



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY



INDT

Instituto Nacional
de Donación y Trasplante
de Células, Tejidos y Órganos
MSP-UDELAR
Uruguay

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE MEDICINA**

**Ciclo de Metodología Científica II - 2020
Grupo 81**

MONOGRAFIA DE REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

**“Puesta a punto en el procesamiento y
aplicación clínica de aloinjertos
osteotendinosos”**

**Instituto Nacional de Donación y Trasplante de Células, Tejidos y
Órganos (INDT).**

Responsables:

Juan CALASSO

Juanmanuel DIEGO

Andrés ERRAMUSPE

Yoana BERTINAT

Federico OLIVEROS

María del Pilar FERRES

Orientadores:

Asist. Dr. Cecilio MACHADO, Asist. Dr. Mateo BUENO y Prof. Adj.

Dr. Daniel MACHIN.

Montevideo, 15 de Noviembre de 2020

I. ÍNDICE DE CONTENIDOS

II. RESUMEN.....	2
III. ABSTRACT.....	3
IV. INTRODUCCIÓN	4
Propiedades del tejido óseo	4
El Instituto Nacional de Donación y Trasplante (INDT)	4
Aloinjertos osteotendinosos.....	6
V. OBJETIVOS	8
VI. METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA.....	8
VII. RESULTADOS.....	9
Procedimiento para la obtención de tejidos osteotendinosos.....	9
Medios de conservación	10
Distribución y transporte	11
Indicaciones terapéuticas	12
Factores contaminantes	13
Métodos de descontaminación.....	15
Métodos de esterilización	18
Métodos de conservación.....	19
VIII. DISCUSIÓN	21
IX. CONCLUSIONES	23
X. BIBLIOGRAFÍA	24

II. RESUMEN

Introducción: El uso de injertos osteotendinosos es una práctica común en la cirugía reparadora a nivel mundial con el objetivo de brindar estabilidad mecánica donde hay un defecto permitiendo la reconstrucción esquelética, siendo los aloinjertos la opción más viable en defectos grandes y complejos.

En Uruguay, el INDT se encarga de brindar atención activa e integral en materia de trasplantes células, tejidos, órganos y medicina regenerativa a toda la población. Actualmente el INDT brinda tejidos óseos en diferentes presentaciones, por lo que se ha planteado también la posibilidad de brindar tejidos tendinosos.

Objetivos: Conocer el procesamiento y aplicación clínica de los tejidos osteotendinosos, investigar los beneficios terapéuticos y su aplicación clínica y describir los métodos aplicados que brinden bioseguridad y calidad estructural.

Metodología: Se realizó una revisión bibliográfica sobre todo el procesamiento de los aloinjertos osteotendinosos en general, incluyendo la obtención, procesamiento, desinfección y preservación de los mismos con el fin de conocer las posibles ventajas y desventajas a la que se enfrentan los bancos multitejidos a la hora de implementar nuevos injertos.

Conclusiones. Existen múltiples tipos de tejidos osteotendinosos para uso clínico, su obtención y procesamiento es un trabajo complejo y sistematizado debiendo cumplir las pautas internacionales. Los principales métodos de conservación son la liofilización, el congelamiento y la criopreservación, sin embargo, en el Uruguay el congelamiento es el único método empleado, se destaca la escasez de bibliografía a nivel nacional sobre la obtención y el procesamiento del tejido hueso-tendón-hueso, cuya aplicabilidad en un futuro sea una nueva alternativa terapéutica.

Palabras clave: Tejidos osteotendinosos, procesamiento, aplicación clínica, aloinjertos, radioesterilización.

III. ABSTRACT

Introduction: The use of osteotendinous grafts is a common practice in reconstructive surgery worldwide with the objective of providing mechanical stability where there is a defect, allowing skeletal reconstruction, allografts being the most viable option in large and complex defects. In Uruguay, the INDT is in charge of providing active and comprehensive care in the area of cell, tissue, organ and regenerative transplantation to the entire population. Currently the INDT provides bone tissues in different presentations, so the possibility of providing tendon tissues has also been considered.

Objectives: To know the processing and clinical application of osteotendinous tissues, to investigate the therapeutic benefits and their clinical application, and to describe the applied methods that provide biosafety and structural quality.

Methodology: A bibliographic review was carried out on all the processing of osteotendinous allografts in general, including their obtaining, processing, disinfection and preservation in order to know the possible advantages and disadvantages that multi-tissue banks face when time to implement new grafts.

Conclusions: There are multiple types of osteotendinous tissues for clinical use, their obtaining and processing is a complex and systematized work and must comply with international guidelines. The main preservation methods are lyophilization, freezing and cryopreservation, however, in Uruguay freezing is the only method used, the scarcity of national bibliography on obtaining and processing bone tissue stands out. -tendon-bone, whose applicability in the future is a new therapeutic alternative.

Key words: Osteotendinous tissues, processing, clinical application, allografts, radiosterilization.

IV. INTRODUCCIÓN

El aloinjerto osteotendinoso constituye el tejido de un donante fallecido con el propósito de su aplicación a un receptor de la misma especie. Dentro del tejido osteotendinoso se incluyen el tejido óseo, tendones y partes blandas (fascia lata y meniscos).

Debido a los avances en los procedimientos de obtención y desarrollo de nuevos tipos de aloinjertos estos tejidos representan una alternativa terapéutica para una amplia diversidad de patologías pudiendo mejorar en muchos de los casos la función y la morfoestructura osteotendinosa.

Propiedades del tejido óseo

El tejido óseo posee ciertas propiedades y características que lo hacen especialmente apropiados para ser utilizados como aloinjertos. Estas propiedades son:

- **Osteogénesis:** Es la formación de tejido óseo a partir de células vivas provenientes del injerto, sin embargo, esta propiedad está limitada a los injertos autólogos.
- **Osteoinducción:** Es un proceso a partir del cual se induce la osteogénesis. Implica el crecimiento, desarrollo y maduración ósea. Células de origen mesenquimal de la zona receptora se transforman en células osteoformadoras. Esta característica está presente tanto en injertos autólogos como aloinjertos.
- **Osteoconducción:** Es la propiedad del hueso de crecer en una superficie. En el caso del aloinjerto óseo, el mismo sirve como guía para la neoformación ósea donde será colonizada por vasos sanguíneos y células osteoprogenitoras de la zona receptora.¹

El Instituto Nacional de Donación y Trasplante (INDT)

Tiene como objetivo estratégico brindar atención activa e integral en materia de trasplantes de células, tejidos, órganos y medicina regenerativa a toda la población uruguaya, de conformidad a los principios legales y éticos y a los conocimientos científicos vigentes, fortaleciendo y coordinando la actividad transplantológica en el Uruguay para la mejora de la salud de la población.

