

Concluzii

1. Mecanismul de dezvoltare a sindromului de canal carpian la pacienții cu fractură de radius distal este determinat de o deplasare anterioară, a fragmentelor fracturii, un edem secundar al tendoanelor și ligamentelor în regiunea canalului carpian în perioada de activare a mușchilor și tendoanelor antebrațului, ceea ce rezultă creșterea presiunii intracanalare și apariția ischemiei nervului median.
2. Formarea calusului osos vicios poate dereglă circulația sanguină a porțiunii distale a nervului median care implicit contribuie la dezvoltarea sindromului de canal carpian.
3. Reducerea intrafocară a fragmentelor, stabilizarea cu broșe, prin diminuarea edemului, poate duce la evitarea sindromului de canal carpian.

Bibliografie

1. ATROSHI, I., GUMMESON, C., JOHNSON, R., ORNSTEIN, E., RANSTAM J., INGMAR R. *Prevalence of carpal tunnel syndrome in a general population*. J.A.M.A. 282: 153, 1999.
2. *Acute Carpal Tunnel Syndrome*. J Am Acad Orthop Surg, Vol 16, No 5 May 2008, 276-282.
3. *Acute CTS caused by diffuse giant cell tumor of tendon sheath: a case report*. Iowo Orthopaedic Journal 27:98-103,2007.
4. БЕРЕЗИНЫШ Ю. Э., БРЕМАНИС Э. Б., ЦИПАРСОНЕ Р. Т. *Синдром запястного канала*. Рига “ЗИНАТНЕ” 1982
5. БРЕМАНИС Э. Б. Синдром запястного канала. Автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. мед. наук. Рига, 1966. 15 с.
6. BICKEL, KYLE D. *"Carpal Tunnel Syndrome"*. Journal of Hand Surgery 35 (1): 147–152.
7. BRAIN W. R. WRIGHT A. D., WILKINSON AF. *Spontaneous compression of both median nerves in the carpal tunnel: surgical decompression*. — Proc. Roy. Soc. Med., 1946, vol. 40, p. 83.
8. EVANOFF BA. *Work-related musculoskeletal disorders: examining the research base epidemiology: physical factors*. In: *Work-related musculoskeletal disorders. Report, workshop summary, and workshop papers*. Washington (DC): National Academy Press; 1999. p. 152–4.
9. FOWLER TJ, OCHOA J. *Recovery of nerve conduction after pneumatic tourniquet: observations on the hindlimb of the baboon*. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1975;35:638–645.
10. LAVAN ALINA. *Tratamentul complex al fracturilor de radius distal și consecințele lui*.
11. MANGINI U. *Carpal tunnel syndrome*. J. Bone Joint Surg., 1962, vol. 44A, N 5, p. 1036.
12. VACARCIUC I., GORNEA F., ȚAPU D., BUZU A., GLAVAN A. *Procedeu intrafocar Kapandji de osteosinteză în tratamentul fracturilor metaepifizei distale de os radial*

PRINCIPII ÎN STERILIZAREA GREFELOR OSOASE ALOGENE

Vartic Dumitru

(Coordonator d.h.m., profesor Nacu Viorel)

Laboratorul Inginerie Tisulară și Culturi Celulare,

Catedra Anatomie Topografică și Chirurgie Operatorie USMF „Nicolae Testemițanu”

Summary

The principles of sterilization of allogenic bone grafts

The existence of many methods of sterilization indicates the absence of an ideal method for processing bone grafts, so the search for new methods or upgrade existing ones remains actual. This article analyzes the known methods of sterilization of allogeneic bone grafts. The effectiveness of any sterilization methods depend on the microorganisms contamination. The

purpose of this research is to study the literature and to determine the actuality of chemical and physical methods of sterilization of bone grafts. It is difficult to determine a perfect sterilization method because each method has advantages and disadvantages. To use of any material for conservation and sterilization must meet the following criteria: to sterilize tissue; to keep its morphological structure, to reduce its antigenicity, to maintain the maximum regenerative capacity, do not have toxic action or cause inflammatory reactions after transplantation.

Rezumat

Multitudinea metodelor de sterilizare indică inexistența unei metode ideale pentru procesarea grefelor osoase, astfel căutarea unor metode noi sau modernizarea celor existente rămâne actuală. În acest articol sunt analizate metodele de sterilizare a grefelor osoase alogene cu oxid de etilen, formaldehidă și iradiere gamma. Scopul acestui studiului este studierea bibliografiei și elucidarea actualității în metodele de sterilizare chimică și fizică a grefelor osoase. Eficacitatea oricărei metode de sterilizare depinde și de tipul de microorganism prezent. Este greu de evaluat o metodă de sterilizare perfectă, deoarece fiecare metodă are unele avantaje și dezavantaje. Utilizarea oricăror materiale de conservare și sterilizare trebuie să îndeplinească următoarele criterii: să sterilizeze țesutul; să păstreze structura morfologică a lui; să reducă antigenitatea acestuia; să mențină la maximum capacitățile regeneratoare ale țesutului pentru utilizarea clinică; să nu aibă acțiune toxică sau să provoace reacții inflamatorii în organism.

