UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENFERMAGEM DE RIBEIRÃO PRETO

MARINA SMIDT CELERE

Determinação da atividade antimicrobiana de duas técnicas de
antisepsia cutânea utilizadas em doadores de sangue.

Ribeirão Preto

2011

MARINA SMIDT CELERE

Determinação da atividade antimicrobiana de duas técnicas de antissepsia cutânea utilizadas em doadores de sangue

Dissertação apresentada à Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em ciências.

Área de Concentração: Enfermagem em Saúde Pública.

Linha de Pesquisa: Saúde Ambiental

Orientador: Prof^a. Dr^a. Susana Inés Segura- Muñoz.

Ribeirão Preto

2011

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Catálogo da Publicação
Serviço de Documentação da Enfermagem
Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Celere, Marina Smidt.

Determinação da atividade antimicrobiana de duas técnicas de antissepsia cutânea utilizadas em doadores de sangue/ Marina Smidt Celere; orientador: Susana Inés Segura-Muñoz. – Ribeirão Preto, 2011.
109 f.

Dissertação (Mestrado) – Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 2011.

1. Doadores de sangue. 2. Antissepsia cutânea. 3. Transfusão sanguínea
4. Antissépticos. 5. Atividade antimicrobiana.

CELERE, M.S. Determinação da atividade antimicrobiana de duas técnicas de antisepsia cutânea utilizadas em doadores de sangue. Dissertação apresentada à Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre na área de concentração Enfermagem em Saúde Pública.

Aprovado em: ____/____/____.

Banca Examinadora

Prof.Dr.: _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof.Dr.: _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof.Dr.: _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Este trabalho é dedicado:

*A minha querida mãe, que sempre esteve ao meu lado. Obrigada pelo
carinho, apoio, amizade e incentivo em todos esses anos;
Ao meu querido Gustavo, fonte de carinho e me ensinou que o tempo e a
distância são insignificantes frente à alegria de tê-lo em minha vida.*

Agradecimentos

A admirável *Professora Susana S. Segura Muñoz*, pela orientação, ensino, confiança e, principalmente, pela amizade demonstrada nesses anos de convivência. Você fez parte e contribuiu muito em uma grande etapa da minha formação profissional;

A Enfermeira *Oranice Ferreira*, pela oportunidade, sugestões e suporte na realização desse trabalho. Meu respeito e consideração estarão sempre com você;

Ao Prof. Dr. *Dimas Tadeu Coras* e à Dr. *Eugênia Maria A. Ubiali*, pelo apoio e estímulo concedido;

A *Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto*, pelo auxílio financeiro;

Ao Prof. Dr. *Roberto Martinez*, pela concessão das análises no Laboratório de Microbiologia do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto;

A aprimorando *Ana Flávia T. Fernandes* do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto – Laboratório de Microbiologia, pelo auxílio na análise das amostras;

Ao minhas queridas amigas, *Fabiana, Karina e Mariana*, que muito me incentivaram na realização e conclusão deste trabalho e ao amigo *Osmar*, pelo auxílio nas análises dos dados e na finalização da dissertação;

A Prof. Dr. *Denise de Andrade* e ao *Evandro Watanabe* por colocarem-se a disposição no esclarecimento de dúvidas, pelas sugestões e apoio fornecido durante a realização da dissertação;

A **Prof. Dr. Silvia Rita Marin da Silva Canini**, pelos esclarecimentos e estímulo concedido;

A **equipe de Enfermagem** do Hemocentro de Ribeirão Preto, pelo apoio na escala e suporte no momento de coleta das amostras;

A **Enfermeira Márcia Siqueira**, que hoje já não está mais no Hemocentro, mas que presenciou e apoiou na coleta das amostras;

A funcionária do Hemocentro **Giovanna F. C de Freitas**, pelo apoio no recebimento do material para a coleta das amostras;

A **equipe da recepção** do Hemocentro de Ribeirão de Preto, pelo auxílio na obtenção de informações;

Aos **doadores de sangue** do Hemocentro de Ribeirão Preto, pela cooperação e participação nesse estudo;

A todos que direta ou indiretamente me acompanharam nesta jornada... Muito Obrigada!

*“Há homens que lutam um dia e são bons.
Há outros que lutam um ano e são melhores.
Há os que lutam muitos anos e são muito bons.
Porém, há os que lutam toda a vida.
Esses são os imprescindíveis”.
(Bertolt Brecht)*

RESUMO

CELERE, M.S. **Determinação da atividade antimicrobiana de duas técnicas de antisepsia cutânea utilizadas em doadores de sangue.** 2011. 109 f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.

No presente foi avaliado a atividade antimicrobiana de duas técnicas de antisepsia cutânea utilizadas rotineiramente em doadores de sangue em um serviço de Hemoterapia na cidade de Ribeirão Preto. Esse estudo teve como objetivo principal, estabelecer e comparar o percentual de redução microbiana em 50 doadores de sangue antes e após a aplicação de duas técnicas de antisepsia cutânea. Em cada braço do doador foi aplicado uma técnica de antisepsia, na primeira técnica utilizou-se o Polivinilpirrolidona-iodo (PVPI) degermante a 10% em movimentos de descida e subida por 30 segundos combinado com o PVPI a 10% em movimento circular único do centro para a periferia aplicados 30 segundos antes da punção venosa. Na segunda técnica foi utilizada solução de digluconato de clorexidina alcoólica a 0,5% em movimentos de descida e subida por 30 segundos e esperado secar por mais 30 segundos para a posterior punção venosa. Foram coletados swabs cutâneos no local da punção antes e após a aplicação de ambas as técnicas de antisepsia. Os swabs foram semeados em meio de cultura Ágar Sangue, Ágar Manitol Salgado e Ágar Mac Conkey e colocados em estufa à 37°C por um período de 48 horas. Após esse período, foi realizada a contagem das colônias que cresceram nos meios de cultura. A técnica com PVPI a 10% obteve um percentual médio de redução microbiana de 98,57% no meio de cultura Ágar Sangue, 98,87% no meio de cultura Ágar Manitol Salgado e 100% no meio Mac Conkey. Já a técnica com clorexidina a 0,5% obteve percentual médio de redução microbiana de 94,38% no meio de cultura Ágar Sangue, 95,06% no meio Ágar Manitol Salgado e 100% no meio de cultura Mac Conkey. As análises estatísticas evidenciam que a técnica com PVPI a 10% obteve maior redução microbiana, sendo considerada, no presente estudo, mais eficaz que a Técnica com clorexidina a 0,5%.

Palavras - Chave: Doadores de sangue. Antisepsia cutânea. Transfusão sanguínea. Antissépticos. Atividade antimicrobiana.

ABSTRACT

CELERE, M.S. Determination of antimicrobial activity of two skin disinfection technique used in blood donors. 2011. 109 f. Dissertation (Mestrado) – College of Nursing of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.

In this study were evaluated the antimicrobial activity of two technique of skin antisepsis routinely used in blood donors in a transfusion service in the city of Ribeirão Preto. This study had as main objective, to determine and compare the percentage of bacterial reduction in 50 blood donors before and after application of two methods of skin antisepsis. In each arm of the donor was applied a technique of antisepsis, the first technique used the Polyvinylpyrrolidone-iodine (PVPI) degermant 10% in ascending and descending movements for 30 seconds combined with PVPI alcohol 10% in one circular motion from center to periphery applied 30 seconds prior to venipuncture. The second technique was used chlorhexidine gluconate solution 0.5% alcohol in ascending and descending movements for 30 seconds and waited for another 30 seconds to dry for later venipuncture. Skin swabs were collected at the puncture site before and after application of both techniques of antisepsis. The swabs were seeded in culture Blood Agar, Mannitol Salt Agar and MacConkey agar and placed in an oven at 37°C for a period of 48 hours. After this period, counts were performed in the colonies that grew in culture. The technique with PVPI 10% had an average rate of microbial reduction of 98.57% in the culture medium Blood Agar, 98.87% in the culture medium Mannitol Salt Agar and 100% in Mac Conkey medium. Since the technique with chlorhexidine 0.5% Total average percentage of bacterial reduction of 94.38% in the culture medium Blood Agar, 95.06% in the middle Salt Mannitol Agar and 100% in Mac Conkey medium. Statistical analysis showed that the technique with PVPI 10% was greater than bacterial reduction being considered in the present study, the most effective technique with chlorhexidine 0.5%.

Key-words: Blood Donors. Skin disinfection. Blood transfusion. Antiseptics. Antimicrobial activity.

RESUMEN

CELERE, M.S. **Determinación de la actividad antimicrobiana de dos técnicas de antisepsia cutánea utilizadas en donadores de sangre.** 2011. 109 f. Tesis (Maestría) - Escuela de Enfermería de Ribeirão Preto, Universidad de São Paulo, Ribeirão Preto, de 2011.

En el presente estudio se determinó la actividad antimicrobiana de dos técnicas de antisepsia habitualmente utilizadas en los donadores de sangre de un servicio de transfusión en la ciudad de Ribeirão Preto. El objetivo principal fue determinar y comparar el porcentaje de reducción bacteriana en 50 donadores de sangre antes y después de la aplicación de dos métodos de antisepsia de la piel. En cada brazo del donador se aplicó una técnica de antisepsia, la primera utilizó degermante de Polivinilpirrolidona-yodo (PVPI) al 10% en movimientos ascendentes y descendentes durante 30 segundos combinados con alcohol de PVPI al 10% en un movimiento circular desde el centro a la periferia aplicado 30 segundos antes de la punción venosa. La segunda técnica utilizó solución de gluconato de clorhexidina al 0,5% de alcohol en el brazo de los donadores con movimientos ascendentes y descendentes durante 30 segundos, esperando 30 segundos hasta secado para efectuar la punción venosa. swabs cutáneos se recogieron en el sitio de punción antes y después de la aplicación de ambas técnicas de antisepsia. Los swabs se sembraron en los medios de cultivo de Agar Sangre, Agar Manitol Salado y Agar MacConkey y se colocaron en estufa a 37°C durante un periodo de 48 horas. Después de ese periodo, se realizó el recuento de las colonias que crecieron en los medios de cultura. La técnica con PVPI al 10% tuvo una tasa media de reducción de bacterias de 98,57% en el medio de cultivo de Agar Sangre, 98,87% en el medio de cultivo Agar Manitol Salado y el 100% en el medio de MacConkey. Por otro lado, la técnica con clorhexidina al 0,5% presentó un porcentaje total promedio de reducción bacteriana de 94,38% en el medio de cultivo Agar Sangre, 95,06% en el medio de Agar Manitol Salado y 100% en medio de MacConkey. El análisis estadístico mostró que la técnica con yodo al 10% obtuvo mayor reducción microbiana, considerada en el presente estudio, más eficaz que la técnica de antisepsia con clorhexidina al 0,5%.