Para cumplir sus objetivos, el INDT cuenta con las diversas unidades organizativas, cada una con un rol específico. Dentro del mismo se cuenta con el área destinada a coordinar los trasplantes

para asegurar la disponibilidad de los órganos y tejidos a nivel nacional; el Laboratorio de Inmunogenética y análisis encargado de realizar los diagnósticos inmunogénicos; el Banco de Tejidos, Trasplante Celular, el laboratorio de Ingeniería Tisular y Celular y el departamento de asignación que se encarga de garantizar la equidad distributiva de los órganos.

También se cuenta con el registro nacional de donantes y estadísticas, el mismo se encarga del registro de voluntades anticipadas de donación y no donación, para organizar la logística de los procedimientos de emergencia. Estas divisiones y departamentos promueven la implementación de las políticas institucionales de acuerdo a la legislación vigente, garantizando la alta calidad de los productos biológicos y la seguridad en la operativa de la donación y el trasplante, dentro de un marco ético.

Cometidos Sustantivos

- Generales: Implementación de una política nacional de donación y trasplante de células, tejidos y órganos de origen humano de acuerdo a las normas y principios bioéticos. Asesoramiento al Ministerio de Salud Pública y organismos estatales acerca de la donación y trasplante en todos sus aspectos éticos y legales con el fin de promover una cultura de donación e impulsar la investigación.
- Específicos: Garantizar la disponibilidad y la asignación rigurosa de órganos y tejidos para implantes y trasplantes. Establecimiento de pautas, técnicas y requisitos para los procesos de donación. Asegurar un adecuado flujo de información sobre donación y trasplante con el fin de retroalimentar el Sistema Nacional de Donación y Trasplante.

En Uruguay todas las personas tienen derecho al trasplante en las mismas condiciones, con independencia del sistema al que pertenezcan, ya sea público o privado, sin distinción de naturaleza alguna más que la pertinencia terapéutica, el acceso equitativo y oportuno a los beneficios de una atención integral en materia de trasplantes de células, tejidos y órganos y medicina regenerativa; amparando a los habitantes de la República en el marco de la legislación vigente que regulariza y establece condiciones tanto éticas como legales para la donación de órganos tejidos y células en el territorio. La ley 14.005 fue la primera ley creada en el año 1971 misma que a lo largo del tiempo presentó algunas modificaciones reflejadas en la Ley 17.668 del 2003 y 18968 del 2012; la primera radicó en establecer la otorgación o la oposición del consentimiento de la donación después de la muerte sobre toda persona mayor a 21 años, en los menores de edad o incapaces dicho consentimiento debía ser otorgado por sus representantes

legales, con las modificaciones posteriores se obtuvo que dicho consentimiento u oposición sea otorgada por toda persona mayor de edad y agrega otro requisito, el uso pleno de sus facultades.

Otro de los requisitos implementados radica en el caso en que la muerte amerite pericia forense - en el caso de los adultos fallecidos sin haber expresado su voluntad en contrario- sea considerado como donante posterior a la autorización del Juez competente y el Médico forense actuante, en esta misma situación los menores de edad en la que la causa amerite pericia forense deberán de igual manera ser considerados donantes, caso contrario se deberá solicitar consentimiento a sus representantes legales, estatutos mantenidos a la actualidad.

Posteriormente la última modificación y quizá la más importante realizada en el 2012 y entrada en vigencia a partir del 2013 establece que *“toda persona mayor de edad que, en pleno uso de sus facultades, no haya expresado su oposición a ser donante se presumirá que ha consentido a la ablación de sus órganos, tejidos y células en caso de muerte, con fines terapéuticos o científicos”*; determinando de esta manera la condición de donante presunto en todo aquel que no haya registrado su oposición a la donación. Del mismo modo esta legislación prevé las características para la donación en vida, refiriéndose a los requisitos para la donación a favor de persona determinada tanto en adultos como en menores.

Aloinjertos osteotendinosos

Constituye la siguiente variedad de tejido:

- Cubos de cortico-esponjosa: Constituyen porciones de huesos cortados en forma de cubos de diferentes tamaños (generalmente de 1 a 10 mm de diámetro) generando así lo que se conoce como “chips”, los tamaños generalmente son adecuados de acuerdo a la necesidad terapéutica en cada caso, este tipo de tejido proporcionan una matriz osteoconductora y osteoinductora. Este tipo de tejido puede ser obtenido de las epífisis de huesos largos, cuerpos vertebrales o hueso ilíaco y en algunos casos de la porción cortical de las diáfisis.
- Tablas: Los fragmentos corticales están hechos de segmentos circunferenciales completos, hemicilindros o fragmentos planos de fémur, tibia, húmero o peroné pudiendo ser de varios tamaños dependiendo de la longitud del hueso del donante. Los aloinjertos de fragmentos corticales se unen al hueso huésped a través de la formación de callo, restaurando la reserva ósea pudiendo también ser utilizada como placa biológica.
- Polvo: Resultado obtenido posterior al proceso de Liofilización del hueso.
- Bloques óseos: Pueden ser esponjosos o cortico esponjosos, se obtienen de epífisis de huesos largos o cuerpos vertebrales.

- Tendón: Preferentemente tendones rotulianos o de Aquiles (con o sin bloques óseos).
- Hueso-tendón-hueso. Reportado por la literatura hueso tendón - hueso rotuliano ².

V. OBJETIVOS

Objetivo general:

1. Conocer el procesamiento y aplicación clínica de los tejidos osteotendinosos.

Objetivos específicos:

1. Investigar los beneficios terapéuticos y la aplicación clínica de aloinjertos osteotendinosos.
2. Describir los métodos de procesamiento a estos tejidos que brinden bioseguridad y calidad estructural.

VI. METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA

Se realizó una revisión bibliográfica nacional e internacional de estudios relevantes publicados en Pubmed y Timbó. Se incluyeron todos los trabajos relacionados al tema sin importar el diseño, no se incluyeron artículos en base a criterios de inclusión ni exclusión más que las palabras claves y operadores booleanos para delimitar la búsqueda bibliográfica, los mismos se realizaron tanto en idioma inglés como español. Se utilizó también la bibliografía disponible en el Banco Multitejidos del Instituto Nacional de Donación y Trasplante de Células, Tejidos y Órganos.