Introducere

De-a lungul ultimelor decenii, utilizarea diverselor grefe osoase s-a dovedit a fi o metodă fiabilă pentru reconstrucția defectelor osoase corticale și spongioase. Aplicarea grefelor osoase este intens folosită în chirurgia tumorilor osoase, artroplastia totală de șold, neurochirurgie și terapia parodontală [2, 24]. Necesitățile crescute de grefe osoase alogene a dus la constituirea băncilor de os pentru gestionarea, stocarea, studierea diferitor metode de conservare și procesare a grefelor, atât de la donatori vii cât și de la cadavre.

Există diferite tehnici pentru pregătirea grefelor alogene. Cea mai frecvent utilizată a fost crioconservarea în congelatoare la o temperatură de la -40° la -80° C sau în azot lichid la -196° C. A fost raportat că crioconservarea poate reduce imunogenitatea prin distrugerea celulelor donatorului, însă aceasta nu are nici un efect asupra contaminării bacteriene și virale [11, 33]. Deci este necesară o selecție drastică a donatorilor, utilizarea unei săli chirurgicale cu condiții aseptice în timpul recoltării grefei și un studiu serologic pentru depistarea eventualelor infecții care ar putea afecta recipientul [6]. Literatura de specialitate conține rapoarte despre contaminarea materialului, chiar și în urma respectării tuturor tehnicilor de asepsie [23].

Pentru a asigura sterilitatea chimică a țesuturilor conservate s-au utilizat soluții de acid fenolic, acid boric, compuși clorurați și compuși organici de mercur, rivanol, fenol, parafenol, alcool, iodinol și altele, însă utilizarea lor în clinică este limitată, deoarece, pe lângă proprietățile bactericide se caracterizează și printr-o toxicitate severă la nivelul țesuturilor [23].

Pentru prevenirea infecției materialului conservat au fost utilizate antibioticele și sulfanilamidelor. Însă antibioticele nu rezolvă problema asigurării sterilității, chiar dacă acestea au proprietăți antimicrobiene puternice. Nesiguranța aplicării lor se datorează unei serii de dezavantaje: acțiunea bactericidă nu acoperă întregul spectru de microorganisme, antibioticele relativ rapid se dezintegrează, iar produsele lor de dezintegrare uneori au efecte toxice asupra țesuturilor [23].

S-au răspândit și metodele de iradiere în diapazonul microundelor: raze ultraviolete, raze X, raze gamma și raze catodice. S-a constatat că utilizarea dozelor care provoacă un efect bactericid, provoacă și microtraumarea celulelor. Efectul indirect al radiațiilor este formarea radicalilor liberi de apă, care provoacă schimbarea structurii componentelor individuale ale țesuturilor [23].

Multitudinea metodelor de sterilizare indică inexistența unei metode ideale pentru procesarea grefelor osoase, astfel căutarea unor metode noi sau modernizarea celor existente rămâne actuală. Metodele de sterilizare se divid în: chimice și fizice.

Metoda chimică de sterilizare cu oxid de etilen

Pe parcursul ultimilor 40 de ani, oxidul de etilen, a fost folosit pentru sterilizarea dispozitivelor medicale sensibile la căldură și umiditate, [25] și a fost un sterilizant efecace împotriva bacteriilor și virușilor [28, 15, 16]. Oxidul de etilen este aplicat în stare gazoasă (temperatura sa de fierbere este 10,7°C), în amestec cu diluanți inerți, cum ar fi CO₂ sau freon (diclorodifluormetan), pentru a evita accidentele în timpul procesării din cauza inflamabilității sale. Acest proces este urmat de eliminarea oxidului de etilen sau înlocuirea acestuia cu un gaz inert, cum ar fi CO₂ [9].

Rapoartele din literatura de specialitate remarcă efecte toxice ale oxidului de etilen ca fumigant industrial și eliminarea gazelor reziduale din grefele osoase a fost o preocupare majoră pentru alogrefele sterilizate cu oxid de etilen [13, 27]. În 1978, îngrijorarea cu privire la toxicitatea oxidului de etilen și a produșilor săi, a făcut ca FDA să stabilească niveluri minime admisibile a concentrațiilor reziduale de oxid de etilen, clorohidrin de etilen și etilen glicol în produsele sterilizate [37].

Cloward [8] a raportat utilizarea a 187 grefe osoase, sterilizate cu oxid de etilen, la 58 de pacienți pentru fuziune spinală în 1980. În urma cercetării radiografiilor pacienților efectuate de la 4 luni la 1 an, el a remarcat o rată de fuziune comparabilă cu a altor grefe osoase, fără complicații. Prolo și colaboratorii [29] (1980) au constatat că acesta e un sterilizant sigur și ieftin al oaselor și a țesuturilor moi (fascia lata și dura mater). Aceștia au subliniat importanța aplicării unui protocol strict care reduce concentrațiile de gaze reziduale. Ei au recomandat irigarea cu apă deionizată înainte de sterilizare pentru a curăța oasele de măduva osoasă și liofilizarea acestora pentru mai mult de 72 de ore. În unele cazuri, cu ajutorul aerisirii la temperatura camerei, a fost redusă formarea de clorohidrin de etilen și etilen glicol, până la un nivel acceptabil.