Palabras-claves: Donadores de sangre. Antisepsia cutánea. Transfusión. Antisépticos. Actividad antimicrobiana.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Representação esquemática da coleta de amostras antes e após a antissepsia do braço do doador, segundo o antisséptico e a técnica utilizada.....	53
Figura 2 -	Representação esquemática do local de coleta do swab do braço do doador antes e após a antissepsia.....	54
Figura 3 -	Coleta de 100 µL da amostra para a semedura no meio de cultura.....	55
Figura 4 -	Controle negativo e positivo da autoclave utilizada.....	56
Figura 5 -	Isolamento de duas colônias bacterianas em placa de Ágar Sangue para identificação bacteriana no LM-HC/FMRP.....	57
Figura 6 -	Valor médio e desvio padrão do percentual de redução microbiana no meio de cultura Ágar Sangue, Ágar Manitol Salgado e Mac Conkey, segundo a Técnica com PVPI a 10% (T.I a 10%) e Técnica com Clorexidina a 0,5% (T.C a 0,5%).....	67
Figura 7 -	Distribuição dos sujeitos incluídos no estudo segundo o sexo, número de doações e idade.....	73
Figura 8 -	Distribuição das espécies bacterianas identificadas no presente estudo.....	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Crescimento microbiano antes e após a aplicação da Técnica com PVPI a 10% e da Técnica com Clorexidina a 0,5% e o respectivo percentual de redução microbiana no meio de cultura Ágar Sangue (A.S).....	61
Tabela 2 –	Crescimento microbiano antes e após a aplicação da Técnica com PVPI a 10% e da Técnica com Clorexidina a 0,5% e o respectivo percentual de redução microbiana no meio de cultura Ágar Manitol Salgado (A.M.S).....	62
Tabela 3 –	Crescimento microbiano antes e após a aplicação da Técnica com PVPI a 10% e da Técnica com Clorexidina a 0,5% e o respectivo percentual de redução microbiana no meio de cultura Mac Conkey (M.C).....	63
Tabela 4 –	Bactérias identificadas resistentes a antissepsia nos doadores de sangue analisados segundo a técnica e o meio de cultura utilizado.....	77
	..	

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AABB	American Association of Blood Banks
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CDC	Center for Disease Control and Prevention
COFEN	Conselho Federal de Enfermagem
EERP/USP	Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
EPIs	Equipamentos de Proteção Individual
FDA	Food and Drug Administration
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HTLV	Vírus Linfotrópico de Células T Humanas
ISO	International Organization for Standardization
LEPA-EERP/USP	Laboratório de Ecotoxicologia e Parasitologia Ambiental da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
LM-HC/FMRP	Laboratório de Microbiologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
NAT	Teste do Ácido Nucléico
NR	Norma Regulamentadora
pH	Potencial hidrogênico
PVPI	Polivinilpirrolidona Iodo
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SF	Solução Fisiológica
SHOT	<i>Serious Hazards of Transfusion</i>
ssp.	Espécies
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Alfa
cm	Centímetro
°C	Graus Celsius
μL	Microlitro
ml	Mililitro
mmHg	Milímetro de mercúrio

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	18
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	22
2.1. Fontes de contaminação microbiana do Hemocomponente.....	26
2.1.1 Contaminação oriunda da microbiota da pele do doador de sangue.....	27
2.1.2 Contaminação oriunda de uma bacteremia assintomática do doador de sangue.....	31
2.1.3 Contaminação oriunda do processamento e estocagem do hemocomponente.....	32
2.2. Riscos ao receptor sanguíneo derivados da contaminação microbiana do hemocomponente.....	32
2.3. O uso dos antissépticos: enfoque para o iodo e clorexidina.....	36
2.3.1 Iodo.....	38
2.3.2. Clorexidina.....	39
2.3.3 Resistência microbiana aos antissépticos.....	41
3. JUSTIFICATIVA.....	44
4. OBJETIVOS.....	47
4.1. Geral.....	48
4.2. Específicos.....	48
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	49
5.1. Delineamento e local de estudo.....	50
5.2. Aspecto ético.....	50
5.3. Participantes do estudo.....	50
5.4. Coleta de informações referentes às características dos sujeitos de pesquisa.....	51
5.5. Técnicas utilizadas para antisepsia cutânea do doador.....	51
5.6. Coleta das amostras de swab do braço do doador.....	52
5.7. Processamento das amostras coletadas.....	55
5.8. Análise dos dados.....	58
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59

6.1. Quantificação do crescimento microbiano e a porcentagem de redução microbiana nas técnicas analisadas.....	60
6.2 Relações entre as características do doador e o percentual de redução microbiana....	72
6.3. Bactérias identificadas resistentes à antissepsia.....	76
7. CONCLUSÕES.....	84
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	87
APÊNDICE.....	97
APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	98
APÊNDICE B – ROTEIRO PARA A COLETA DE DADOS DOS DOADORES DE SANGUE.....	99
ANEXOS.....	100
ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA EERP/USP....	101
ANEXO B – TESTES ESTATÍSTICOS.....	102
ANEXO C – IDENTIFICAÇÃO BACTERIANA.....	105

1. Introdução

A prática da hemoterapia vem caracterizando-se, ao longo dos anos, pelo desenvolvimento e adoção de novas tecnologias visando diminuir os riscos transfusionais, especialmente, no que diz respeito à prevenção da transmissão de agentes infecciosos. O sangue sempre esteve associado ao conceito de vida na história da humanidade, desde os povos primitivos, que bebiam o sangue de jovens guerreiros acreditando que poderiam beneficiar-se de suas qualidades, até os dias atuais, em que a transfusão de hemocomponentes e hemoderivados é utilizada como medida de suporte e/ou tratamento indispensável de diversas patologias (PAULA et al., 2007; FERREIRA, 2007).

Por esse motivo, o sangue coletado, processado e transfundido deve apresentar elevada segurança transfusional, uma vez que o hemocomponente é capaz de transmitir patógenos que podem causar diversas doenças infecciosas e, ainda, diferentes reações transfusionais no receptor da transfusão. Entende-se por segurança transfusional o conjunto de medidas adotadas em serviços de hemoterapia que apresentam como objetivo minimizar os riscos para os doadores e receptores do sangue e, também, a garantia de estoques estratégicos nos serviços de hemoterapia capazes de suprir a demanda transfusional (CARRAZZONE; BRITO; GOMES, 2004).

Para se obter segurança transfusional é necessário seguir as recomendações do Ministério da Saúde, através da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 153 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), de 14 de Junho de 2004, que determina o Regulamento Técnico para os procedimentos hemoterápicos no Brasil (BRASIL, 2004). Essa legislação brasileira está em constante atualização e em concordância com as seguintes regulamentações internacionais: *American Association of Blood Banks (AABB)*, *Food and Drug Administration (FDA)* e *International Organization for Standardization (ISO)* (VERÍSSIMO; PEREIRA, 2006).

A transfusão de hemocomponentes e hemoderivados com ausência de riscos é uma prática difícil, porém almejada. Muitos fatores podem influenciar na qualidade do sangue transfundido, como por exemplo, sendo a transmissão de agentes infecciosos via transfusão de sangue uma das complicações mais antigas na prática da hemoterapia (NASCIMENTO, 2002).

Com a descoberta do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) em 1983 e do vírus da Hepatite C em 1989, as ações dos serviços de hemoterapia nas décadas de 80 e 90 estavam focadas principalmente para o risco da transmissão de agentes

infecciosos virais pela transfusão sanguínea. Nesse contexto, a atenção das autoridades, dos serviços de hemoterapia e dos profissionais de saúde estavam voltadas para a investigação e prevenção da transmissão viral via transfusão sanguínea (NASCIMENTO, 2002).

Em relação à transmissão do HIV por transfusão sanguínea, no período compreendido entre 1980 e 1992, foram notificados 880 casos de contaminação no Brasil, porém, considera-se que o número de indivíduos infectados foi superior aos notificados. Nesse cenário, algumas medidas foram tomadas pelas autoridades e serviços de hemoterapia, entre elas a substituição da doação remunerada pela voluntária e altruísta, o incentivo da autotransfusão, maior disciplina no uso do sangue e dos seus hemoderivados e, nos últimos 10 anos, melhorias nas tecnologias empregadas como, por exemplo, o aumento na sensibilidade dos testes sorológicos para o vírus HIV e da Hepatite C (HILLYER et al., 2003). Essas melhorias contribuíram para um importante decréscimo no número de casos de contaminação por HIV e Hepatite C em receptores de transfusões sanguíneas no Brasil principalmente nas décadas de 80 e 90 (ALMEIDA NETO, 2007).

Diante do exposto, um grande avanço no controle da transmissão viral por transfusão sanguínea aconteceu. O risco de transmissão do vírus HIV, atualmente, permanece em torno de uma em dois milhões de unidades de hemocomponentes transfundidos, e este valor tende a diminuir para uma a cinco milhões com a implementação do Teste do Ácido Nucléico (NAT) nos serviços de hemoterapia. O NAT embora com custo financeiro alto, é altamente eficaz em conseguir detectar precocemente o vírus HIV e Hepatite C na corrente sanguínea após a contaminação do doador de sangue (HILLYER et al., 2003).

Por outro lado, o risco da transmissão de outros microrganismos, durante a transfusão do sangue, ainda permanece como um aspecto relevante na prática hemoterápica atual. Relatos na literatura envolvendo situações de choque séptico e morte associada à transfusão sanguínea contaminada com microrganismos de origem bacteriana apenas começaram a surgir com evidências mais fortes no início dos anos 90. Hoje, sabe-se que o risco da transfusão de uma unidade de concentrado de plaquetas contaminada por bactérias em países desenvolvidos é de 10 a 1.000 vezes maior do que o risco de se transfundir uma unidade de concentrado de plaquetas infectada pelo vírus HIV, vírus da hepatite B e Vírus Linfotrófico de Células –T Humanas (HTLV). Isso demonstra a importância da

utilização de medidas de controle da contaminação bacteriana dos hemocomponentes (BLAJCHMAN, 2002).