VII. RESULTADOS

Los aloinjertos se presentan como una excelente alternativa a los tejidos autólogos ya que muchas veces estos pueden no ser suficientes para reparar el daño sin generar una alta morbilidad en el sitio donante; sin embargo, a pesar de ser una excelente alternativa se debe tener en cuenta las contaminaciones que puede presentar, siendo esta una de las complicaciones más importantes. Dicha complicación puede presentarse en todo el proceso del tejido, desde la procuración hasta en el momento posterior al uso clínico en los pacientes.

De acuerdo a la bibliografía consultada existe una escasez de estudios dirigidos a evaluar el proceso de obtención de tejidos destacando la presencia del *The Guide to the quality and safety of tissues and cells for human application* de la Unión Europea como protocolo referente internacional para la obtención, esterilización y preservación de los tejidos. Existen diversas formas de extracción de los mismos manteniendo condiciones asépticas, elaboración de estudios microbiológicos, aplicación de medios de cultivos así como métodos de esterilización, decontaminación y preservación.²

Procedimiento para la obtención de tejidos osteotendinosos

Para garantizar la bioseguridad y adecuada funcionalidad del injerto se deberán seleccionar adecuadamente los donantes teniendo en cuenta múltiples factores tanto generales como específicos, que puedan condicionar su ablación y aplicabilidad, se deberá tener en cuenta:

- Edad avanzada, causa de muerte, hora de fallecimiento y tiempo transcurrido hasta el comienzo de la obtención de los tejidos. (No mayor a 6 horas de la parada cardíaca).
- Toda sepsis está debidamente fundamentada.
- Infección cercana o propia del tejido a donar.
- Enfermedades osteotendinosas que afecten la calidad del tejido
- Factores de riesgo propios de adquirir alguna enfermedad infecciosa ya sea por su comportamiento social y factores relacionados a viajes a zonas pasibles de adquirir enfermedades infecciosas.
- Examen físico: fundamentalmente búsqueda de indicios o signos que puedan ser compatibles con patologías autoinmunes, de transmisión sexual o infeccioso en general.
- Las enfermedades transmisibles como el VIH, el virus de la Hepatitis C (VHC), el virus de la Hepatitis B (VHB), el Chagas, la Sífilis, el Citomegalovirus, el Virus del

Epstein Barr y las enfermedades autoinmunes constituyen entidades que descartan un donante.

- La hemodilución como factor predisponente a la presencia de falsos negativos en el estudio de las enfermedades infecciosas.

La procuración o procedimiento de extracción del tejido debe ser llevado a cabo por un equipo con al menos dos integrantes (cirujano y asistente) pero podrá variar dependiendo del número de tejidos a extraer. Se debe realizar en sala quirúrgica maximizando las condiciones asépticas tanto de la sala como de los integrantes (lavado de manos, guantes, protectores faciales, etc.).

El etiquetado y el envasado deberá garantizar buenas condiciones para el traslado del mismo buscando mantener la integridad y las características del tejido. Para ello requerirá de bolsas que resisten el almacenamiento a bajas temperaturas y la radio esterilización de acuerdo al protocolo correspondiente. A su vez se emplea un sistema de triple envasado buscando mantener la esterilidad tanto interna como externa del contenedor del tejido.

El etiquetado deberá contar con la siguiente información: procedencia y destino del mismo, código de identificación del donante, código del banco y del tejido, tipo de tejido que contiene, fecha y hora de la obtención del tejido. Datos adicionales como fecha y hora de salida del banco, resultado de las pruebas serológicas y microbiológicas realizadas deberán quedar debidamente asentadas en la historia clínica del donante.

Medios de conservación

Una vez obtenido el material deben ser preservados hasta su traslado para su utilización. Se deben mantener las condiciones del tejido, para ello se utilizan diversos agentes químicos sobre todo para su decontaminación. Se puede emplear la adecuación medioambiental a través de la congelación, la criopreservación o la liofilización a fin de impedir o retrasar el deterioro biológico o físico del tejido, es importante tener en cuenta que dentro del proceso de control de calidad se deberán aplicar procedimientos adecuados para la identificación de potencial agentes microbiológicos mediante la toma de muestras durante la ablación y el procesamiento previo a la liberación del tejido.

La estructura orgánica y mineral deben garantizar la estabilidad mecánica, y actuar como guía adecuada para el receptor. El componente mineral se puede conservar en todas las condiciones, sin embargo, el componente orgánico, constituido casi en su totalidad por colágeno, se degradará

por la acción de las colagenasas. Así los diferentes métodos de conservación tienen como fin evitar la degradación del colágeno

La congelación es un proceso en el cual se utiliza la disminución de la temperatura, la que busca retrasar la acción de las colagenasas y otras proteasas que no quedan suprimidas totalmente hasta los -70°C . disminuyendo del mismo modo la inmunogenicidad de estos tejidos. Pudiendo presentar como inconveniente que el frío no tiene ninguna acción sobre una eventual contaminación bacteriológica, puesto que algunas bacterias y virus pueden resistir estas temperaturas.

Los sistemas de congelación deben estar monitorizados electrónicamente, con registro permanente de temperatura, además de contar con dispositivos de alarma (acústica y visual) a modo de evitar variaciones de temperatura que se encuentren más allá de los límites preestablecidos. Lo más frecuente es que se utilicen congeladores eléctricos de bajas temperaturas que puedan llegar hasta los -80°C .

La criopreservación tiene la finalidad de conservar la viabilidad y funcionalidad de las células someténdolas a muy bajas temperaturas entre -80°C y -196°C , sin embargo su aplicabilidad con este sistema de conservación es discutido.

La liofilización es un proceso que permite conservar los injertos por medio de la deshidratación de los mismos, congelándose al vacío y la sublimación del hielo resultante. El producto final del proceso presenta las ventajas de que se almacena a temperatura ambiente y que la inmunogenicidad es inferior a la del tejido congelado; presentando como desventaja que al alterar la estructura del injerto, deben tenerse en cuenta sus indicaciones en el caso de solicitudes mecánicas cuya función sea el sostén en el receptor.