Kaku et al. [19], a constatat că sunt necesare mai multe etape preoperatorii de aerare, un timp de depozitare mai mare de 2 săptămâni la temperatura camerei, precum și clătirea intraoperatorie a grefelor cu 500 ml de ser fiziologic timp de 10 minute, pentru a reduce reziduurile oxidului de etilen în grefe. Arizono et al. [1] a examinat concentrația de oxid de etilen în fragmentele osoase după sterilizare și a recunoscut importanța degresării și liofilizării pentru a reduce concentrațiile reziduale ale oxidului de etilen. Cu cât mai mare e concentrația reziduală de oxid de etilen, cu atât mai mică este activitatea celulelor în cultura fibroblastică. Într-un studiu de evaluare a proprietăților osteoconductive ale oxidului de etilen pe os, Thoren și Aspenberg [38] pe șobolani au constatat că este afectată integrarea alogrefelor osoase tratate cu oxid de etilen, chiar dacă concentrațiile reziduale au fost mai mici decât cele aprobate de FDA.

Una din preocupările cu privire la oxidul de etilen este capacitatea sa de a penetra stratul cortical. Prolo și colaboratorii [29] au raportat că una din cele patru probe a diafizei femurale a arătat o creștere întârziată de *Bacillus subtilis*, ce denotă o penetrare parțială, incompletă a oxidului de etilen în oase. Kakiuchi et al. [17] au evaluat penetrarea oxidului de etilen în os prin utilizarea unei proceduri de degresare cu un amestec de cloroform și metanol la temperatura camerei. Ei au demonstrat o penetrare a oxidului de etilen până în măduva osoasă a capului femural. În plus, Kakiuchi și Ono [18] au efectuat un studiu clinic retrospectiv folosind grefe osoase sterilizate cu oxid de etilen, degresate și liofilizate. Din cele 215 grefe osoase cu stratul cortical gros, 4 (1,9%) au dezvoltat infecții.

Deși reacții adverse la utilizarea grefelor osoase sterilizate cu oxid de etilen nu au fost raportate, există două studii care sugerează că după utilizarea grefelor ligamentare sterilizate cu oxid de etilen, s-au dezvoltat reacții intraarticulare. Studiul făcut de Jackson et al. [14] arată că din 109 de pacienți cărora li s-a efectuat reconstrucția ligamentului cruciat anterior, cu alogrefă de tendon-os patelar sterilizată cu oxid de etilen, liofilizată, 7 pacienți (6,4%) au dezvoltat o reacție persistentă intraarticulară, caracterizată printr-o exudare persistentă sinovială, cu particule de collagen și răspuns inflamator celular. Nu a existat nici o dovadă directă de toxicitate cauzată de oxidul de etilen sau produșii săi de degradare, însă eliminarea grefelor sterilizate cu oxid de etilen a dus la dispariția acestor reacții. Silvaggio et al. [35] au raportat un nivel semnificativ de

IL-1 generat de grefele os-tendon patelar prelucrate cu oxid de etilen comparativ cu grupul de control unui studiu *in vitro*.

Într-un studiu efectuat de Roberts et al, la 8 din 36 de pacienți (22%) care au primit alogrefe cu tendon-os al osului patelar, liofilizate și sterilizate cu oxid de etilen s-a observat dezintegrarea completă a grefei. Cauza exactă a dezintegrării grefei nu a fost clară, însă autorii au fost de acord cu Jackson et al. că cea mai probabilă cauză a eșecului grefelor a fost oxidul de etilen și producția metabolismului său [31].

Aceste date au dus la limitarea utilizării oxidului de etilen pentru sterilizarea grefelor. Deși oxidul de etilen continuă să fie utilizat de către spitale și în industrie, multe bănci de țesuturi se bazează acum pe alte metode de sterilizare.

Sterilizarea chimică

Formaldehida a fost pentru prima dată obținută de A. M. Butlerov în 1859. Soluțiile apoase de formaldehidă conțin 30 – 50% de formaldehidă. Soluția standard de 37% de formaldehidă, cunoscută și sub numele de formalină, conține aproximativ 40 g de formaldehidă în 100 ml. [47]. Formalina este un lichid limpede, incolor, cu miros caracteristic, pH-ul variază de la 2.3 - 4.0, conține formaldehidă 37.0% - 37,3% , metanol 6% - 15%; aciditatea ei variază de la 0.02% la 0.04%, de asemenea se determină urme de fier, cupru, aluminiu și metale grele.

Activitatea ridicată a formaldehidei este legată de caracteristicile structurale ale nucleului său, în molecula căruia grupul carbonil este conectat la doi atomi de hidrogen $H - C=O - H$. Majoritatea reacțiilor chimice ale formaldehidei cu aminoacizii, proteinele, ADN-ul, ARN-ul, polizaharidele și alte substraturi celulare au loc după tipul reacțiilor de adiție sau condensare [45].