Existem várias fontes de contaminação microbiana do hemocomponente. A principal delas ocorre quando microrganismos presentes na microbiota da pele do doador de sangue são encaminhados à bolsa de coleta no momento da punção venosa, quando uma antissepsia ineficiente é realizada. Essa fonte é considerada a causa prioritária de contaminação de concentrados de plaquetas e hemácias nos serviços de hemoterapia. Cabe ressaltar que vários microrganismos estão envolvidos no processo de contaminação do hemocomponente, sendo os mais frequentes aqueles de origem bacteriana (MCDONALD et al., 2010).

Diante do exposto, medidas de controle da contaminação microbiana dos hemocomponentes são essenciais na prática da hemoterapia visando à segurança do receptor da transfusão sanguínea. A RDC nº 153/2004 recomenda várias medidas de controle da contaminação microbiana que incluem desde uma eficaz antissepsia da pele do doador até medidas de monitoramento e detecção precoce de amostras contaminadas por microrganismos, através de culturas microbiológicas realizadas com alíquotas dos hemocomponentes coletados (BRASIL, 2004).

Nesse contexto, a realização de estudos que avaliem a atividade antimicrobiana de técnicas de antissepsia cutânea utilizadas em doadores de sangue, constitui uma ferramenta importante para a segurança do receptor da transfusão sanguínea na prevenção de efeitos adversos e reações transfusionais. O presente estudo está pautado nessa temática e visa determinar a atividade antimicrobiana de duas técnicas de antissepsia cutânea utilizadas rotineiramente em doadores de sangue do Hemocentro de Ribeirão Preto.

2. Revisão da literatura

Atualmente, a transfusão sanguínea é considerada como uma prática essencial no tratamento e suporte de diversas patologias da medicina contemporânea (MURPHY; STANWORTH; YAZER, 2011; SEIFRIED et al., 2011). Entretanto, o sangue sempre ocupou um papel importante na história da humanidade. Na antiguidade era considerado como um fluído vital, capaz de conferir a vida e a juventude. Muitos séculos foram necessários para que realmente o sangue pudesse assumir o papel terapêutico relevante e fundamentado em conhecimentos científicos que tem na atualidade (PEREIMA et al., 2007).

A história da hemoterapia aconteceu em duas fases principais: a empírica e a científica. A primeira fase aconteceu até 1900, nesse período a hemoterapia ocupou um espaço entre o científico e o místico. No início desse período a prática hemoterápica estava voltada principalmente para a retirada do “sangue ruim” do indivíduo para o tratamento de diversas doenças. Acredita-se que o conceito de transfusão tenha surgido por volta do ano de 1616 juntamente com a descoberta do sistema circulatório (JUNQUEIRA; ROSENBLIT; HAMERSCHALAK, 2005). Em 1817, James Blundell e John Leacock já defendiam a idéia da transfusão sanguínea entre organismos da mesma espécie (PEREIMA et al., 2007).

No início da fase científica, a partir de 1900, o sangue ainda era utilizado de maneira empírica, por meio de técnicas rudimentares e transfundido diretamente do doador para o organismo do receptor sem testes de compatibilidade, esse procedimento ficou conhecido historicamente como “doação braço a braço”. Com os avanços da medicina transfusional, em 1901, Karl Landsteiner descobriu os grupos sanguíneos do sistema ABO e em 1907 foi realizada a primeira transfusão precedida de exame de compatibilidade. Nos anos seguintes, com a descoberta do fator RH, das soluções de anticoagulantes, preservantes e, conseqüentemente das bolsas de sangue, a medicina transfusional foi reconhecida como uma especialidade médica (PEREIMA et al., 2007).

No Brasil os primeiros serviços de hemoterapia foram criados, na década de 40 na cidade do Rio de Janeiro (SERINOLLI, 1999). No ano de 1950 foi instituída a primeira Lei Federal de Nº 1.075, de 27/03/1950, que dispõe sobre a doação voluntária de sangue no Brasil (BRASIL, 1950). Essa Legislação, de certa forma, incentivava a doação de sangue, pois determinava que todo funcionário fosse ele público, civil ou militar, que doasse sangue de maneira “voluntária”, poderia ter seu

dia de trabalho abonado através da entrega do atestado pelo serviço de hemoterapia.

Na década de 60, foi criada a Associação Brasileira de Doadores Voluntários que aliada ao decreto de Lei Nº53988 de 30/06/1964, instituíram o dia 25 de Novembro, como o dia Nacional do Doador de Sangue (PEREIMA, et al., 2007). Em 1965, criou-se a Comissão Nacional de Hemoterapia e a Política Nacional de Sangue por meio da Lei de Nº 4.701 de 28/06/1965 que dispõe sobre o exercício da atividade hemoterápica no Brasil e dá outras providências (BRASIL, 1965).

Mesmo com o surgimento de algumas Legislações no ramo da hemoterapia, os bancos de sangue ainda no final da década de 70 não realizavam exames sorológicos para a detecção de muitas doenças transmitidas pelo sangue, considerando que muitas delas como o HIV e Hepatites ainda não tinham sido descobertas. Os serviços de hemoterapia contavam apenas com a sinceridade das informações verbais dos candidatos a doação de sangue durante a entrevista clínica. Com o surgimento dos vírus da Hepatite C e do HIV, novas diretrizes e Decretos de Lei foram exigidos de maneira a garantir a qualidade transfusional (PEREIMA, et al., 2007).

Na década de 90 duas novas Portarias surgiram no Brasil diante da busca constante pela qualidade do sangue nos serviços de hemoterapia: a Portaria Nº1376/93 e a Nº 121/95. A primeira determinou as normas técnicas para a coleta, processamento e distribuição do sangue, e a segunda dispunha sobre a necessidade de se cumprir as etapas do controle de qualidade do sangue, levando a incorporação de testes sorológicos na rotina da doação de sangue pelos serviços de hemoterapia (BRASIL, 1993; BRASIL, 1995).

Em âmbito nacional, as ações dos serviços de hemoterapia seguem, como citado anteriormente, a RDC nº 153/2004 da ANVISA, que preconiza os critérios da doação de sangue que visam à proteção do doador e do receptor. Entre eles podemos citar: limites de idade, frequência e intervalo entre as doações, história de saúde atual, doenças pregressas, uso de medicamentos, parâmetros vitais (pressão arterial, peso, temperatura e pulso), gravidez, jejum e alimentação, alcoolismo, alergia, imunizações, transfusões prévias, doenças infecciosas, enfermidades virais, hábitos de vida, cirurgias e sexualidade principalmente no último ano. Além disso, a RDC nº 153/2004 da ANVISA dispõe sobre o processamento e controle de qualidade

do hemocomponente e hemoderivados coletados nos serviços de hemoterapia (BRASIL, 2004).

Mesmo com as rigorosas normatizações e regulamentações que surgiram no decorrer da história, visando melhorar e garantir qualidade na prática hemoterápica, muitos desafios ainda permanecem nos dias atuais. Esforços têm sido voltados principalmente para evitar-se a transmissão de agentes infecciosos de origem bacteriana e viral via transfusão sanguínea. A incidência de transmissão viral pela transfusão sanguínea diminuiu muito nos últimos anos, porém, a incidência de contaminação bacteriana de hemocomponentes ainda permanece como um problema relevante na prática transfusional atual (MCDONALD, 2006).

Os efeitos da contaminação microbiana de hemocomponentes podem ser agravados quando a transfusão sanguínea está associada a indivíduos imunossuprimidos, portadores de doenças oncológicas e/ou hematológicas, que ficam suscetíveis a apresentarem quadros infecciosos mais graves. Além disso, quadros mais graves geralmente estão associados com microrganismos de origem bacteriana como, por exemplo, por *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* (BARRETO et al., 2009).

A contaminação por microrganismos de origem bacteriana de hemocomponentes é considerada uma das causas mais importantes de morbimortalidade relacionada à transfusão sanguínea e, também, uma das complicações mais antigas na história da hemoterapia (BARRETO et al., 2009). Em 1951, Borden e Hall relataram a ocorrência de sepse pós-transfusional em um paciente transfundido, devido a uma contaminação bacteriana da bolsa de sangue, como uma das primeiras complicações relacionadas com a transfusão sanguínea.

Mais recentemente, entre 1994 a 1998, o sistema de hemovigilância francês atribuiu 18 mortes secundárias à contaminação bacteriana dos hemocomponentes, sendo que, neste período, cerca de sete milhões de transfusões foram realizadas (ANDREU et al., 2002). Em 1994, no Reino Unido foram relatadas três mortes relacionadas à contaminação bacteriana de concentrados de plaquetas. Este fato ressaltou a atenção dos profissionais da saúde ligados à prática transfusional e, em 1996, foi desenvolvido no Reino Unido um sistema de vigilância sanitária denominado *Serious Hazards of Transfusion* (SHOT), que tem como objetivo registrar as informações sobre reações transfusionais de todas as organizações de saúde do Reino Unido que fazem transfusão sanguínea, fato que o levou a

apresentar grande influencia na política transfusional mundial atual (WILLIAMSON et al., 1998; SERIOUS HAZARDS OF TRANSFUSION, 2010).

A AABB, em 2005, descreveu que a contaminação bacteriana de concentrados plaquetas foi considerada a segunda causa mais comum de morte relacionada com a transfusão nos Estados Unidos. Além disso, ressaltou que muitos casos ainda são subnotificados pelos serviços de hemoterapia, fato que pode estar relacionado com a falta de experiência dos profissionais em caracterizar corretamente uma reação transfusional por contaminação bacteriana (AMERICAN ASSOCIATION of BLOOD BANKS, 2005). No Brasil são escassas as publicações contendo dados relacionados com a contaminação dos hemocomponentes, até o momento não foram encontrados dados relevantes de contaminação bacteriana nos serviços de hemoterapia Brasileiros.

Nesse contexto, o enfermeiro ocupa espaço relevante como mediador do controle de qualidade dos hemocomponentes coletados, não devendo focar apenas na técnica de coleta e da antissepsia, mas devendo preocupar-se, também, com a melhoria dos processos transfusionais. O enfermeiro deve estar atualizado com as normatizações, visando atingir qualidade do serviço de hemoterapia e do produto coletado, já que segundo a Resolução 306 do Conselho Federal de Enfermagem (COFEN), sobre suas responsabilidades, "*o enfermeiro deve planejar, executar, coordenar, supervisionar e avaliar os procedimentos de hemoterapia nas unidades de saúde, visando assegurar a qualidade do sangue, hemocomponentes e hemoderivados*" (CONSELHO FEDERAL ENFERMAGEM, 2006).