Distribución y transporte

Deberán emplear los medios necesarios para que los tejidos lleguen en adecuadas condiciones. El material biológico se debe transportar en un recipiente apropiado que conserve el material refrigerante (hielo seco), el cual garantice una temperatura óptima para su conservación y posterior retorno en caso de no ser utilizado.²

Debe ir acompañado de su correspondiente etiqueta de envío, adjuntando la documentación pertinente según el protocolo de coordinación establecido.²

El proceso de Trazabilidad permite mantener un sistema de recogida de información automatizada y detallada para cada donante, donde se asigna un código único y para cada uno de los tejidos asociadas a éste, permitiendo así mantener un registro de las actividades desde la selección del donante hasta su aplicación terapéutica en el receptor. La finalidad de este sistema es permitir conocer y rastrear el tejido extraído, su procesamiento, almacenamiento y distribución hasta su destino final y viceversa.²

Otro de los procesos a realizar constituye la biovigilancia, proceso fundamental para garantizar la calidad y seguimiento de los tejidos mediante la adecuada identificación y registro de efectos y reacciones adversas que puedan influir en la calidad de los tejidos desde la obtención hasta su injerto. En caso de registrarse algún efecto o reacción adversa se debe realizar una notificación obligatoria.²

Indicaciones terapéuticas

- Cirugía protésica: Es el cambio de un segmento óseo, causado por el defecto o pérdida, su relleno puede ser mediante injertos estructurales y chip de hueso esponjoso.
- Cirugía tumoral: Se sustituye la zona ósea afectada por un tumor o por defectos de resección por segmento óseo. Esta sustitución puede ser extensa y se pueden usar aloinjertos como injerto intercalar e injerto osteoarticular.
- Aporte óseo en fracturas: En ciertas fracturas se producen pérdidas de tejido óseo que no permite un adecuado desarrollo de regeneración y consolidación de la misma, para mejorar este proceso se realiza la colocación de tejido óseo.
- Ligamentoplastias: Es la sustitución de un ligamento roto por un aloinjerto tendinoso sano. Conservando de esta manera la funcionalidad de la articulación.
- Cirugía maxilofacial: Se utilizan implantes en el caso de resección de partes óseas que se puedan encontrar afectadas por una patología tumoral en la que es inminente la resección de la parte afectada y su sustitución por un aloinjerto óseo. Se puede aplicar también en la reconstrucción alveolo dental.
- Neurocirugía: Podría utilizarse para reconstrucción de calota o cirugías reparadoras de hernias discales.

Entre algunas de las ventajas se identifica la disminución de la morbilidad ya que no se requiere de otros abordajes. También disminuye los costos ya que hay una reducción de los tiempos quirúrgicos y de la necesidad de materiales. Otro beneficio a destacar es que se pueden obtener variedad de tamaños y formas, lo que permite en algunos casos conservar la extremidad afectada. Para el paciente tiene una rápida inserción a sus actividades habituales además de una alta tasa de bioseguridad cuando se cumplieron con todos los protocolos establecidos.^{3,4}

Las principales complicaciones pueden ser infecciosas o mecánicas, dentro de las últimas se incluyen la pseudoartrosis, fractura y rotura de ligamentos que pueden ser generados al momento de la radio esterilización sobre todo en los tejidos osteotendinosos (hueso-tendón-hueso).^{3,4}

Entre las complicaciones infecciosas se identificó que la mayor fuente de contaminación es exógena, estas se dan principalmente en el procedimiento de obtención de los tejidos, aunque no es posible descartar la invasión microbiológica procedente de focos infecciosos previos a la muerte del donante.^{3,4}

Las complicaciones mecánicas consisten en fracturas a consecuencia de la utilización de placas de osteosíntesis sobre la pared en varios puntos lo que favorece la rotura del injerto. El tratamiento consiste en la inmovilización estricta del foco de fractura, la viabilidad del injerto se evidencia mediante la formación de un callo óseo ya que traduce la capacidad de inducción de formación de hueso nuevo.

La pseudoartrosis puede estar determinada por la utilización de quimioterapia sistémica, radioterapia y edad del receptor.^{3,4}

Factores contaminantes

De acuerdo a la literatura consultada se han propuesto diversos factores que podrían favorecer la contaminación pero ya que cada estudio ha sido realizado con distintas metodologías no se realizará una comparación de los mismos sino que se sintetizarán sus resultados.

Se han propuesto y estudiado diversos factores predisponentes a la contaminación durante la obtención de tejidos donde se destacan entre los más importantes:

- Causa de muerte.
- Ingreso en UCI.
- No uso de antibioticoterapia.
- Número y tipo de tejidos extraídos.

- Nro. de miembros y experiencia del equipo.
- Tiempo de isquemia caliente.
- Localización anatómica.

La mayoría de los estudios coinciden en que existen factores que afectan la contaminación por patógenos de baja virulencia y otros que favorecen la contaminación por especies altamente patógenas.

La edad y el sexo no fueron significativos en la mayoría de los estudios a excepción del trabajo realizado por Paolin *et al.*⁵ donde los resultados del análisis estadístico indicaban que el género masculino tenía mayor riesgo de contaminación.

La causa de muerte en múltiples estudios no se encontró asociado a la contaminación^{6,7,8}, sin embargo en el estudio más reciente realizado por estudio de Paolin *et al.*⁵ concluyeron que la misma es un factor que predispone a la contaminación ya que los donantes que mueren fuera de los hospitales presentan mayor contaminación que los donantes que fallecen en el hospital, según el estudio esto podría deberse a las horas que transcurren hasta el comienzo de la obtención, a medida que aumenta el tiempo de isquemia se ve favorecido el crecimiento bacteriano. Esto también explica porque cuanto mayor es el tiempo transcurrido entre el pinzamiento aórtico y el comienzo de la extracción aumenta el riesgo de contaminación.

El tiempo en UCI se presenta al principio como factor protector frente a microorganismos altamente patógenos, pero a medida que aumentan los días se convierte en un factor predisponente, esto se explica debido al uso rutinario de antibióticos que en principio previenen la infección, pero en el correr de los días el paciente es colonizado por microorganismos más resistentes.^{5,8}

El uso de antibioticoterapia profiláctica única en donantes que no requirieron internación en UCI se muestra como un factor protector frente a microorganismos poco patógenos, mientras que el uso de antibioticoterapia múltiple no mostró mayor protección.