S-a dovedit că producerea maximă de legături ireversibile în reacția dintre compușii purinici și formaldehidă se obține la folosirea formaldehidei de 0,75%, iar la folosirea soluției de formalină de 3,75% nu se mai găsesc conexiuni ireversibile [45].

Având în vedere incompatibilitatea genetică a țesuturilor, trebuie să se țină cont de influența omogenizantă a formaldehidei asupra transplantului, care ar putea schimba structura genetică al acestuia. Din acest punct de vedere, este relevantă lucrarea lui I. A. Rapoport (1947) despre inducerea chimică a mutațiilor la drosofilă prin intermediul formaldehidei. I. A. Rapoport subliniază că formaldehida este unul dintre cei mai penetranți și reactivi compuși chimici, ușor interacționează cu amino grupurile libere din structura genei. O parte a reacției duce la schimbări ireversibile în întregul sistem catalitic al genei. În acest caz, există mai multe opțiuni posibile: fie apar schimbări doar în câteva elemente ale lanțului de proteine, sau prin blocarea grupului terminal sau a unui alt aminogrup ce va duce la pierderea întregului lanț, în ambele cazuri, schimbările sunt distructive [44]. În anul 1960, aceste date au fost confirmate de Alderson.

La fel de interesantă este inducția mutației la viruși prin intermediul formaldehidei, demonstrată de R.D. Zasukhina (1963) [43]. Ea a remarcat afinitatea marcantă a formaldehidei pentru substanța nucleoproteică.

Moharrem (1934) a studiat efectul soluției de formalină de 5% asupra țesuturilor tipospecifice din stomac și rinichi. El a demonstrat că depozitarea pe termen lung a țesuturilor în formaldehidă (6 luni), este însoțită de dereglarea structurii tipospecifice a țesuturilor [45].

În conformitate cu datele lui P.N. Kosyakova (1937) a descoperit că menținerea sângelui în formaldehidă de 20 și 40% pentru 28 și 44 zile duce la o scădere drastică a capacităților sale specifice de adsorbție. Proteinele, sub acțiunea formaldehidei, își modifică proprietățile sale antigenice [45].

A.A. Vorobyov, N. Vasiliev, T. Kravchenko (1965) susțin că cu formaldehida reacționează atât grupuri care posedă proprietăți toxice, cât cele responsabile pentru manifestarea proprietăților antigenice. Pe măsura evoluției reacției, se observă legarea aminogrupelor centrelor active, ceea ce duce la o reducere marcată a proprietăților antigenice specifice [42].

V. Parfenteva cu colaboratorii a efectuat în 1963, un studiu complex al proprietăților antigenice a peritoneului heterogen (proaspăt și conservat prin diferite metode) și a demonstrat

că totalitatea etapelor de conservare și sterilizare folosite în pregătirea preparatelor heteroperitoneale tratate cu formalină, reduc semnificativ proprietățile antigenice.

Acțiunea bactericidă a formaldehidei este bine cunoscută. Proprietățile bactericide puternice ale formaldehidei au fost stabilite în 1886 de către Loew și Fisher.

În lucrarea lui M. Shapiro și I. K. Djaganova (1953) a fost demonstrat că formaldehida este un antiseptic puternic, care oprește creșterea microorganismelor la o concentrație de 1:20000. Acțiunea formaldehidei este ucigătoare pentru bacterii, ciuperci, mușegaiuri, drojzii și viruși.

Scott (1928) scrie că soluția de formaldehidă de 0,5-0,75% ucide rapid organismele anaerobe, inclusiv saprofite, timp de 6-12 ore, anaerobii zaharolitici – timp de 48 de ore, anaerobii proteolitici – timp de 4 zile [45].

Sabanas (1955) confirmă decontaminarea sigură a microorganismelor sporulate cu soluție de formaldehidă de 1% timp de 6 ore [32].

Despre inactivarea virusurilor și rickettsiilor cu formaldehidă ne vorbesc cercetările lui I. Rapoport (1947), Fraen-Kel-Conrat (1954), J. Feldman, M. (1959), A.A. Smorodintsev (1960) și alții [45].

Studierea transplanturilor, conservate în soluție de formalină de diferită concentrație, de asemenea evoluția transplanturilor conservate și a reacției organismului la transplantarea lor, a permis aflarea concentrației optime de formalină și condițiile necesare pentru conservare. V. F. Parfentieva, V. D. Rozvadoskii și V. I. Dmitrienko au stabilit că concentrațiile slabe de formalină pe soluție izotonică de natriu clor la pH 7.3-7.4 și +2 - +4°C contribuie la păstrarea îndelungată a materialului osos în afara organismului cu păstrarea activității sale fizico-chimice, structurii morfologice și a proprietăților biomecanice. Transplanturile conservate se află în stare de anabioză chimică profundă, în urma transplantării se adaptează la țesuturile recipientului, fără a provoca reacții imunologice. Argumentarea științifică a utilizării grefelor formalizate pentru diferite regiuni ale aparatului locomotor a fost elucidată în multiple teze de doctor și doctor habilitat realizate în cadrul catedrei Chirurgie operatorie și anatomie topografică: I. Brus, teza de doctor (1972), O. Bedencov teza de doctor (1980), B. Topor, teza de doctor și de doctor habilitat (1980, 1992), L. Chiroșca, teza de doctor habilitat (1989), V. Remizov, teza de doctor (1979), V. Nacu, teza de doctor (2001) și în cadrul catedrei de Ortopedie și traumatologie: I. Marin, teza de doctor habilitat (1984), L. Iacunina (1983) [41, 46].

