ou não os remanescentes orgânicos dentro dos blocos ósseos.

Todos os fabricantes atuais de osso anorgânico bovino mantêm suas técnicas específicas para a preparação desses materiais confidenciais. Como em todos os dispositivos médicos, essas são informações de natureza proprietária, que não são divulgadas pelos fabricantes de dispositivos médicos. No entanto, essas informações são divulgadas a órgãos reguladores, como a Food and Drug Administration e no Brasil a Anvisa.

No entanto, a metodologia geral para a geração de osso anorgânico bovino inclui a obtenção de animais de regiões de baixo risco. (Barbeck, *et al.* 2017) O processo envolve a utilização de material bovino jovem e saudável; separação física

do tecido ósseo; tratamento com solução alcalina concentrada e solventes orgânicos; e tratamento térmico prolongado a temperaturas superiores a 300° C.

A alegação de que a fabricação de osso anorgânico bovino não remove completamente proteínas também não é fundamentada. É bem estabelecido que os agentes biológicos da encefalopatia espongiforme (EEB) não sejam resistentes a muitos tratamentos físicos e químicos para inativar patógenos. Os métodos usados para inativar príons no tecido biológico incluem tratamento físico, como secar ou aquecer por autoclave e tratamento químico, como exposição a ácidos, bases, álcool ou outros solventes orgânicos, além de várias combinações desses métodos.

Vários autores afirmam que estudos demonstraram que um tratamento térmico em conjunto com um tratamento alcalino forte são métodos eficazes para a inativação e ou eliminação de príon de EEB, reduzindo assim o risco de infectividade. (Barbeck, *et al.* 2017; Kačarević, *et al.*2018; Castro-Silva, Zambuzzi, Granjeiro, 2009).

A Organização Internacional de Padronização (ISO), através da norma 1099 e seus subitens, reuniu informações necessárias para caracterização de biomateriais, desde os estudos físico-químicos até os biológicos (*in vitro e in vivo*). A Sociedade Americana de Testes e Materiais (ASTM) contribuiu para padronizar os métodos para avaliação da composição do osso inorgânico bovino para implantes cirúrgicos. A Organização Mundial de Saúde e o Conselho de Bioética de Nuffield determinam que animais utilizados como fonte de tecidos ou órgãos devem ser, obrigatoriamente, livres de patógenos conhecidos. A Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) determina que os animais doadores devam ser de regiões sem nenhum risco de transmissão de doenças. E no Brasil a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é o órgão responsável por autorizar a comercialização de dispositivos para a saúde.

Organização Mundial da Saúde em 2010 desenvolveu uma classificação do risco associado a diferentes tecidos e classificou os bovinos na categoria IC, que é: “Tecidos sem infecciosidade detectável”. Isso implica que os tecidos ósseos são considerados materiais de baixo risco para possível infecciosidade da EEB.

IA	Tecidos de alta infecciosidade: tecidos do SNC e certos tecidos que estão anatomicamente associados ao SNC.
IB	Tecidos com infecciosidade mais baixa: tecidos periféricos
IC	Tecidos sem infecciosidade detectável

Existe uma abordagem conflitante do que é um xenoenxerto. De acordo com o Dicionário Aurélio, “*xenoenxerto é um enxerto cirúrgico de tecido de uma espécie para outra distinta*”. Não se pode considerar um bloco ósseo ou grânulos, livres de material orgânico, que recebeu diversos tratamentos químicos e físicos da mesma forma que um fígado, rim ou coração de suínos por exemplo usados em transplantes.

Os biomateriais mineralizados industrializados de origem xenogênica devem ser completamente isentos de matriz orgânica. Logo, deixam de ser osso em essência semântico-fisiológica e passam a ser exclusivamente um material com biocompatibilidade humana, portanto um biomaterial, em tese, incapaz de sensibilizar o organismo receptor. (Oliveira, Leão, Kiyota, 2019).

Fica claro nesta revisão que, o xenoenxerto ósseo nada mais é que um arcabouço mineral esvaziado de seu conteúdo orgânico e presta-se, em eventos cirúrgicos, apenas como um agente condutor, um arcabouço no processo de neoformação óssea (Scopp, Kassouny, Morgan, 2020).

O produto de origem xenogênica industrialmente processado não deveria ser classificado como “osso” de origem animal. Ao usar a expressão “enxerto com osso de origem animal”, o profissional pode induzir o seu paciente ao erro de interpretação sobre possíveis consequências biológicas que poderiam gerar respostas imunogênicas por incompatibilidade interespecífica, além de suscitar aspectos culturais e religiosos (Oliveira, Leão, Kiyota, 2019).