El número de miembros y experiencia del equipo se asocian directamente a la probabilidad de contaminación, la mayoría de los estudios coinciden que cuanto mayor es el número de miembros mayor es la probabilidad debido a que la contaminación puede no solo prevenir del propio donante sino también de la flora cutánea normal de los integrantes^{4,6}. La experiencia del equipo influye de forma inversamente proporcional, a mayor experiencia menor riesgo de obtener tejidos

contaminados, en el estudio de Naves *et al.*⁹ donde se analizó un único equipo durante 10 años se observó que la tasa de contaminación a lo largo de los años fue progresivamente menor.

Ningún estudio encontró asociación en cuanto a la obtención de órganos previo a la extracción de tejidos musculoesqueléticos. Si se encontró relación directa con el número de tejidos obtenidos debido a un mayor tiempo de extracción, mayor número de incisiones y aumento de probabilidad de que existan errores técnicos.

Con respecto a las muestras de tejidos no se observaron diferencias en el nivel de contaminación a excepción del tendón de Aquiles que podría explicarse debido a que para su obtención se requiere una mayor manipulación de la piel de la zona posterior del donante.^{7,10}

A pesar del estricto seleccionado de donantes y condiciones asépticas de las salas quirúrgicas se encuentran con frecuencia tejidos contaminados. Teniendo en cuenta esto, Paolin *et al.*¹¹ desarrollaron un procedimiento de desinfección a base de hipoclorito de sodio para aplicar en el momento de la extracción con el objetivo de reducir la carga biológica en pasos posteriores del manejo. En el estudio se dividió en dos grupos a los tejidos musculo esqueléticos (tratados y no tratados), en el grupo que recibió tratamiento se lo sumergió en hipoclorito de sodio 0,1% durante 5 minutos y posteriormente fueron enjuagados con solución salina isotónica; los autores argumentan que esta solución a ese nivel de concentración no afecta la estructura de los tejidos. En el estudio se concluye que como el objetivo no es eliminar la totalidad de la carga microbiana sino reducir la misma, el tratamiento es efectivo como adyuvante.

Métodos de decontaminación

Posterior a la extracción y debido a que existen múltiples factores que pueden actuar como factor contaminante los bancos de tejidos cuentan con una variedad de procesos que aseguran la seguridad de los aloinjertos para el trasplante antes de ser almacenados. Dentro de estos procesos se encuentran los métodos de desinfección donde se incluyen tratamientos químicos y antibióticos y los métodos de esterilización terminal donde se incluyen la irradiación, óxido de etileno o tratamientos térmicos y tienen la finalidad de eliminar la máxima cantidad los microorganismos vivos a un nivel particular después de realizado. Los métodos de descontaminación no pueden lograr erradicar la totalidad de microorganismos, pero si deben lograr una garantía de esterilidad, la cual se define como la probabilidad de que el tejido este infectado luego de haber sido sometido al tratamiento.¹² Estos métodos tienen la capacidad de eliminar los microorganismos patógenos a

distintos niveles y algunos no son totalmente inocuos, por ejemplo, en el caso de la irradiación ya que dependiendo de la dosis pueden alterar la estructura y función de los tejidos.

Los métodos de desinfección generalmente son utilizados como precursores para disminuir la carga biológica antes de someter el tejido a un método de esterilización. En algunos casos incluso el uso de antibióticos puede ser el único paso decontaminante ya que los tejidos no pueden someterse a otros procedimientos de desinfección por lo que los mismos deben asegurar la máxima esterilidad posible. Distintos estudios han desarrollado distintas formulaciones y han comparado su eficacia mediante análisis de cultivos.

Serafini et al.¹³ desarrollaron 4 “cócteles” antibióticos y los compararon con el que actualmente utilizan (cóctel Z), los mismos se detallan en la siguiente tabla tomada del estudio.

Antibiótico	Cóctel antibiótico (µg/ml)				
	Z	A	B	C	D
Ciprofloxacina	-	200	200	-	200
Ceftazidima	240	-	-	-	-
Gentamicina	-	200	-	200	200
Lincomicina	120	-	-	-	-
Meropenem	-	200	200	200	-
Polimixina B	100	-	-	-	-
Vancomicina	50	100	100	100	100

Fuente: Serafini et al.

Se comparó la eficacia entre los cócteles a 4 ° C durante 24 o 48 h y a 22 ° C durante 6 h. La susceptibilidad antimicrobiana se evaluó mediante suspensión bacteriana (0,5 McFarland), se realizó en múltiples pasos de desinfección con los distintos cócteles, en los primeros se descartaron los cócteles A y B ya que no mostraban una eficacia adecuada. Los resultados indican que los cócteles C y D fueron más efectivos que el cóctel Z. Los autores argumentan que esto podría ser debido al espectro más amplio de los antibióticos utilizados. El ensayo también concluyó que un tratamiento a 22 ° C durante 6 h tenían un mayor actividad bactericida que a 4 °C.

En el estudio desarrollado por Paolin *et al.*¹⁴ utilizaron como método de descontaminación la combinación de ceftazidima 240µg/ml, Lincomicina 120µg/ml, Polimixina B 100µg/ml y Vancomicina 50µg/ml. Mantuvieron los tejidos en el medio Roswell Park Memorial Institute (RPMI) a +4 °C durante 24-48 h una vez posterior a la extracción y una segunda vez luego del procesamiento. En el estudio se concluye que los descontaminantes fueron eficaces para los tejidos musculoesqueléticos ya que reportaron solamente un 0,4% de contaminación.

En un estudio posterior¹⁵ se utilizó este mismo cóctel antibiótico y se utilizó también un nuevo cóctel compuesto por medio BASE suplementado con sulfato de gentamicina 200 µg/ml, meropenem 200 µg/ml y vancomicina 100 µg/ml. Los aloinjertos fueron sometidos dos veces a estos cócteles (luego de la extracción y previo a ser preservados), se mantuvieron por al menos 48hs. El estudio reporta que el nuevo cóctel fue más eficaz, con la capacidad de disminuir la contaminación de forma más efectiva en ambos pasos de la descontaminación. Ambos estudios reportan que estos cócteles no afectan la estructura y función de los tejidos.

Montagner *et al.*¹⁶ utilizando una combinación de antibióticos (Gentamicina, Vancomicina y Meropenem) para la descontaminación observaron que a + 4°C la concentración de Meropenem disminuye en un día, en tanto la del resto de los antibióticos del cóctel se mantenía sin degradación significativa por siete días. Por lo que sugieren agregar el meropenem antes de agregar la solución de descontaminación para evitar la degradación de dicho antibiótico.