2.1. Fontes de contaminação microbiana do Hemocomponente

A contaminação por microrganismos de origem bacteriana, dos hemocomponentes nos serviços de hemoterapia ocorre sobretudo em decorrência de 3 fontes principais, são elas: 1. microrganismos oriundos da pele do doador, não eliminados pela antissepsia cutânea são encaminhados para a bolsa de sangue no momento da punção venosa; 2. contaminação microbiana devido a uma bacteremia assintomática do doador não detectada durante a entrevista clínica; 3. microrganismos presentes no meio ambiente que, durante o processamento e

estocagem do sangue, contaminam o hemocomponente (FONSECA et al., 2009; DEPCIK-SMITH, HAY, BRECHER, 2001). A seguir, serão descritos com maiores detalhes as fontes que podem levar a contaminação bacteriana do hemocomponente.

2.1.1 Contaminação oriunda da microbiota da pele do doador de sangue

A contaminação por microrganismos oriundos da microbiota da pele do doador é considerada a causa mais frequente de contaminação dos hemocomponentes. Essa contaminação ocorre quando microrganismos presentes na pele do doador são encaminhados para a bolsa de coleta de sangue mediante a realização de uma antissepsia ineficiente. Essa fonte tem sido o foco dos esforços de prevenção dos serviços de hemoterapia nos últimos 10 anos através de estudos que avaliem o percentual de redução microbiana de várias técnicas de antissepsia cutânea utilizadas em doadores de sangue (MCDONALD et al., 2010).

A composição da microbiota da pele é muito variável entre os indivíduos e apresenta composição diferente em determinadas regiões corporais, por exemplo, na região genital o número de microrganismos é extremamente superior em relação a outras regiões do corpo. A composição da microbiota irá depender, também, do número e da atividade das glândulas sebáceas do indivíduo, as quais produzem, em determinados indivíduos, excessiva quantidade de gorduras e proteínas que acabam servindo de substrato para a proliferação microbiana (CABTREE; PELLETIER; PRUETT, 2001). Basicamente, na microbiota da pele do ser humano ocorre a predominância de bactérias dos gêneros *Staphylococcus*, *Corinebacterium*, *Propionibacterium* e *Streptococcus*. (GRAZIANO; SILVA; BIANCHI, 2000).

A maioria das bactérias da microbiota da pele residem em sua superfície, nos folículos pilosos e glândulas sebáceas. As bactérias encontradas mais profundamente apresentam a função de recolonizar a pele quando as bactérias mais superficiais são removidas. Após uma lavagem cuidadosa das mãos cerca de 90% das bactérias encontradas na camada superficial são removidas, num período de até 08 horas esse número pode ser normalizado principalmente pela à atividade de

bactérias localizadas nas camadas mais profundas da pele (TRABULSI; SAMPAIO, 2005).

Existem dois tipos de microbiota na pele do ser humano: a residente e a transitória. Ambas são compostas por inúmeros microrganismos (bactérias, fungos e vírus) que em sua maioria vivem em equilíbrio com as defesas do organismo de um indivíduo saudável. Esses microrganismos quando são introduzidos na corrente sanguínea podem alcançar novos sítios de colonização e causar infecção, principalmente em indivíduos imunocomprometidos (TRABULSI; SAMPAIO, 2005).

A microbiota residente, também chamada de microbiota de colonização ou endógena, é composta por microrganismos que vivem e se multiplicam nas camadas mais profundas da pele, glândulas sebáceas e folículos pilosos. Esses microrganismos se multiplicam em equilíbrio com os mecanismos de defesa do hospedeiro. A microbiota residente só pode ser removida parcial e temporariamente pela descamação celular natural ou forçada por procedimentos de antissepsia da pele. *Staphylococcus* coagulase negativo, *Propionibacterium acnes* e *Corynebacterium sp.* são as bactérias mais comumente encontradas na microbiota residente. Esses microrganismos podem se tornar invasivos e causar quadros infecciosos em indivíduos suscetíveis (LARSON, 1999; GRAZIANO; SILVA; BIANCHI, 2000).

Na microbiota transitória, os microrganismos são provenientes de fontes externas que se depositam na pele do indivíduo, colonizando temporariamente as camadas mais superficiais da pele, ou seja, resulta do contato da pele com o meio ambiente (objetos ou pessoas), é extremamente variável, não-aderente ao epitélio e, portanto, facilmente transferida para outros indivíduos e fômites. A microbiota transitória sobrevive na pele por curto período de tempo e é removida pelo suor ou eliminada pelos mecanismos de defesa locais e pelos procedimentos de limpeza, como a antissepsia (GRAZIANO; SILVA; BIANCHI, 2000). Os microrganismos que compõem essa microbiota são principalmente, os *Staphylococcus* e as bactérias Gram-negativas. Esses microrganismos são mais fáceis de serem removidos e, acabam sendo eliminados em sua grande quantidade com a antissepsia mecânica da pele (CARDOSO et al., 2006).

Os microrganismos oriundos da pele do doador de sangue, sejam eles da microbiota transitória ou residente, são responsáveis por cerca de 90% dos casos de contaminações de concentrados de plaquetas e 70% dos casos de contaminações

dos concentrados de hemácias (STAINBY et al., 2003; KUEHNERT et al., 2001). Além disso, as bactérias Gram- positivas estão envolvidas em cerca de 80% dos casos de contaminação de hemocomponentes sendo o restante quase sempre de bactérias Gram- negativas (BURNS; WERCH, 2004). As bactérias oriundas da microbiota da pele do doador *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus coagulase negativo* são responsáveis por cerca de 25% das reações transfusionais por contaminação bacteriana em indivíduos receptores de transfusão sanguínea (MOREL et al., 2000).

A antissepsia, com elevado percentual de redução microbiana, é considerada uma estratégia de grande relevância na prevenção da contaminação bacteriana da bolsa de sangue coletada. Entretanto, a RDC nº 153/2004 recomenda somente que a área escolhida para a punção venosa seja submetida a uma cuidadosa limpeza que deve ser realizada em dois tempos: primeiro com a degermação e segundo com a antissepsia, a RDC não especifica qual o antisséptico e qual a técnica devem ser utilizados. Após esse procedimento o local não deve ser palpado novamente pelo flebotomista, caso isto aconteça, torna-se necessário repetir o procedimento de limpeza (BRASIL, 2004).

Em 2004, o órgão governamental dos Estados Unidos da América, o FDA, recomendou quatro opções para a antissepsia do braço do doador antes da coleta do sangue (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2004). Esse fato sugeriu algumas mudanças nas técnicas de antissepsia utilizadas no Hemocentro de Ribeirão Preto, que desde esse período passou a utilizar duas das técnicas de antissepsia cutânea recomendadas pelo FDA com algumas adaptações.

A AABB, em seu manual técnico publicado em 2008, descreve em termos gerais o procedimento de antissepsia do braço do doador. A AABB recomenda o uso de dispositivos de uso único para cada doador contendo solução de PVPI degermante a 10% aplicado por 30 segundos seguido da solução de PVPI alcoólico a 10% em movimento circular único do centro para a periferia, após esse procedimento espera-se 30 segundos para a completa secagem da área escolhida e punção venosa (AMERICAN ASSOCIATION of BLOOD BANKS, 2008).

Nesse contexto, é importante destacar também, que mesmo com a realização da antissepsia da pele do doador, existem alguns fatores que podem limitar a qualidade antimicrobiana da técnica utilizada, como por exemplo, o tipo de antisséptico empregado, a concentração e o modo de aplicação do mesmo.

(ARCOS; GOLDMAN, 2010). Além disso, existem alguns fatores inatos do indivíduo que podem influenciar no aumento da proliferação microbiana da pele e favorecer a persistência microbiana após a antissepsia. A presença de pelos e de cicatrizes, comum em doadores de repetição devido múltiplas punções no mesmo local, ou até mesmo pequenas depressões no local da punção venosa podem, segundo Anderson et al. (1986), aumentar os riscos contaminação bacteriana no momento da coleta, devido a esses locais apresentarem um número maior de bactérias e, às vezes por serem locais de difícil limpeza no momento da punção venosa.

As condições ambientais nas quais o doador está inserido assim como os seus hábitos de vida podem ter relação direta com o aumento da proliferação bacteriana na microbiota da pele do doador de sangue. Cid e colaboradores (2003) encontraram em seu estudo que doadores do sexo masculino, que trabalhavam ao ar livre e expostos ao sol, apresentaram um alto grau de persistência microbiana em seu braço mesmo após a aplicação da antissepsia cutânea para a doação de sangue. Os autores relacionaram esses achados com o fato de que doadores do sexo masculino geralmente apresentam maiores quantidades de folículos pilosos no braço o que dificulta a antissepsia e favorece a proliferação bacteriana. Muitos dos doadores analisados tinham doado sangue anteriormente e por esse motivo apresentavam pequenas cicatrizes no local da punção que pode dificultar a antissepsia e favorecer o crescimento bacteriano. Doadores que trabalham ao ar livre em altas temperaturas apresentam uma camada mais espessa da epiderme o que também favorece a proliferação bacteriana (CID et al., 2003).

Em outro trabalho, Jafari (2002) relatou um estudo de caso de sepse por *Salmonella spp.* transmitida a dois receptores de transfusão de concentrados de plaquetas por aférese de um doador assintomático no momento da doação. O doador era proprietário de uma jibóia de estimação sendo o responsável em cuidar e tratar da mesma. O animal de estimação do doador era colonizado por *Salmonella* sendo a fonte da infecção. O doador ao cuidar diariamente do animal foi também colonizado pela mesma bactéria (JAFARI, 2002). Esses achados demonstram que fatores extrínsecos ao indivíduo, como os ambientais e hábitos de vida, podem influenciar na persistência da bactéria na pele do doador mesmo após a antissepsia de seu braço.

A antissepsia cutânea do braço do doador deve apresentar um elevado percentual de redução microbiana independente da quantidade de microrganismos

presentes na microbiota da pele, visto que, na doação de sangue não é factível a mensuração da quantidade de microrganismos presentes na pele do doador antes da doação de sangue.

2.1.2 Contaminação oriunda de uma bacteremia assintomática do doador de sangue

A bacteremia oculta do doador de sangue, ou seja, assintomática, que não é detectada durante a entrevista clínica é considerada a segunda causa mais comum de contaminação bacteriana do hemocomponente (GOLDMAN; BLAJCHMAN, 1991).