Metodele fizice de sterilizare a grefelor osoase

Iradieră cu raze gamma. Termenul "radiație ionizantă" se referă la toate radiațiile capabile să producă ionizarea materiei. Limita de energie caracteristică pentru radiația ionizantă variază între 1000eV și o limită maximă de 30 MeV. Pentru a evita inducerea radioactivității, care poate să apară în cazul în care energia razelor gamma este mai mare de 5MeV, este interzisă utilizarea pentru sterilizare a radiațiilor cu o energie mai mare decât aceste valori. Pe de altă parte, aplicarea radiației cu o energie mai mică de 0,2 MeV nu este rațională. Razele gamma sunt formate prin auto-dezintegrarea surselor de Cobalt-60 (^{60}Co) sau Cesium-137 (^{137}Cs). Dintre sursele de emițători ai radiației gamma, numai ^{137}Cs și ^{60}Co sunt indicați pentru procesul de iradiere. Energia razelor gamma este similară cu lumina, însă are o energie fotonică mai mare și o lungime de undă mai scurtă [21].

Sursa radioactivă de ^{60}Co este compusă din granule mici de cobalt, care sunt introduse în tuburi sigilate din oțel inoxidabil sau din aliaj de zirconiu. Radiația este unica sursă de energie care poate iniția reacții chimice la orice temperatură, inclusiv temperatura mediului, sub orice presiune, în orice stare (gaz, lichid sau solid), fără utilizarea unor catalizatori. Astfel, procesul de iradiere utilizează radiații gamma extrem de penetrante, din surse închise ermetic, pentru a bombarda și ucide bacteriile din produsele sigilate în interiorul ambalajului lor final. În acest fel, produsul iradiat rămâne steril până când ambalajul este eliminat. Energia purtată de radiația gamma este transferată produsului iradiat prin coliziunea radiației cu atomii produsului. În timpul acestei coliziuni atomii își pierd electronii legați, proces numit ionizare. Este procesul care

aduce daune ireparabile în chimia de susținere a vieții organismelor vii. Radiația ionizantă poate afecta ADN-ul fie direct, prin depunerea de energie în acesta, sau indirect, prin interacțiunea radiației cu alți atomi sau molecule din celulă. În special radiația interacționează cu apă din jurul moleculei de ADN, sunt responsabili de 90% din deteriorările ADN-ului. Se estimează că iradierea unei celule cu puterea de 1 Gray induce 1000 de rupturi a unei singure catene de ADN, 40 de rupturi a dublei catene de ADN, ruperea a 150 de legături încrucișate între ADN și proteine și 250 de oxidări a tiaminei [4].

Radiația gamma are unele avantaje semnificative față de alte metode de sterilizare. Aceste beneficii includ: o mai mare siguranță a sterilității produsului comparativ cu filtrarea și prelucrarea aseptică; nu lasă reziduuri; are o capacitate de penetrare mai mare; decurge fără creșterea temperaturii și poate fi ușor validată [20].

Microorganismele pot fi introduse în grefe de țesut în timpul obținerii, prelucrării, conservării și depozitării acestora. Însă chiar dacă toate aceste proceduri sunt efectuate în condiții aseptice, posibilitatea transmiterii bolilor bacteriene, fungice și virale de la donator nu poate fi exclusă. Mai multe boli bacteriene, inclusiv tuberculoză, bolile determinate de fungi și infecțiile virale, cum ar fi infecția cu virusul imunodeficienței umane (HIV), hepatita B și C (VHB, VHC), citomegalovirusul (CMV), rabia și bolile prionice, au fost transmise prin intermediul grefelor alogene. Astfel, sterilizarea cu radiație ionizantă a grefelor a fost pusă în aplicare în unele bănci de țesuturi, acestea utilizând cel mai des o doză de 25 kGy. Un sondaj a 36 de bănci de țesuturi de Vangsness et al. [68] a constatat că o serie 1 - 3.5 mrad (10 - 35 kGy) de radiație gamma este folosită pentru a steriliza țesuturile. Avantajul sterilizării cu radiație ionizantă este faptul că aceasta permite prelucrarea grefelor care au fost anterior sigilate sau închise ermetic într-un ambalaj special. Aceasta procedură previne orice recontaminare accidentală în timpul ambalării.