En un estudio realizado por Pitt *et al.*¹⁷ donde se comparó la eficacia de cuatro cócteles de antibióticos a + 4°C, +22°C, +37°C durante 24 hs. para la descontaminación, que se indican en la tabla.

Antibiótico (µg/ml)	A	B	C	D
Vancomicina	160	50	50	500
Gentamicina	180	4000/2000	4000	80
Ceftazidima	320	-	-	-
Imipenem	-	200	-	-
Polimixina B	-	200	-	80
Ciprofloxacina	-	-	200	200
Cefuroxima	-	-	-	250
Anfotericina	-	-	50	50
Nistatina	-	2.5X10 ⁶ IU	-	-

Fuente: Pitt *et al.*

Se llegó a la conclusión de que los cócteles eran más efectivos a +37°C para generar una muerte óptima de las bacterias. Por lo que un tiempo de descontaminación de 48 hs sería más efectivo para menores temperaturas.

Métodos de esterilización

Los dos métodos principales de esterilización que tienen efectos bactericidas y virucidas son el óxido de etileno y la irradiación gamma.

- Irradiación: Es la técnica de esterilización más frecuentemente utilizada. Los rayos gamma presentan una excelente penetración en el tejido óseo obteniendo la esterilización del tejido en un corto periodo de tiempo. Para poder garantizar su seguridad, el aloinjerto debe estar dentro de una bolsa de plástico que resista la dosis de radiación determinada. El principio fundamental frente a la esterilización mediante irradiación es obtener tejido con un margen de seguridad aceptable sin que este sufra mayores cambios en su estructura y comportamiento.
- Óxido de Etileno: Es un gas alquilante adecuado para la esterilización de aloinjertos y productos médicos sensibles al calor. Su uso se relaciona más bien de manera comercial para la esterilización de productos sanitarios. El principal inconveniente de este método de esterilización es la producción de un subproducto tóxico, la clorhidrina de etileno, que causa inflamación sinovial e influye en la respuesta celular. Por lo tanto, no se considera como un método adecuado de esterilización para aloinjertos¹⁸.

La irradiación gamma es un método eficaz para la esterilización de tejidos pero puede tener efectos adversos sobre las propiedades biomecánicas dependiente de dosis¹⁹ y la dosis a emplear se debe corresponder a la carga biológica, por ello se debe tener un estricto control sobre todas las etapas del procesamiento.²⁰ Se han desarrollado diversos estudios que analizan los efectos producidos por distintas dosis de radiación, la dosis utilizada más reportada en la bibliografía son 25 kGy.

El estudio de Hilmy *et al.*²¹ reporta un 100% de eficacia para la eliminación de patógenos con una radiación de 25 kGy.

Balsly *et al.*²² estudiaron el efecto sobre las propiedades mecánicas evaluando los tejidos mediante pruebas de compresión y tracción luego de la irradiación sobre hielo seco a dosis absorbida baja (18,3-21,8 kGy) y dosis absorbida moderada (24,0-28,5 kGy). Los resultados de este estudio demostraron que la radiación gamma de baja dosis absorbida no tiene ningún efecto sobre las propiedades mecánicas de los aloinjertos; mientras que la radiación gamma de dosis absorbida moderada demostró resultados similares a excepción del tendón rotuliano y la fascia que mostraron ciertas pérdidas en las propiedades mecánicas. Sin embargo, los autores concluyen que posiblemente estos cambios observados en las pruebas mecánicas no tengan importancia clínica,

ya que las propiedades medidas en ese estudio evaluaron principalmente el comportamiento de falla del aloinjerto.

Jeffrey et al.²² compararon los resultados clínicos de cirugía de reparación de ligamento cruzado anterior mediante uso de autoinjerto y aloinjerto esterilizado mediante radiación; los autores concluyeron que ambos tejidos tienen resultados clínicamente similares demostrando así que la irradiación es un método eficaz a las dosis correctas.

Por último, es importante mencionar que se han desarrollado estudios para evaluar la eficacia de esterilizantes alternativos. Los estudios de Bui et al. y Mazyar et al. compararon la eficacia de la desinfección con CO2 supercrítico e irradiación gamma, ambos estudios concluyen que no existen diferencias estadísticamente significativas en su eficacia. El CO2 supercrítico debe seguir siendo estudiado ya que es un método relativamente nuevo, prometedor pero poco estudiado.^{23,24} Por su parte Reich *et al.*²⁵ han propuesto la esterilización química con Genipin como una alternativa potencial a los métodos ya conocidos.

Como ya fue mencionado la desventaja de la irradiación gamma es que puede llegar a afectar las propiedades mecánicas del tejido. Múltiples estudios realizados mediante el análisis de un pretratamiento con ribosa previo a la esterilización con irradiación concluyeron que puede mantener las propiedades mecánicas más conservadas, además según estudio realizado por Woodside *et al.* no solo es efectivo para este fin, sino que también plantean que la ribosa podría reducir la cantidad de agua disponible para los microorganismos disminuyendo su supervivencia o incluso reaccionar con las bacterias reduciendo así la contaminación.^{26,27,28,29}

Métodos de conservación

Otro aspecto importante a tener en cuenta y que puede determinar la funcionalidad de las piezas de aloinjerto es el método de conservación al cual será sometido.

El período máximo de conservación actual es de cinco años. Las propiedades mecánicas de los aloinjertos osteocondrales frescos eran mejores que los injertos osteocondrales congelados. Una vez que se congelaron los aloinjertos osteocondrales, no se notó ninguna diferencia significativa dependiente del tiempo de ultracongelación en las propiedades mecánicas ensayadas de los aloinjertos osteocondrales.

La diferencia entre las propiedades mecánicas del aloinjerto osteocondral fresco y los aloinjertos osteocondrales ultracongelados podría deberse al efecto negativo de la irradiación sobre los

aloinjertos osteocondrales ultracongelados. Una explicación adicional podría deberse a la expansión de los líquidos congelados en el hueso congelado durante la descongelación.