O processo de fabricação da maioria desses substitutos ósseos inclui aquecimento por várias horas a temperaturas acima de 1.000°C, transformando o material em cerâmica. (Wenz, Oesch, Horst, 2001). Logo, deixam de ser osso em essência semântico-fisiológica e passam a ser exclusivamente um material com biocompatibilidade humana, portanto um biomaterial, em tese, incapaz de sensibilizar o organismo receptor (Oliveira, Leão, Kiyota, 2019).

Todavia, processos fabris ineficientes, controle de qualidade ineficazes e fontes de matéria-prima questionáveis podem gerar o fornecimento de produtos finais de baixa qualidade biológica, no tangente à segurança, que podem apresentar resquícios de matriz orgânica (fragmentos celulares, príons e proteínas) e, potencialmente, podem sensibilizar o receptor. Nestes casos, o recebimento cirúrgico deste tipo de biomaterial está contemplado na legislação internacional pertinente à doação sanguínea com indicação de impedimento permanente, tal qual um órgão ou tecido porcino, por exemplo. (Kim, Rodriguez e Nowzari.2016)

Assim, apesar de todos os cuidados apresentados pela indústria e pelos órgãos governamentais, a OMS (Blood Donor Selection Guidelines - 2017) determina que os receptores de xenoenxertos e perfusão orgânica não humana sejam impedidos permanentemente de doação sanguínea devido aos riscos desconhecidos da transmissão de infecções animais.

Esta determinação, publicada no Blood Donor Selection Guidelines – 2017 causa perplexidade uma vez que a própria OMS em 2010 classificou os tecidos ósseos bovinos na categoria IC, (sem infecciosidade detectável).

Ainda segundo o Blood Donor Selection Guidelines – 2017, ao receber uma enxertia autóloga ou de material sintético ou aloplástico, o paciente não adquire nenhum tipo de resposta fisiológica sistêmica que caracterize impedimento para doação sanguínea, exceto em função do procedimento cirúrgico pelo uso de anestésicos, medicações e de mudanças fisiológicas naturais do reparo tecidual, podendo doar sangue após transcorrido o pós-operatório. Com relação ao enxerto alógeno (de outro indivíduo da mesma espécie – banco de ossos) relaciona um impedimento temporário de 12 meses para doação sanguínea, tal qual para tatuagens e piercings.

Verifica-se a necessidade de um debate que pode se desdobrar em um novo entendimento por parte dos órgãos normatizadores sobre a natureza e especificidades do biomaterial xenógeno para enxertias ósseas em odontologia, que muito difere de alguns tecidos xenogênicos empregados em terapêuticas médicas.

CONCLUSÃO

- 1- Ao optar por biomateriais xenógenos, devido a processos fabris ineficientes, falta de controle de qualidade e fontes de matéria-prima questionáveis, dar preferência a produtos certificados pelas Anvisa e órgãos certificadores internacionais e baseados em pesquisas científicas que atestam a confiabilidade do produto.
- 2- O paciente deve ser devidamente esclarecido sobre a origem e formas de processamento dos biomateriais utilizados em enxertias ósseas bem como sobre possíveis impedimentos impostos pela legislação sobre doação sanguínea.
- 3- Deve constar do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado pelo paciente que existe na legislação internacional pertinente à doação sanguínea um impedimento permanente.
- 4- Os biomateriais mineralizados industrializados de origem xenogênica devem ser completamente isentos de matriz orgânica. Logo, deixam de ser osso em essência e passam a ser exclusivamente um material com biocompatibilidade humana, portanto um biomaterial, em tese, incapaz de sensibilizar o organismo receptor.
- 5- Verifica-se a necessidade de um debate que pode se desdobrar em um novo entendimento por parte dos órgãos normatizadores sobre a natureza e especificidades do biomaterial xenógeno para enxertias ósseas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- AZARPAZHOOH, A.; LEAKE, J. L.; **Prions in Dentistry — What Are They Should We Be Concerned, and What Can We Do?** J Can Dent Assoc.;72(1):53-60. Feb.2006.
- 2- BARBECK, M.; *et al.* **Xenogeneic bone grafting materials. Implants.** n. 3. p. 34-36. 2017.
- 3- BENKE D, OLAH A, MÖHLER H. **Protein-chemical analysis of Bio-Oss bone substitute and evidence on its carbonate content.** Biomaterials. ;22(9):1005-12. May 2001.
- 4- BLOOD DONOR SELECTION: guidelines on assessing donor suitability for blood donation. World Health Organization 2017. In: https://www.who.int/bloodsafety/publications/guide_selection_assessing_suitability.pdf.
- 5- CARVALHO, P. S. P.; *et al.* **Biomateriais aplicados a implantodontia.** ImplantNews, v.7, n.3, p.56-65. 2010.
- 6- CASTRO-SILVA, I. L., ZAMBUZZI, W. F., GRANJEIRO, J. M. - **Current overview of the use of xenograft in dentistry - Panorama atual do uso de xenoenxertos na prática odontológica - Innov Implant J, Biomater Esthet, São Paulo, v. 4, n. 3, p. 70-75, set./dez. 2009).**
- 7- GAMBETTI, P; KONG, Q; ZOU W, *et al:* **Sporadic and familiar CJD: Classification and characterisation.** Br Med Bull 66 (1):213–239, 2017.
- 8- GHANAATI, S.; *et al.;* **Potential lack of “standardized” processing techniques for production of allogeneic and xenogeneic bone blocks for application in humans.** Acta Biomaterialia. V.10; Issue 8, Pages 3557-3562. August 2014.
- 9- KAČAREVIĆ; Z. P.; KAVEHEI, F.; HOUSHMAND, A. *et al.- Purification processes of xenogeneic bone substitutes and their impact on tissue reactions and regeneration.* The International Journal of Artificial Organs 1–12. 2018.
- 10-KIM, Y.; NOWZARI, H.; RICH, S. K. **Risk of Prion Disease Transmission through Bovine-Derived Bone Substitutes: A Systematic Review.** Clinical Implant Dentistry and Related Research. Dec., 2011.