Iradierea gamma este foarte eficientă împotriva bacteriilor la doze de 1.5 - 2.5 mrad. Cu toate acestea, iradierea gamma este mult mai puțin eficientă împotriva virusurilor. Sunt puține date privind sensibilitatea acestor virusuri la radiațiile ionizante. Acest lucru se datorează în principal faptului că nu există teste adecvate pentru a studia inactivarea lor, nu există modele animale adecvate și n-au fost elaborate metode adecvate de cultură *in vitro* a celulelor-țintă extrem de diferențiate (de exemplu, hepatocite) pentru acești virusi. Fideler et al. [10] a stabilit că 4.0 Mrad au fost necesari pentru a inactiva virusul HIV în alogrefele tendonului patelar. Un studiu din 1999 a arătat că 3.5 Mrad sunt necesari pentru a inactiva HIV din oase [7]. Acest studiu a arătat de asemenea că sunt necesari 8.9 Mrad pentru a ajunge la un nivel de sterilitate de 10^{-6} .

Mulți factori pot modifica sensibilitatea microorganismelor patogene la radiația ionizantă, inclusiv temperatura de iradiere. De exemplu, inactivarea virusului HIV a fost realizată cu o doză de 50-100 kGy în plasma congelată (-80°C) și cu doar 25 kGy la 15°C [12]. În absența apei (de exemplu, în aer uscat sau grefe liofilizate) crește rezistența agenților patogeni, iar în prezența apei, predomină efectul indirect al radiațiilor ionizante care duce la creșterea sensibilității microorganismelor. Prin urmare, în cazul în care liofilizarea este folosită ca procedeu de conservare, ar fi mai bine să se lase o anumită cantitate de apă în țesuturi decât să se încerce eliminarea maximal posibilă a apei. Trebuie de remarcat și faptul că iradierea la temperaturi scăzute crește rezistența bacteriilor și virusurilor, în timp ce iradierea la temperaturi mai ridicate scade rezistența acestora. A fost dovedit faptul că scindarea lanțului polipeptidic predomină când colagenul este iradiat într-o stare uscată ca urmare a efectului direct al radiațiilor ionizante, iar la rândul său, acest lucru crește dramatic solubilitatea colagenului *in vitro* și a ratei de resorbție a matricei osoase *in vivo*. S-a constatat totuși că apare o reacție încrucișată în timpul iradierii colagenului în prezența apei (efect indirect), probabil datorită acțiunii radicalilor liberi hidroxil (OH⁻), rezultați din radioliza apei [20].

Creșterea nivelului de iradiere poate afecta proprietățile biomecanice ale alogrefelor. Osul cortical pierde semnificativ din rezistența la îndoire și torsiune dacă este expus la mai mult de 3

Mrad [5, 26, 34]. Niveluri mai scăzute de radiație gamma pot afecta ligamentele. Într-un studiu, Fideler et al, au stabilit că iradierea alogrefei ligamentului patelar cu mai mult de 2 Mrad a afectat negativ patru din cele șapte proprietăți structurale care au fost analizate. Statistic, în acest studiu s-au determinat reduceri semnificative ale tuturor proprietăților structurale la o iradiere de 3.0 și 4.0 Mrad. Din aceste motive, chirurgii ortopezi ar trebui să fie conștienți de doza de iradiere gama utilizată pentru țesuturile musculo-scheletale.

Dispozitivele medicale implantabile și grefele sunt sterilizate până la un SAL (nivelul de asigurare a sterilității) de 10^{-6} , ceea ce înseamnă că posibilitatea ca un microorganism să fi supraviețuit tratamentului este mai mică de 1 la 1 milion. Proprietățile biomecanice ale țesutului pot fi afectate în mod negativ de căldură și de iradiere [3, 22, 30, 36]. În al doilea rând, nu toți sterilizării (în special gazele și lichidele) au o penetrabilitate adecvată a țesuturilor, iar fără o penetrare bună a țesuturilor, sterilitatea nu poate fi asigurată.

Începând cu 11 martie 2002, în SUA, după o investigație la nivel național determinată de moartea unui pacient în noiembrie 2001 din cauza unei alogrefe infectate, Centrul pentru Prevenție și Control al Bolilor (CDC), a primit 26 rapoarte de infecții bacteriene, asociate cu alogrefe musculo-scheletice [39]. Aceste rapoarte subliniază necesitatea dezvoltării și implementării tehnologiilor de sterilizare, care pot fi utilizate în mod eficient asupra grefelor de țesuturi umane.