Os casos de contaminação do hemocomponente geralmente estão associados, por exemplo, à realização de procedimentos dentários em dias prévios a doação de sangue, que não são investigados ou relatados pelo doador durante a entrevista clínica, ou quando o doador de sangue, encontra-se em período assintomático de infecções. Goldman e Blajchman (1991) reportaram contaminação bacteriana por *Staphylococcus aureus* em uma unidade de concentrado de plaquetas resultante da bacteremia de um doador submetido a uma manipulação dentária três horas antes da doação de sangue e que não relatou essa informação durante a entrevista clínica.

Hillyer et al. (2003) reportaram em seu estudo que aproximadamente 30 casos de sepse por *Yersinia enterocolitica* em receptores de concentrados de hemácias já foram relatados na literatura. Esse bacilo Gram-negativo causa muitas vezes no hospedeiro uma infecção assintomática de difícil relato no momento da entrevista clínica e quando o hospedeiro apresenta sintomas, estes são geralmente leves como diarreia e dores abdominais confundidos com outros quadros não infecciosos.

Nesse sentido, a entrevista clínica deve respeitar ao máximo as regras da RDC N°153/2004 que estabelece múltiplas perguntas visando à segurança do doador e do receptor da transfusão. A sinceridade do doador de sangue durante a entrevista possibilita identificar os possíveis candidatos com bacteremia

assintomática, que devem aguardar o período correto para a próxima doação de sangue.

2.1.3 Contaminação oriunda do processamento e estocagem do hemocomponente

Após a coleta do sangue, o mesmo é encaminhado para laboratório de fracionamento. No referido laboratório, a bolsa coletada do doador que contém aproximadamente 450 ml de sangue total e 70 ml de solução preservante/anticoagulante, é fracionada dando origem aos hemocomponentes: o concentrado de plaquetas com volume aproximado de 50 ml; o plasma fresco congelado com volume aproximado de 220 ml e o concentrado de hemácias volume aproximado de 250 ml (AMERICAN ASSOCIATION of BLOOD BANKS, 2002). Durante esse processo o hemocomponente pode ser contaminado por microrganismos devido à manipulação com técnicas duvidosas de processamento e conservação do produto coletado.

A contaminação microbiana do hemocomponente durante o processamento e estocagem é muito rara, esse fato poderia ser explicado considerando que hoje os serviços de hemoterapia do Brasil seguem as especificações da RDC N°153/2004 que exige a qualidade no processamento e estocagem do sangue coletado. A adesão às regulamentações oficiais pode ser o motivo para essa fonte de contaminação ser menos frequente quando comparada com as anteriores.

Na literatura existem poucos relatos de contaminação microbiana do hemocomponente durante o processamento e estocagem. Quando ocorre a contaminação nessa fase, geralmente está associada com a utilização de água contaminada para o processo de descongelamento do plasma fresco congelado e/ou devido abertura do sistema do hemocomponente coletado, favorecendo seu contato com o meio ambiente (BRECHER; HAY, 2005).

2.2. Riscos ao receptor sanguíneo derivados da contaminação microbiana do hemocomponente

A contaminação microbiana de hemocomponentes é historicamente considerada uma das causas principais de morbidade e mortalidade relacionadas com a transfusão sanguínea. A real incidência da contaminação microbiana dos hemocomponentes não é bem conhecida, estima-se que esses valores estão compreendidos entre 300 e 1000 unidades para cada milhão de unidades de sangue total coletado (DUMONT et al., 2010).

Os efeitos da contaminação microbiana de hemocomponentes por microrganismos de origem bacteriana podem ser diferentes para cada receptor da transfusão. Geralmente, os efeitos de uma transfusão no receptor são agravados quando essa está associada a indivíduos imunossuprimidos, que ficam suscetíveis a desenvolverem quadros infecciosos mais graves como choque séptico e morte. Na literatura, é relatado que a maior parte das transfusões de concentrado de plaquetas acontece em pacientes com imunossupressão (com doenças hematológicas e/ou oncológicas) esses valores aproximam-se de 85% (BRECHER e HAY, 2005).

A presença de microrganismos, principalmente de origem bacteriana, nos hemocomponentes está frequentemente associada com os concentrados de plaquetas e mais raramente com os concentrados de hemácias e plasma fresco congelado. Esse fato está relacionado com a temperatura de estocagem dos hemocomponentes. Os concentrados de plaquetas são estocados em uma temperatura de 20 a 24°C para preservar sua função e sobrevivência, essa temperatura de estocagem favorece principalmente a proliferação de um largo espectro de bactérias. Já a temperatura de estocagem do concentrado de hemácias pode variar de 2°C a 6°C o que dificulta a proliferação de inúmeros microrganismos (LEE et al., 2002; BRECHER; HAY, 2005).

A ocorrência de contaminação microbiana do plasma fresco congelado é muito rara, considerando que a sua temperatura de estocagem é de -20°C a -30°C, o que dificulta o crescimento de microrganismos, além disso, a transfusão desse hemocomponente é menos frequente na prática clínica. O plasma fresco congelado é enviado pelos serviços de hemoterapia, em sua maioria, para a indústria a fim de se obter a fabricação de hemoderivados, tais como os fatores de coagulação sanguínea e albumina. Como citado anteriormente, a contaminação do plasma fresco congelado, foi relatada na literatura somente devido à utilização de água contaminada no seu processo de descongelamento (BRECHER; HAY, 2005).

Uma vez que o hemocomponente é contaminado por microrganismos, é necessário considerar que alguns deles podem ter pouco ou nenhum significado clínico para o receptor da transfusão. Porém, outros podem ser relevantes e causar uma reação transfusional por contaminação bacteriana. A referida reação transfusional pode variar na intensidade dos sintomas, podendo chegar até quadros mais graves, em que o indivíduo apresenta sépsse e morte. Os efeitos clínicos mais graves geralmente estão associados com microrganismos de origem bacteriana como, por exemplo, por *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* (WENKE-WALTHER, 2008). Estima-se que o risco de um receptor apresentar choque séptico relacionado à contaminação microbiana do hemocomponente transfundido é de 70 a 400 casos para cada milhão de unidades de concentrados de plaquetas transfundidos (DUMONT et al., 2010) e, o risco de morte geralmente ocorre em cada 1 para 60.000 indivíduos que receberam concentrado de plaquetas. (NESS et al., 2001; HILLYER et al., 2003).

Nesse sentido, é importante destacar, que dentre os mecanismos que podem contribuir para incremento dos efeitos adversos em uma reação transfusional por contaminação bacteriana, destacam-se a alta patogenicidade de alguns microrganismos de origem bacteriana, a carga microbiana transmitida e a condição de imunossupressão do receptor (NASCIMENTO, 2002; WENKE-WALTHER, 2008).

A reação transfusional por contaminação bacteriana apresenta como características principais a presença de febre maior ou igual a 39°C ou aumento de 2°C em relação à temperatura pré transfusional, calafrios intensos, tremores, taquicardia (≥ 120 batimentos por minuto ou aumento de 40 batimentos por minuto da condição pré transfusional) e aumento ou queda de 30 mmHg do valor da pressão arterial sistólica. Outros sintomas, também, podem estar associados, tais como: náuseas, vômitos, dor lombar e respiração alterada. Caso o paciente apresente essa reação transfusional, devem ser colhidas amostras de sangue para culturas anaeróbias e aeróbias a fim de se classificar a reação e monitorar o paciente (OLIVEIRA; COZAC, 2003).

A incidência de reação transfusional por contaminação bacteriana, é estimada em uma proporção de 1 em cada 50.000 unidades de concentrados de hemácias transfundidos. Nos concentrados de plaquetas a incidência de reação transfusional por contaminação bacteriana é maior, ocorrendo na proporção de 1 em cada 700 unidades de concentrados de plaquetas transfundidos, fato relacionado à

temperatura de estocagem do hemocomponente (OLIVEIRA; COZAC, 2003). Não foram achados dados conclusivos na literatura, até o momento, em relação à incidência de reação transfusional por contaminação bacteriana a partir de transfusões de hemocomponentes plasmáticos.

Nesse contexto, recomendam-se a combinação várias estratégias para a prevenção e detecção da contaminação microbiana dos hemocomponentes. Dentre elas destacam-se a utilização de uma antissepsia eficaz, o desvio do primeiro volume de sangue coletado e a utilização de tecnologia com alta sensibilidade na detecção bacteriana dos hemocomponentes coletados. Embora muitos serviços de hemoterapia tenham investido em técnicas modernas de flebotomia, conservação e processamento do sangue, a contaminação por microrganismos de origem bacteriana, permanece como uma preocupação relevante nos dias atuais, sendo a antissepsia o principal foco dos serviços de hemoterapia e estudiosos da área na redução de complicações em receptores de transfusão sanguínea (HILLYER et al., 2003; MCDONALD et al., 2001).

A técnica de antissepsia cutânea implementada em doadores de sangue, nos dias atuais, deve apresentar um elevado percentual de redução microbiana após a sua aplicação. Relatos mais antigos na literatura (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2004; MCDONALD et al., 2001) recomendam que para se obter uma eficaz antissepsia é necessário utilizar antissépticos de maneira combinada, ou seja, em dois estágios de aplicação. Porém, estudos mais recentes (MCDONALD et al., 2010; RAMIREZ-ARCOS; GOLDMAN, 2010) obtiveram percentual de redução microbiana maior em técnica realizada com apenas um estágio de aplicação.

O desvio do primeiro volume de sangue coletado (cerca de 15 a 30 ml) para uma bolsa de menor volume anteriormente à bolsa de coleta do sangue visando a coleta das amostras para exames sorológicos e para testes imunohematológicos realizados em toda doação de sangue, possibilita a redução da taxa de contaminação microbiana dos hemocomponentes coletados, uma vez que, encaminha para essa bolsa inicial grande quantidade de microrganismos não eliminados pela antissepsia e/ou que colonizam a parte interna da microbiota da pele do doador (HILLYER et al., 2003).

Quanto ao controle microbiológico dos hemocomponentes coletados, a RDC nº 153/2004 recomenda que todos os serviços de hemoterapia realizem esse controle de qualidade. A normatização Brasileira institui que o controle

microbiológico dos concentrados de hemácias e plaquetas seja realizado em pelo menos 1% da produção total do serviço de hemoterapia. Já para o plasma fresco congelado, esse controle microbiológico deve ocorrer em pelo menos quatro unidades produzidas por mês (BRASIL, 2004). A RDC nº 153/2004 não faz referência sobre o método utilizado pelos serviços de hemoterapia. Recomenda-se que os métodos utilizados para detecção microbiana, especialmente em concentrado de plaquetas, apresentem elevada sensibilidade no momento de sua aplicação (YOMTOVIAN, 2004).