- 11-KIM, Y.; RODRIGUEZ, A. E.; NOWZARI, H.; **The Risk of Prion Infection through Bovine Grafting Materials.** Clinical Implant Dentistry and Related Research, Clin Implant Dent Relat Res.; 18(6):1095-1102. dec 2016.
- 12-OLIVEIRA, L. A.; LEÃO, M. P.; KIYOTA, R. B. **Biomateriais para enxertia óssea em Odontologia e doação de sangue. Uma análise técnica à luz da legislação brasileira.**
http://www.inpn.com.br/Materia/DiscussaoMerito/154238?utm_cam...=newsletter_-_inpn_637&utm_medium=email&utm_source=RD+Station. 2019.
- 13-LUPI, O. **Riscos na utilização de produtos de origem bovina.** An bras Dermatol, Rio de Janeiro, 78(1):7-18, jan./fev. 2003.
- 14-NUFFIELD COUNCIL ON BIOETHICS. Animal-to-Human Transplants the ethics of xenotransplantation. March 1996.
- 15-ORLOWSKA, A.; *et al.* **Xeno-synthetic bone block includes cellular remnants: Acceptable components or lack of purification?** Int. J. Growth Factors Stem Cells Dent.;1:70-3. 2018.
- 16-PUSTIGLIONE, M., *et al.* **Doenças causadas por príons e provável nexó ocupacional.** Rev Bras Med Trab.;12(2):96-9, 2014.
- 17-RODOLFO, L. M. *et al.* **Substitutos ósseos alógenos e xenógenos comparados ao enxerto autógeno: reações biológicas.** Rev. Brasileira Multidisciplinar. Vol. 20, n.1, julho 2017.
- 18-SINGH, R.; MAHESH, L.; SHUKLA, S.; **Infections Resulting from Bone Grafting Biomaterials.** International Journal of Oral Implantology and Clinical Research. 4(2):68-71. May-August 2013.
- 19-SOGAL A, TOFE A. J. **Risk assessment of bovine spongiform encephalopathy transmission through bone graft material derived from bovine bone used for dental applications.** J Periodontol. 70(9):1053-63. Sep,1999.
- 20-TAYLOR, D.; **Inactivation of the BSE agents. Comptes Rendus Biologies.** Volume 325, Issue 1.; p. 75-76. January 2002.
- 21-WENZ, B.; OESCH, B.; HORST, M.; **Analysis of the risk of transmitting bovine spongiform encephalopathy through bone grafts derived from bovine bone.** Biomaterials. 22(12):1599-606 · July 2001.
- 22-WHO Guidelines. Blood donor selection. In:
<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle>.

23-WHO Tables on Tissue Infectivity Distribution in Transmissible Spongiform Encephalopathies.

<https://www.who.int/bloodproducts/tablestissueinfectivity.pdf>

24-World Health Organization. WHO guidelines on tissue infectivity distribution in transmissible spongiform encephalopathies. 2006.

<https://www.who.int/bloodproducts/TSEPUBLISHEDREPORT.pdf>

25-World Health Organization. WHO tables of tissue infectivity. 2010.

<http://www.who.int/bloodproducts/tablestissueinfectivity.pdf>.