Bibliografie

1. Arizono T, Iwamoto Y, Okuyama K, et al: Ethylene oxide sterilization of bone grafts. Residual gas concentration and fibroblast toxicity. *Acta Orthop Scand* 1994, 65, p.640-642.
2. Aro H. T., Aro A.J. : Clinical use of allografts. *Ann Med* 1993; 25, p.402-12.
3. Bianchi JR, Ross K, James E, et al: The effect of preservation/sterilization processes on the shear strength of cortical bone, in Goel VK, Spilker RL, Ateshian GA, et al. (eds): *Proceedings of the Bioengineering Conference. BED Volume 42. New York, The American Society of Mechanical Engineers, 1999, p. 407–408.*
4. Borrelly, S. I.; Cruz, A. C.; Del Mastro, N. L.; Sampa, M. H. O. & Somessari, E. S. (1998). Radiation processing of sewage and sudge. A review. *Progress in Nuclear Energy, Vol. 33, p. 3-21.*
5. Bright R, Smars J, Gambill V: Sterilization of human bone by irradiation, in Friedlaender GE, Mankin HJ, Sell KW (eds): *Osteochondral Allografts: Biology, Banking, and Clinical Applications. National Institute of Allergy and Infectious Diseases (US) & AAOT Banks. Boston, Little Brown, 1983, p. 223–232.*
6. Buck B.E., Malinin T.I. Human bone and tissue allografts. Preparation and safety. *Clin Orthop Rel Res* 1994;303:8; 17.
7. Campbell DG, Li P: Sterilization of HIV with irradiation: Relevance to bone *Aust N Z J Surg* 69: 1999, 517–521.
8. Cloward RB: Gas-sterilized cadaver bone grafts for spinal fusion operations. *Spine* 5: 4-10, 1980.
9. Dzedzic-Goclawska A, Stachowocz W: Sterilization, in Phillips O, von Dersen R, Strong DM, et al. (eds): *Advances in Tissue Banking. Singapore, World Scientific Publishing Co, 1997, p 261-321*
10. Fideler BM, Vangness CT et al: Effects of gamma irradiation on the human immunodeficiency virus. A study in frozen human bonopatellar ligament-bone grafts obtained from infected cadavera. *J Bone Joint Surg* 76A: 1994, 1032–1035.
11. Friedlaender GE, Strong DM, Sell M. Studies on the antigenicity of bone. I. Freezed-dried and deep-frozen bone allografts in rabbits. *J Bone Jt Surg* 1976; 58A:854-8.
12. Hiemstra, H.; Tersmette, M.; Vos, A. H. V.; Over, J.; Van Berkel, M. P. & Bree, H. (1991). Inactivation of HIV by gamma radiation and its effect on plasma and coagulation factors, *Transfusion, Vol. 31, N° 1, p. 32–39*

13. Hollingsworth RL, Rowe UK, Oyen F, et al: Toxicity of ethylene oxide determined on experimental animals. *Arch Industr Health*, 1956, 13: 217-227.
14. Jackson DW, Windler GE, Intraarticular reaction associated with the use of freeze-dried, ethylene oxide-sterilized bone-patella tendonbone allografts in the reconstruction of the anterior cruciate ligament. *Am J Sports Med*, 1990, 18: 1–11,
15. Jordy A. et al: Virus inactivation by ethylene oxide containing gases. *Acta Vet Scand*, 1975, 16: 379-387,
16. Perspectives on the control of viral hepatitis, Type B. *MMWR Suppl*, 1976, 25: 3-10,
17. Kakiuchi M, Ono K, Nishimura A, et al: Preparation of bank bone using defatting, freeze-drying and sterilisation with ethylene oxide gas. Part 1. Experimental evaluation of its efficacy and safety. *Int Orthop*, 1996, 20: 142–146,
18. Kakiuchi M, Ono K: Preparation of bank bone using defatting, freeze-drying and sterilisation with ethylene oxide gas. Part 2. Clinical evaluation
19. Kaku N, Tsumura H, Kataoka M, et al: Influence of aeration, storage, and rinsing conditions on residual ethylene oxide in freeze-dried bone allograft. *J Orthop Sci*, 2002, 7: 238-242,
20. Kátia Aparecida da Silva Aquino: Sterilization by Gamma Irradiation. Federal University of Pernambuco-Department of Nuclear Energy Brazil. <http://www.intechopen.com>
21. Laughlin, W. L.; Boyd, A. W.; Chadwich, K. H.; Donald, J. C. & Miler, A. (1989). *Dosimetry for Radiation Processing*, Taylor & Francis Ed, New York, USA
22. Loty B, Courpied JP, Tomeno B, et al: Bone allografts sterilised by irradiation. Biological properties, procurement and results of 150 massive allografts. *Int Orthop*, 1990;14: 237–242.
23. Marie Françoise Moreau, Yves Gallois, Michel-Felix Basle, Daniel Chappard Gamma irradiation of human bone allografts alters medullary lipids and releases toxic compounds for osteoblast-like cells *Biomaterials* 21 (2000) 369-376
24. Melloning J.T. Bone allografts in periodontal therapy. *Clin Orthop Rel Res* 1996;324:116-25.
25. Parisi AN, Young WE: Sterilization with ethylene oxide and other gases, in Block SS (ed): *Disinfection, Sterilization, and Preservation*. Fourth edition. Philadelphia, Lea & Febiger, 1991, p 580-595
26. Pelker RR, Friedlaender GE et al. Biomechanical properties of bone allografts. *Clin Orthop*, 1983, 174: 54–57.
27. Phillips CR: Gaseous sterilization, in Block SS (ed): *Disinfection, Sterilization, and Preservation*. Second edition. Philadelphia, Lea & Febiger, 1977, p. 592-610
28. Phillips CR, Kaye S: The sterilizing action of gaseous ethylene oxide: I. Review. *Am J Hygiene*, 1949, 50: 270-279.
29. Prolo DJ, Pedrotti PW, White DH: Ethylene oxide sterilization of bone, dura mater, and fascia lata for human transplantation. *Neurosurgery*, 1980, 6: 529-539,
30. Rasmussen TJ, Feder SM, Butler DL, et al: The effects of 4 Mrad of gamma irradiation on the initial mechanical properties of bone-patellar tendon-bone grafts. *Arthroscopy*, 1994, 10: 188–197.
31. Roberts TS, Drez D Jr, McCarthy W, et al: Anterior cruciate ligament reconstruction using freeze-dried, ethylene oxide-sterilized, bone-patellar tendon-bone allografts. Two year results in thirty-six patients. *Am J Sports Med*, 1991, 19: 35–41,
32. Savanas A. O. et al. *Proc. Mayo. Clin.* v. 30, № 19. 1955.
33. Salzman NP, Psallidopoulos, Prewett AA, O'Leary R. Detection of HIV in bone allografts prepared from AIDS autopsy tissue. *Clin Orthop Rel Res* 1993;292:384-90.
34. Shelton WR, Treacy SH, Dukes AD, et al: Use of allografts in knee reconstruction: II. Surgical considerations. *J Am Acad Orthop Surg*, 1998, 6: 169–175,
35. Silvaggio VJ, Fu FH, Georgescu HI, et al: The induction of IL-1 by freeze-dried ethylene oxide-treated bone-patellar tendon-bone allograft wear particles: An in vitro study. *Arthroscopy* 9: 1993, p. 82–86.
36. Simonian PT, Conrad EU, Chapman JR, et al: Effect of sterilization and storage treatments on screw pullout strength in human allograft bone. *Clin Orthop*, 1994, 302: 290–296,