Por lo tanto, el período de ultracongelación de los aloinjertos osteocondrales podría extenderse a un período más largo de hasta más de 4 años sin un mayor deterioro de las propiedades mecánicas de los aloinjertos osteocondrales ultracongelados.³⁰

Para determinar el método óptimo Kamiński *et al.* realizaron un estudio in vitro, compararon las resistencias a la tracción del tendón rotuliano humano variando los métodos de conservación, entre ellos: congelación profunda, glicerolización, liofilización y posteriormente se esterilizaron por radiación con dosis de 0, 25, 50 o 100 kGy.

Los resultados de las pruebas mecánicas a las cuales fueron sometidos los injertos sugieren que los que fueron ultracongelados conservan sus propiedades mecánicas iniciales en un grado aceptable para el uso en la aplicación clínica.

La temperatura durante la irradiación y el método de conservación pueden afectar la resistencia a la tracción. Se plantea que el método más eficaz para la preservación y conservación de la funcionalidad es la ultracongelación. Los injertos irradiados ultracongelados conservan mejor sus propiedades mecánicas dando como resultado la posible aplicación clínica. Estas investigaciones biomecánicas son el primer paso para evaluar la utilidad clínica. Todavía se necesitan más estudios extensos in vivo.^{31,32}

VIII. DISCUSIÓN

Antes de dar inicio a la discusión de este trabajo creemos necesario hacer énfasis en lo que es el escaso material a nivel nacional sobre los artículos científicos específicos sobre el procesamiento y obtención del hueso tendón hueso. No solo se presentó como una barrera para realizar dicho trabajo, sino que también es poco favorecedor, ya que, una forma de divulgar la ciencia y nuevos conocimientos es mediante la investigación, lo cual es necesario para quienes quieren entender, estudiar y ejercer la aplicación de nuevas técnicas y aumentar las opciones de aloinjertos. Nuestro objetivo en esta revisión fue motivación para generar investigación y conocimiento sobre el tema, y porque no, convertir a Uruguay en un referente internacional sobre dicho tema.

En esta revisión se encontró que los tipos de aloinjertos osteotendinosos son: cubos de cortico esponjosa (chips), tablas, polvo de hueso, bloques óseos y hueso-tendón- hueso. Sobre los métodos de procesamiento podemos decir que se realizan seleccionando al donante bajo criterios preestablecidos para asegurar que el tejido cumpla con las normas de bioseguridad y poder garantizar una funcionalidad optima del injerto, esto también depende de la capacitación que posea el equipo médico. Con respecto a la conservación las formas de preservación más utilizadas son la criopreservación, la liofilización y el congelamiento, siendo que en Uruguay al momento el congelamiento es la única opción para su conservación cuya ablación se realiza del donante cadavérico esto es en parada cardiaca o muerte encefálica respetando el marco legal anteriormente mencionado, la extracción es de uno o dos fémures bajo formas de asepsia que demostraron ser efectivas tal y como lo muestra la evidencia internacional. Seguido a la obtención se realiza una toma de muestra para estudios microbiológicos como en otros bancos de tejidos mundiales. En nuestro país se realiza series de lavado con solución detergente en una cámara de flujo laminar, luego de esto se procede a segmentar los tejidos dependiendo de la demanda, posteriormente son envasados debidamente etiquetados tal y lo referenciado en la literatura.

Una vez estén los resultados serológicos y microbiológicos, se procede a la radio esterilización gama y preservación en freezer a menos -80 °C. Se utiliza mayoritariamente este método de esterilización ya que ha demostrado ser el más efectivo, pero actualmente están en estudio otros métodos de esterilización que según lo consultado no se realiza en nuestro país.

Si bien en el Uruguay la disponibilidad de tejido óseo es amplio, aun no existe la obtención y/o procesamiento del hueso-tendón-hueso. En base a la bibliografía internacional consultada, se evidenció que en el INDT la infraestructura para su obtención y procesamiento es adecuada y

cumple con las normas establecidas, sin embargo, la implementación de nuevas estrategias que fomenten nuevas variantes de presentación de tejido óseo generará la posibilidad de un nuevo recurso para uso clínico que permita una mejor calidad de vida a quien lo requiera.

IX. CONCLUSIONES

- Los tipos de aloinjertos más utilizados comprenden los cubos de hueso cortico-esponjoso, tablas, polvo y bloques óseos. Aquellos menos estudiados y con una aplicación aún menor incluyen el tendón y hueso-tendón-hueso.
- Los métodos de procesamiento de aloinjertos parten de una adecuada selección del donante y de la posterior adecuación de la forma deseada. Los métodos de descontaminación y esterilización más utilizados son los cócteles de antibióticos, la irradiación gamma, y el óxido de etileno. El tratamiento previo a la irradiación con ribosa podría aportar beneficios significativos, sin embargo, faltan desarrollar más estudios. Los métodos de conservación más utilizados son la criopreservación, congelación y liofilización.
- Entre las ventajas del uso de aloinjertos osteotendinosos destacan una menor morbilidad en los receptores, el desarrollo y aplicación de injertos de diferente forma y tamaño y la alta tasa de bioseguridad, eficacia y eficiencia si es que el manejo en cada etapa se cumple en base a los criterios internacionales. Las desventajas son las posibles infecciones y las alteraciones mecánicas que puede sufrir el aloinjerto en el receptor.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Albrektsson T, Johansson C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *Eur Spine J*. 2001;10:S96–101.
2. European Committee on Organ Transplantation, Keitel S. Guide to the quality and safety of tissues and cells for human application - EDQM 4th Edition [Internet]. 2019. 666 p. Available from: <https://www.edqm.eu/en/organs-tissues-and-cells-technical-guides>
3. Sepúlveda M, Meneses C. P, Wevar C. O. Capítulo XVI. Trasplante De Tejidos Músculo-Esqueléticos. *Guías Clínicas Soc Chil Traspl*. 2010;637–66.
4. Servizo Galego de Saúde. Protocolo de implante de tejido osteotendinoso en el Complejo Hospitalario Universitario A Coruña. 2011;1–10.
5. Paolin A, Romualdi C, Romagnoli L, Trojan D. Analysis of potential factors affecting allografts contamination at retrieval. *Cell Tissue Bank*. 2017;18(4):539–45.
6. Schubert T, Bigaré E, VanIsacker T, Gigi J, Delloye C, Cornu O. Analysis of predisposing factors for contamination of bone and tendon allografts. *Cell Tissue Bank*. 2012;13(3):421–9.
7. Terzaghi C, Longo A, Legnani C, Bernasconi DP, Faré M. Incidence of bacterial contamination and predisposing factors during bone and tendon allograft procurement. *Cell Tissue Bank*. 2015;16(1):151–7.
8. Lannau B, Van Geyt C, Van Maele G, Beele H. Analysis of potential factors affecting microbiological cultures in tissue donors during procurement. *Cell Tissue Bank*. 2015;16(1):65–71.
9. Naves GG, Silva AF, Antebi U, Cristovam PC, Honda EK, Guimarães RP. Analysis of potential contamination factors in musculoskeletal tissues. *Cell Tissue Bank*. 2018;19(4):659–66.