2.3. O uso dos antissépticos: enfoque para o iodo e clorexidina

Conceitualmente a antissepsia é entendida como o emprego de um determinado antisséptico em um tecido vivo visando remover e/ou inibir o crescimento de microrganismos. A técnica de antissepsia deverá ser realizada em todos os procedimentos invasivos que rompam com as barreiras de defesa naturais do indivíduo como pele e mucosas (CDC, 2002).

Os antissépticos, entre outras finalidades, são substâncias utilizadas para a antissepsia cutânea, aplicados na pele e mucosas com o intuito de reduzir e/ou eliminar temporariamente a carga microbiana (PADOVANI; GRAZIANO; GOUVEIA, 2008). O antisséptico utilizado na prática clínica para antissepsia deve ser aquele que, preferencialmente, atenda as necessidades antimicrobianas da prática médica que está sendo utilizado e que não apresente toxicidade ao indivíduo. A utilização demasiada de antissépticos na antissepsia da pele pode acarretar danos progressivos no indivíduo devido à remoção excessiva de lipídios da pele (CRABTREE; PELLETIER; PRUETT, 2001).

Há muitos anos é descrita a preocupação com a desinfecção, antissepsia e medidas de higiene, para prevenir e controlar as diversas doenças. Na Índia (1.400 a 1.200 a.C.), os livros sagrados já orientavam os cuidados que as pessoas deveriam ter com a higiene, como por exemplo, pela manhã as pessoas deveriam banhar-se, limpar os dentes, pingar colírio nos olhos, perfumar-se, mudar a roupa e posteriormente adorar os seus deuses. Hipócrates orientava lavar as feridas com vinho ou vinagre e mantê-las secas cobertas por lãs fervidas (FONSECA, 2006).

Nos séculos XVIII e XIX, com o avanço da indústria química, foram descobertos e comercializados os produtos constituídos a base de iodo e cloro, os quais foram e, são até hoje, utilizados para a limpeza e desinfecção de materiais médico/hospitalares. Em 1840, Semmelweis, um obstetra húngaro, verificou a eficácia da lavagem das mãos como método para prevenir as “infecções pelo contato”, em 1847 Semmelweis instituiu a lavagem das mãos como obrigatória devendo ser realizada com ácido clórico para todos os profissionais da área da saúde. Nesse período, esta conduta reduziu a ocorrência da febre puerperal. O procedimento de lavagens das mãos tem sido recomendado até hoje como medida primária no controle da disseminação de agentes infecciosos (ANVISA, 2007)

Vale ressaltar que, a enfermeira Florence Nightingale, apresentou um papel importante na história da antissepsia e desinfecção. Em 1864, com a guerra da Criméia, a enfermeira, adotou medidas higiênicas rigorosas para prevenir e/ou diminuir a transmissão de doenças entre os combatentes, com esse ato reduziu estatisticamente o número de mortes decorrentes de infecções bacterianas (FONSECA, 2006).

Vários antissépticos tópicos surgiram ao longo da história, produtos que geralmente eram à base de amônia, iodo, álcool e clorexidina (FONSECA, 2006). Atualmente para a comercialização, existem diferentes formulações de antissépticos disponíveis. As três principais formulações incluem: soluções aquosas, alcoólicas e detergentes ou degermantes. As formulações aquosas apresentam como veículo a água estéril e são utilizadas principalmente na antissepsia de mucosas. As soluções alcoólicas, cujo veículo é o álcool, são designadas para antissepsia da pele íntegra. As soluções detergentes, cujo veículo é o detergente, são indicadas para a remoção de impurezas da superfície da pele, sendo amplamente utilizadas para higienização das mãos e/ou antebraço dos profissionais da área da saúde.

Nos dias atuais, o uso dos antissépticos na área da saúde está envolvido em diferentes ações e procedimentos, entre os que podem ser destacados: a higienização das mãos, o preparo de sítios cirúrgicos da pele dos pacientes, a degermação das mãos e braços da equipe cirúrgica, procedimentos invasivos que envolvem a perfuração de pele e mucosas e procedimentos que entrarão em contato com tecidos estéreis (PADOVANI, 2008).

2.3.1 Iodo

O iodo e seus derivados são considerados pela Portaria nº 15 de 1988, da ANVISA, como um dos compostos autorizados em âmbito nacional com atividade antimicrobiana (BRASIL, 1988). Nos dias atuais, os compostos a base de iodo são muito utilizados na prática médico/hospitalar principalmente na antissepsia da pele e mucosas como, por exemplo, a lavagem das mãos, sondagem vesicais, preparação para procedimentos invasivos como cirurgias e punções venosas e centrais (GOTTARDI, 2001).

O composto iodo é um elemento essencial não metálico, que foi descoberto na França em 1812 pelo cientista Courtois, porém foi nomeado “iodo” em 1814 por Gay-Lussac inspirando-se na palavra Grega que significa cor violeta (GOTTARDI, 2001; RUTALA, 1996).

O primeiro uso do iodo na prática médica foi para o tratamento de bócio por volta do ano de 1821. Em 1829, o médico Lugol, utilizou o iodo no tratamento de lesões de pele provocadas por tuberculose. O iodo foi oficialmente reconhecido em 1830 pela Farmacopéia dos Estados Unidos, sendo considerado um agente químico com pouca solubilidade em água, porém bastante solúvel em álcool, glicerol, óleos, benzeno e clorofórmio. Em 1874 obteve-se uma das primeiras publicações científicas relatando o efeito microbicida do iodo contra esporos de *Bacillus anthrax*, a partir de então, o iodo foi reconhecido como um dos mais eficazes antissépticos utilizados na prática médico/hospitalar (GOTTARDI, 2001).

O iodo elementar é pouco solúvel em água. Para contornar esse problema de solubilidade, foram desenvolvidos os iodóforos, que são combinações de iodo com um agente solubilizante e transportador, muito utilizados nos dias atuais por apresentarem um melhor efeito antimicrobiano. Os iodóforos apresentam em suas formulações polímeros neutros, entre eles, o polivinilpirrolidona, polivinill, poliether e o ácido poliacrílico (GOTTARDI, 2001). O polivinilpirrolidona é considerado o polímero mais utilizado para as formulações de iodóforos, formando o polivinilpirrolidona iodo (PVPI). A maioria das soluções apresenta-se nas concentrações de 1% a 10% de PVPI, o que pode ser considerado equivalente a uma concentração de iodo disponível de 0,1% a 10% (CDC, 2002).

Atualmente, para a sua comercialização, os PVPIs são subdivididos em 03 grupos principais de acordo com o solvente utilizado: PVPI aquoso em que o solvente é a água, PVPI degermante em que apresenta o detergente como solvente e PVPI alcoólico, onde o solvente é solução alcoólica. Cada um possui propriedades químicas e microbianas diferentes (GOTTARDI, 2001).

O efeito microbicida do iodo dá-se pela sua rápida penetração através da parede celular do microrganismo. Esse mecanismo de ação é considerado sua característica microbicida principal, sendo responsável por causar desordem letal no metabolismo celular dos microrganismos através de alterações e desnaturação no ácido nucléico e na síntese protéica e, também, por levar a uma oxidação dos componentes celulares do microrganismo (PADOVANI, 2008). Os detalhes exatos do efeito microbicida do iodo ainda não são bem conhecidos, acredita-se que o seu efeito esteja relacionado com vários mecanismos de alteração e danos letais celulares (GOTTARDI, 2001).

A ação antimicrobiana do iodo é rápida, mesmo em baixas concentrações, apresenta ação imediata e efetiva contra um amplo espectro de microrganismos, como bactérias, vírus entéricos e cistos de protozoários. Existem poucas evidências científicas sobre a ação antiviral do iodo, mas sabe-se, que os vírus não lipídicos são menos sensíveis que vírus com envelope lipídico. O iodo, também, apresenta boa atividade fungicida (GRAZIANO; SILVA; BIANCHI, 2000; MCDONNELL; RUSSELL, 1999).

A toxicidade do iodo geralmente está associada a quadros leves como irritações localizadas na pele onde o produto foi aplicado. Reações mais graves estão associadas com a incorporação do iodo em tecidos humanos devido à absorção do produto pela pele a partir de formulações mais concentradas e de uso contínuo (GOTTARDI, 2001).

2.3.2. Clorexidina

A clorexidina é considerada uma solução utilizada com finalidade antimicrobiana autorizada pela Portaria nº 15/1988, da ANVISA. A clorexidina é uma biguanida que foi sintetizada pela primeira vez em 1950 na Inglaterra nos

laboratórios de pesquisa da “Imperial Chemical Industries Ltd.”, por ocasião em estudos para a obtenção de medicamentos contra a malária. Foi inicialmente produzida para ser utilizada como um antiviral, anos mais tarde foi descoberto seu potente efeito bactericida e fungicida (BARBIN, 2008).

A clorexidina é praticamente insolúvel em água quando sozinha, sendo associada ao composto digluconato para alterar a sua solubilidade. Os primeiros sais produzidos da clorexidina foram acetato de clorexidina e cloridrato de clorexidina, porém, ambos apresentavam baixa solubilidade em água sendo de difícil aplicabilidade na prática clínica, por esse motivo foi substituída pelo digluconato de clorexidina (GRAZIANO; SILVA; BIANCHI, 2000).

As soluções contendo o composto clorexidina chamaram a atenção dos pesquisadores pelo seu alto nível de atividade antimicrobiana, por apresentar ação imediata em aproximadamente 15 segundos após a aplicação, por possuir um amplo espectro de ação contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Além disso, é considerada como um antisséptico tópico eficaz e um desinfetante com poder alto antimicrobiano que apresenta baixa toxicidade e forte afinidade em ligar-se com estruturas da pele e mucosas. Estas propriedades conferiram a clorexidina como um dos antissépticos mais importante utilizado para a finalidade de antisepsia da pele, mucosas, feridas e, além da prática clínica, estende-se o seu uso para a farmacêutica e odontológica (GRAZIANO; SILVA; BIANCHI, 2000; DENTON, 2001).