37. Thomas C. Vangsness, Jr., Ivan A. Garcia, Randal Mills, Marion A. Kainer, Michael R. Roberts, Tillman M. Moore: Allograft Transplantation in the Knee: Tissue Regulation, Procurement, Processing, and Sterilization. The American Journal of Sports Medicine, Vol. 31, No. 3 © 2003 American Orthopaedic Society for Sports Medicine.
38. Thoren K, Aspenberg P: Ethylene oxide sterilization impairs allograft incorporation in a conduction chamber. Clin Orthop, 1995, 318: 259-264.
39. Allograft associated bacterial infections—United States, 2002. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2002,51: 207–210.
40. Vangsness CT Jr, Triffon MJ, Joyce MJ, et al: Soft tissue for allograft reconstruction of the human knee: A survey of the American Association of Tissue Banks. Am J Sports Med, 1996, 24: 230–234,
41. Брус И. Г., Топор Б. М., Беденкова О. Е. Костная пластика Формализированными трансплантатами. Кишинев, 1989, 116
42. Воробьев А. А. et al. Анатоксины, М., 1965.
43. Засухина Т. Д. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1963.
44. Рапопорт И. А. Химическая реакция с аминогруппой протеина в структуре генов. Журнал общей биологии, 1947, VIII, 5.
45. Парфентьева В., Розвадовский В, Дмитриенко В. Консервация гомологичных костных трансплантов, 1969, 113 р.
46. Топор Б. М. Комбинированные пластические материалы из костного матрикса и эмбриональных тканей. Дис. Д-ра хабилитата мед.наук. М., 1991, 354 с.
47. Уоркер Дж. , Формальдегид, М., 1957, 608 р.

**ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ
ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ СУСТАВОВ
С ПРИМЕНЕНИЕМ**

ПОЛЯРИЗАЦИОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

Васюк С. В., Кваснюк Д. И., Васюк В. Л., Васильчишин Я. Н.

Буковинский государственный медицинский университет, Черновцы, Украина

Summary

***Polarizing microscopy methods in differential diagnosis of
infection in patients after total hip or knee replacement***

A new technique of polarizing microscopy was assessed for diagnostic value in differential diagnosis of septic and aseptic complications after total joint replacement. 56 patients with complications in the hip or in the knee were assessed. The possibility to differentiate periprosthetic infections from aseptic inflammatory complications using polarizing microscopy, spectropolarimetry, and microphasometry was established. Asymmetry and excess of spectral relation of light beam polarization azimuth differ in aseptic and in septic arthritis, including infected prosthesis, by 5.1-5.4 times. The method's sensitivity reaches 87-88% at specificity of 71-72%. Asymmetry and excess of phases' coordinate distribution in laser microscopy of synovial fluid from patients with aseptic and septic arthritis, including periprosthetic infection, differ by 1.8-2.4 times. The method's sensitivity is 73-75% at specificity of 64-69%. The results of such assessments are available within 1.5-2 hours.

Rezumat

**Diagnosticul diferențiat al complicațiilor septice și aseptice după endoprotezările
articulațiilor mari prin metoda de polarizare microscopică**

De autori a fost elaborată o noua tehnică de polarizare microscopă pentru diagnosticul diferențial al complicațiilor septice sau aseptice după endoprotezarea articulațiilor mari au fost