10. Viñuela-Prieto JM, Soria-García AM, González-Romero M, Candel FJ. Bacterial contamination rate and associated factors during bone and tendon allograft procurement from Spanish donors: exploring the contamination patterns. *J Hosp Infect.* 2019;102(3):287–94.
11. Paolin A, Trojan D, Carniato A, Tasca F, Massarin E, Tugnoli A, et al. Analysis of the effectiveness of Sodium Hypochlorite decontamination of cadaveric human tissues at retrieval. *Cell Tissue Bank.* 2016;17(4):611–8.
12. von Woedtke T, Kramer A. The limits of sterility assurance. *GMS Krankenhhyg Interdiszip* [Internet]. 2008 Sep 3 [cited 2020 Nov 5];3(3):Doc19. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20204091>
13. Serafini A, Riello E, Trojan D, Cogliati E, Palù G, Manganelli R, et al. Evaluation of new antibiotic cocktails against contaminating bacteria found in allograft tissues. *Cell Tissue Bank.* 2016;17(4):619–28.
14. Paolin A, Trojan D, Petit P, Coato P, Rigoli R. Evaluation of allograft contamination and decontamination at the Treviso Tissue Bank Foundation: A retrospective study of 11,129 tissues. *PLoS One.* 2017;12(3):1–10.
15. Paolin A, Spagnol L, Battistella G, Trojan D. Evaluation of allograft decontamination with two different antibiotic cocktails at the treviso tissue bank foundation. *PLoS One.* 2018;13(8):1–10.
16. Montagner G, Trojan D, Cogliati E, Manea F, Vantini A, Paolin A. Stability analysis of the antibiotic cocktail used by Treviso Tissue Bank Foundation for tissues decontamination. *Cell Tissue Bank* [Internet]. 2018;19(4):721–6. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10561-018-9725-y>
17. Pitt TL, Tidey K, Roy A, Ancliff S, Lomas R, McDonald CP. Activity of four antimicrobial cocktails for tissue allograft decontamination against bacteria and *Candida* spp. of known susceptibility at different temperatures. *Cell Tissue Bank.* 2014;15(1):119–

- 25.
18. Singh R, Singh D, Singh A. Radiation sterilization of tissue allografts: A review. *World J Radiol.* 2016;8(4):355.
 19. Nguyen H, Morgan DAF, Forwood MR. Sterilization of allograft bone: Is 25 kGy the gold standard for gamma irradiation? *Cell Tissue Bank.* 2007;8(2):81–91.
 20. Baker TF, Ronholdt CJ, Bogdansky S. Validating a low dose gamma irradiation process for sterilizing allografts using ISO 11137 Method 2B. *Cell Tissue Bank.* 2005;6(4):271–5.
 21. Hilmy N, Febrida A, Basril A. Experiences using IAEA Code of practice for radiation sterilization of tissue allografts: Validation and routine control. *Radiat Phys Chem.* 2007;76(11–12):1751–5.
 22. Balsly CR, Cotter AT, Williams LA, Gaskins BD, Moore MA, Wolfinbarger L. Effect of low dose and moderate dose gamma irradiation on the mechanical properties of bone and soft tissue allografts. *Cell Tissue Bank.* 2008;9(4):289–98.
 23. Sun Y, Lovric V, Wang T, Oliver RA, Walsh WR. Effects of SCCO₂, gamma irradiation, and sodium dodecyl sulfate treatments on the initial properties of tendon allografts. *Int J Mol Sci.* 2020;21(5).
 24. Irani M, Lovric V, Walsh WR. Effects of supercritical fluid CO₂ and 25 kGy gamma irradiation on the initial mechanical properties and histological appearance of tendon allograft. *Cell Tissue Bank* [Internet]. 2018;19(4):603–12. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10561-018-9709-y>
 25. Reich MS, Akkus O. Sporicidal efficacy of genipin: A potential theoretical alternative for biomaterial and tissue graft sterilization. *Cell Tissue Bank.* 2013;14(3):381–93.
 26. Woodside M, Willett TL. Elastic–plastic fracture toughness and rising JR-curve behavior

- of cortical bone is partially protected from irradiation–sterilization-induced degradation by ribose protectant. *J Mech Behav Biomed Mater* [Internet]. 2016;64:53–64. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmbbm.2016.07.001>
27. Attia T, Tupy J, Asker D, Hatton B, Gryn timer M, Willett T. The effect of ribose pre-treatment of cortical bone on γ -irradiation sterilization effectiveness. *Cell Tissue Bank*. 2017;18(4):555–60.
 28. Attia T, Gryn timer M, Willett T. Ribose pre-treatment can protect the fatigue life of γ -irradiation sterilized bone. *Cell Tissue Bank* [Internet]. 2019;20(2):287–95. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10561-019-09767-6>
 29. Attia T, Woodside M, Minhas G, Lu XZ, Josey DS, Burrow T, et al. Development of a novel method for the strengthening and toughening of irradiation-sterilized bone allografts. *Cell Tissue Bank*. 2017;18(3):323–34.
 30. Rozen B, Brosh T, Salai M, Herman A, Dudkiewicz I. The effects of prolonged deep freezing on the biomechanical properties of osteochondral allografts. *Cell Tissue Bank*. 2009;10(1):27–31.
 31. Gut G, Marowska J, Jastrzebska A, Olender E, Kamiński A. Structural mechanical properties of radiation-sterilized human Bone-Tendon-Bone grafts preserved by different methods. *Cell Tissue Bank*. 2016;17(2):277–87.
 32. Kamiński A, Gut G, Marowska J, Łada-Kozłowska M, Biwejn timer W, Zasacka M. Mechanical properties of radiation-sterilised human Bone-Tendon-Bone grafts preserved by different methods. *Cell Tissue Bank*. 2009;10(3):215–9.