A clorexidina atua rapidamente em alguns vírus, principalmente os envelopados e com componentes lipídicos em sua superfície, como por exemplo, Herpes vírus, Influenza vírus e o HIV. Possui amplo espectro de ação em microrganismos de origem bacteriana e sua ação antifúngica é considerada boa. O efeito da clorexidina irá depender, dentre outros fatores, da espécie do microrganismo que está em contato (DENTON, 2001).

Além disso, o efeito antimicrobiano da solução de clorexidina, é considerado pH dependente, apresentando ótima atividade quando o pH da solução encontra-se entre os valores 5.5 e 7.0, no entanto, mesmo dentro deste intervalo, podem ocorrer variações no efeito antimicrobiano da clorexidina. Acredita-se que seu efeito antimicrobiano sobre alguns microrganismos como o *Staphylococcus aureus* e a *Escherichia coli* aumenta quando o pH chega próximo do valor 7.0, entretanto, para outros microrganismos, como a *Pseudomonas aeruginosa* o efeito da clorexidina pode

ser melhor quando o pH da solução encontra-se próximo ao valor de 5.5 (DENTON, 2001).

Outro fator que pode influenciar na atividade antimicrobiana da clorexidina é a natureza celular eletroforética do microrganismo que está em contato. Sabe-se que a maioria das bactérias apresenta-se carregadas com cargas negativas em sua superfície, essa natureza celular eletroforética pode variar de acordo com a espécie do microrganismo analisado. A carga da superfície celular microbiana na presença de baixas concentrações de clorexidina sofre neutralização, podendo ser reversível em poucos segundos exercendo, portanto, uma atividade bacteriostática. Em concentrações mais altas, o grau de reversão da carga eletroforética microbiana pode se tornar irreversível, assim, a clorexidina exerce um rápido efeito bactericida. (DENTON, 2001).

Nesse sentido, os mecanismos de ação antimicrobiana da clorexidina não são bem definidos na literatura e podem constituir um conjunto de efeitos citológicos e fisiológicos, caracterizados inicialmente pela alteração eletroforética celular microbiana. Esses mecanismos podem ser influenciados pela concentração da clorexidina, tempo de exposição ao produto, pH e temperatura (SANT'ANNA et al., 2001).

As formulações contendo clorexidina vêm sendo utilizadas como produto antisséptico há mais de 30 anos em larga escala no mundo todo, durante esse período, relatos de reação adversa foram raros. Os casos mais freqüentes estavam associados com reações locais da pele com a presença de prurido no momento da aplicação do produto (DENTON, 2001). As reações adversas em doadores de sangue são raras, geralmente as formulações de clorexidina utilizadas para a antissepsia da pele intacta apresentam pouca absorção pela mesma. É recomendável a notificação e o uso de técnicas alternativas para a antissepsia do braço do doador alérgico a clorexidina (ARCOS-RAMIREZ; GOLDMAN, 2010).

2.3.3 Resistência microbiana aos antissépticos

Nos últimos sessenta anos, a resistência dos microrganismos aos antimicrobianos ocorreu, principalmente, devido ao uso indiscriminado e incorreto

dos mesmos. Os antimicrobianos foram introduzidos em larga escala na prática clínica e na produção de alimentos, fato que induziu alterações adaptativas no fenótipo e/ou genótipo dos diversos microrganismos tornando-se capazes de disseminar e adaptar-se no meio ambiente, estabelecer reservatórios, colonizar maleficamente e causar quadros infecciosos graves a indivíduos suscetíveis (CRUZ, 2008).

No contexto da doação de sangue, é necessário considerar que a resistência microbiana pode acontecer por microrganismos presentes na microbiota da pele do doador que sobrevivem à aplicação da antissepsia. Sabe-se que a contaminação por microrganismos resistentes à antissepsia da microbiota da pele do doador é considerada a causa mais frequente de contaminação dos hemocomponentes, como citado anteriormente (MCDONALD et al., 2010).

Além disso, existem alguns microrganismos que apresentam a capacidade de colonizar a solução antisséptica que, geralmente, é armazenada em almotolias utilizadas nos serviços de saúde. Uma vez que a almotolia é contaminada, o efeito da técnica de antissepsia utilizada é prejudicado. Existem alguns relatos de surtos hospitalares envolvendo a contaminação de almotolias com soluções antissépticas de iodo e clorexidina utilizadas na prática clínica na década de 80 (GOETZ; MUDER, 1989; GARCIA-ERCE et al., 2002).

As soluções antissépticas utilizadas nos serviços de hemoterapia, principalmente em países subdesenvolvidos, são geralmente armazenadas em almotolias passíveis de sofrerem contaminação e resistência microbiana. Visando contornar tal situação, alguns países desenvolvidos optam em utilizar na antissepsia “kits” descartáveis e de uso único contendo o produto, volume, a concentração e o swab necessário para a realização da antissepsia. Após o uso o pacote individual é desprezado. As soluções antissépticas contaminadas por microrganismos resistentes e que são utilizadas nos serviços de saúde podem causar graves infecções ao indivíduo receptor suscetível, uma vez que os microrganismos resistentes podem ser encaminhados juntamente com o produto antisséptico durante a realização de procedimentos médicos invasivos (PADOVANI, 2008).

As condições inadequadas de armazenamento e de temperatura das soluções antissépticas podem levar a instabilidade do produto tornando este mais susceptível à contaminação e resistência microbiana (PADOVANI, 2008). Por esse motivo é fundamental que os usuários ao utilizarem as almotolias contendo soluções

antissépticas considerem o adequado armazenamento e temperatura da solução antisséptica. Nesse sentido torna-se imprescindível o interesse dos profissionais da área médica no controle da resistência dos microrganismos aos antissépticos e outros antimicrobianos.

O controle microbiológico por amostragem das soluções antissépticas pode ser uma ferramenta importante para os serviços de saúde que fazem o uso desses produtos no controle da resistência antimicrobiana. A contaminação das soluções antissépticas utilizadas na prática médica, pode levar a diminuição do poder antimicrobiano do produto e causar um efeito indesejável derivado do crescimento de patógenos nas almotolias.

Novos estudos são necessários a fim de se verificar a resistência dos microrganismos frente às técnicas de antisepsia utilizadas em doadores de sangue nos serviços de hemoterapia. Os trabalhos publicados no ramo da antisepsia para doadores de sangue normalmente se limitam ao estudo dos percentuais de redução microbiana das técnicas estudadas e poucos avançam para a identificação dos microrganismos existentes.

3. Justificativa do estudo

.....

Com o propósito de aumentar a segurança transfusional dos receptores de hemoderivados no Hemocentro de Ribeirão Preto e de seus respectivos núcleos e agências transfusionais, este estudo teve por finalidade analisar a ação antimicrobiana de duas técnicas de antissepsia cutânea utilizadas rotineiramente em seus candidatos aprovados a doação de sangue.

O Hemocentro de Ribeirão Preto é responsável por integrar uma grande área composta pela sede (localizada em Ribeirão Preto), quatro núcleos de hemoterapia nas cidades de Araçatuba, Fernandópolis, Franca e Presidente Prudente, quatro unidades de hemoterapia nas cidades de Batatais, Bebedouro, Olímpia e Serrana e um posto de coleta localizado na região central de Ribeirão Preto. Os hemocomponentes coletados na sede, nos núcleos, nas unidades e no posto de coleta são distribuídos para toda a região de Ribeirão Preto que abrange aproximadamente 187 municípios (HEMOCENTRO, 2010).

O controle microbiológico dos hemocomponentes coletados são todos realizados na sede, pelo Laboratório de Controle de Qualidade. A inoculação de amostras dos hemocomponentes mediante ao uso de um aparelho denominado BacT/ALERT (BioMerieux®), que possui um sistema de detecção microbiana automatizada com tecnologia de ponta. Cabe destacar, que não existe até o momento, uma recomendação por parte das legislações nacionais e internacionais sobre qual método é mais recomendado para a detecção microbiana dos hemocomponentes coletados, apenas é exigido que todos os serviços de hemoterapia implementem testes eficazes de detecção microbiológica.

Todas as hemoculturas inoculadas no Hemocentro de Ribeirão Preto que apresentam resultado positivo são encaminhadas para o Laboratório de Microbiologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (LM-HC/FMRP) para identificação microbiológica. Após esse procedimento os resultados positivos das amostras que apresentaram bactérias oriundas da microbiota da pele do doador são comunicados à gerência de Enfermagem. Nesses casos, o flebotomista é acionado e novamente treinado sobre a técnica de antissepsia cutânea.

Considerando que o presente estudo tem por finalidade analisar o efeito antimicrobiano de duas técnicas de antissepsia cutânea em doadores de sangue, espera-se que este estudo possa validar as técnicas de antissepsia cutânea implementadas no Hemocentro de Ribeirão Preto, núcleos e unidades

hemoterápicas, visto que constituem um grande centro de distribuição de hemocomponentes. Além disso, acredita-se que o presente trabalho contribua para discussões futuras no Hemocentro de Ribeirão Preto visando melhorias nas técnicas de antissepsia utilizadas e, também, auxilie outros serviços de hemoterapia através da comparação dos resultados encontrados.

Além disso, ao avaliar o real efeito do método utilizado para a antissepsia cutânea na doação de sangue auxilia na prevenção da contaminação microbiana da bolsa de sangue coletada e conseqüentemente diminui os índices de bolsas descartadas por contaminação microbiana e, principalmente, pode ser uma ferramenta importante na prevenção de reação transfusional por contaminação bacteriana.

4. Objetivos

4.1. Geral

Determinar a carga microbiana antes e após a aplicação de duas técnicas de antissepsia cutânea em doadores de sangue.

4.2. Específicos

1. Quantificar o crescimento microbiano antes e após a aplicação de duas técnicas de antissepsia em doadores de sangue;
2. Estabelecer e comparar o percentual de redução microbiana entre as técnicas de antissepsia utilizadas;
3. Identificar os microrganismos mais frequentes resistentes a aplicação das técnicas de antissepsia;
4. Avaliar a relação entre as características dos sujeitos da pesquisa (sexo, número de doações e idade) com o percentual de redução microbiana.

5. Material e Métodos

.....

5.1. Delineamento e local de estudo

Trata-se de um estudo experimental comparativo com abordagem quantitativa (PEREIRA, 2005), considerando que a proposta deste estudo envolve quantificar e comparar a carga microbiana antes e após a aplicação de duas intervenções (técnicas diferentes de antissepsia) em candidatos aprovados para a doação de sangue.

O presente estudo foi desenvolvido na sede do Hemocentro de Ribeirão Preto, que tem aproximadamente 106.000 candidatos à doação de sangue por ano, incluindo todos os doadores que procuraram a sede, o posto de coleta, os núcleos e as unidades hemoterápicas pertencentes ao Hemocentro de Ribeirão Preto (FERREIRA, 2007). No ano de 2009, 18.488 doadores procuram a sede do Hemocentro de Ribeirão Preto, gerando aproximadamente 14.682 bolsas de sangue coletadas (HEMOCENTRO, 2010).

O Hemocentro de Ribeirão Preto constitui em um centro de hemoterapia e de referência na coleta, processamento e distribuição de sangue para uma região que abrange 187 municípios e cerca de quatro milhões de habitantes (HEMOCENTRO, 2010).

5.2. Aspecto ético

O presente estudo obteve a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (EERP/USP) (Anexo A). Após os esclarecimentos, os participantes, na presença da pesquisadora, fizeram a leitura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A) e ao concordarem em participar da pesquisa, assinaram o termo, recebendo uma cópia do mesmo.

5.3. Participantes do estudo

Foram incluídos no presente estudo, 50 doadores de sangue aprovados pela entrevista clínica independente do sexo e etnia. Os participantes foram escolhidos de maneira aleatória. Para a escolha, foram selecionados os doadores de maneira sequencial e que apresentavam em seu cartão de doação o número par, a escolha foi realizada até completar - se o número de amostras selecionadas por dia.

5.4. Coleta de informações referentes às características dos sujeitos de pesquisa

Os dados referentes às características do sujeito de pesquisa, como sexo, número de doações anteriores e idade, foram coletados através do sistema informatizado do Hemocentro de Ribeirão Preto, o qual registra informações cadastrais de todos os candidatados a doação de sangue e, também, todos os dados sobre as suas doações anteriores. Os dados coletados foram organizados em uma ficha para facilitar a obtenção e digitação das informações coletadas (Apêndice B).

5.5. Técnicas utilizadas para antissepsia cutânea do braço do doador

A escolha das duas técnicas de antissepsia, selecionadas para o presente estudo, aconteceu pelo fato de que as mesmas são utilizadas na rotina do Hemocentro de Ribeirão Preto. No Hemocentro de Ribeirão Preto, nos casos em que o doador refira alergia ao composto iodo é utilizado à técnica de antissepsia com digluconato de clorexidina, cabe destacar que no presente estudo ambas as técnicas foram implementadas, sendo cada uma delas aplicada em um braço do doador.

A primeira técnica de antissepsia consistiu na aplicação de PVPI degermante com 10% de iodo ativo, em uma área quadrada de 7,5 cm de largura por 7,5 cm de comprimento em movimentos de descida e subida por 30 segundos. Após foi aplicado PVPI alcoólico com 10% de iodo ativo em movimento único do centro para fora em uma área de aproximadamente 7,5 cm de largura por 7,5 cm de comprimento, e esperado secar 30 segundos para a punção venosa. Essa técnica

será denominada, a partir desse momento, de “Técnica com PVPI a 10%” (HEMOCENTRO, 2010).

A segunda técnica consistiu na aplicação da solução de digluconato de clorexidina alcoólica a 0,5% em uma área quadrada de 7,5 cm de largura por 7,5 cm de comprimento movimentos de descida e subida por 30 segundos e esperado secar por mais 30 segundos para a posterior punção venosa. A segunda técnica será denominada de “Técnica com clorexidina a 0,5%” (HEMOCENTRO, 2010).

Foi preconizada a quantidade de 02 ml para cada antisséptico utilizado. A quantidade foi medida com auxílio de uma seringa estéril e descartável antes da aplicação de cada técnica.

5.6. Coleta das amostras de swab do braço do doador

Todas as amostras foram coletadas pela própria pesquisadora com objetivo de se evitar discrepâncias e interferências na maneira de coleta das amostras.

Para todos os sujeitos do estudo foram aplicadas as duas técnicas de antisepsia, sendo cada uma das técnicas aplicadas em braços opostos. A escolha do primeiro braço para a aplicação da primeira técnica foi realizada de maneira aleatória. Nas duas técnicas de antisepsia coletou-se: um swab cutâneo estéril no local da punção venosa antes e um após a antisepsia do braço do doador. Para a coleta das amostras, foram utilizados swabs estéreis e descartáveis com embalagem individual (ABSORVE[®], swab estéril e descartável com haste plástica).

Todos os swabs utilizados foram previamente umedecidos em uma solução estéril tamponada de *salina phosphate* com 3% de *Tween 80*, essa solução foi utilizada, pelo seu poder de neutralizar certos desinfetantes e pela sua capacidade enquanto detergente de remover maior quantidade de microrganismos da pele do doador (MCDONALD et al., 2001). Após, o mesmo foi “esfregado” por 30 segundos com movimentos de descida e subida uniformemente (MCDONALD et al., 2010) em área padronizada para todas as amostras de seis centímetros de diâmetro delimitada com auxílio de papel filtro estéril e descartável. A seguir estará representado um diagrama para a coleta amostral (Figura 1).

Figura 1- Representação esquemática da coleta de amostras antes e após a antissepsia do braço do doador, segundo o antisséptico e a técnica utilizada.

Foi realizada uma divisão em duas partes iguais do braço do doador antes e após a antissepsia cutânea, e em cada uma das partes foi coletado um swab. Na parte interna da divisão (considerando o braço do doador) foi coletado o swab antes da antissepsia e na parte externa da divisão foi coletado o swab após a antissepsia. Realizou-se essa divisão a fim de se evitar interferências da quantidade de microrganismos presentes na pele do doador, considerou-se que ao passar o swab duas vezes no mesmo local, acredita-se que na segunda coleta o número de microrganismos provavelmente poderia estar diminuído e/ou alterado. Para auxílio, utilizou-se um papel filtro estéril com orifício indicando e limitando corretamente o local a ser coletado (Figura 2).

Figura 2 – Representação esquemática do local de coleta do swab do braço do doador antes e após a antissepsia.

Quanto às almotolias contendo as soluções de iodo degermante e alcoólico, bem como, as aquelas contendo clorexidina alcoólica foram às mesmas que são utilizadas na rotina do local de estudo. As almotolias foram reservadas no início do estudo, a fim de que, todas apresentassem o mesmo número do lote e marca (RIOQUÍMICA[®], almotolias contendo 100 ml).

Para cada dia de coleta utilizou-se uma nova almotolia a fim de se evitar a contaminação microbiológica das mesmas. Foi realizado o controle microbiológico das almotolias usadas no presente estudo. Para isso, no momento em que o produto era aberto, coletava-se uma amostra de 0,5 ml do antisséptico e, posteriormente no laboratório, semeava-se 10 µL dessa amostra em meio de cultura Ágar Sangue e colocado em estufa a uma temperatura de 35 a 37°C por um período de 5 dias.

Os resultados obtidos foram ausência de crescimento microbiano para todas as amostras inoculadas, evidenciando que nenhuma almotolia contendo o produto antisséptico estava previamente contaminada antes de sua utilização para o presente estudo.

Durante a coleta de todas as amostras foram utilizados os Equipamentos de Proteção Individual (EPIs) como máscaras, óculos e luvas descartáveis entre doadores, seguindo as recomendações da Norma Regulamentadora (NR) do Ministério do Trabalho e Emprego de nº 32. Os EPIs são utilizados para a coleta de todas as bolsas de sangue pelos flebotomistas do Hemocentro de Ribeirão Preto.

Para a antissepsia do braço do doador, é importante destacar, que foram utilizados “kits” individuais estéreis contendo algodão e gaze, suficiente para a realização da antissepsia e finalização do procedimento de coleta. O flebotomista é orientado a não tocar na face do algodão que entrará em contato com a pele do

doador de maneira a evitar a contaminação, caso isso acontecer o procedimento deve ser repetido.

Após a coleta, os swabs foram colocados em tubos esterilizados contendo 1 ml de Solução Fisiológica (SF) 0,9% e 8 pérolas de vidro. Posteriormente, foram transportados em caixa térmica para o Laboratório de Ecotoxicologia e Parasitologia Ambiental da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (LEPA-EERP/USP) para seu processamento.

5.7. Processamento das amostras coletadas

Para a análise no LEPA-EERP/USP, cada swab foi homogeneizado no agitador automático (BIOMIXER[®], tipo vortex) por 1 minuto com 8 pérolas de vidro estéreis que favoreceram a remoção de microrganismos do swab para a solução de SF 0,9%. Após a homogeneização do frasco, foram semeados 100 µL da solução em duas placas de cada meio de cultura utilizados. Os meios de cultura utilizados foram: Ágar Sangue considerado adequado para o crescimento de bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e fungos (FONSECA et al, 2009), Ágar Manitol Salgado meio específico para o crescimento de bactérias *Staphylococcus ssp.* e Mac Cokney meio seletivo para bactérias Gram-negativas (Figura 3). Cabe ressaltar, portanto, que as amostras foram realizadas em duplicatas em cada meio.

Figura 3 - Coleta de 100 µL da amostra para a semedura no meio de cultura
(Fonte: CARDOSO, 2010)

Os meios de cultura Ágar Manitol Salgado (BD BBL™, Mannitol Salt Agar) e Mac Conkey (BD DIFCO™, Mac Conkey Agar) foram adquiridos a partir de formulações em pó, e preparados no LEPA–EERP/USP em placas de petri estéreis e descartáveis. Para o preparo dos meios de cultura Mac Conkey e Ágar Manitol Salgado foram utilizadas às recomendações do fabricante para a quantidade desejada. O outro meio de cultura utilizado foi o Ágar Sangue (New Prov®, Ágar Sangue de Carneiro), este meio de cultura foi comprado pronto em placas de Petri descartáveis e estéreis e mantidos sob refrigeração de 2 a 8°C. As placas de Petri utilizadas para todos os meios de cultura foram todas de diâmetro 90 X15 mm.

Os meios de culturas preparados no LEPA – EERP/USP foram esterilizados na autoclave (ODONTOBRÁS®, MK300 12L) antes do seu uso. As sementeiras foram feitas de maneira que toda a placa de Petri fosse coberta pela amostra semeada no meio de cultura de maneira uniforme e igual para todas as amostras. Esse procedimento foi realizado em Cabine de Proteção Biológica (VECO®, BioProtector 9) de maneira a evitar contaminação ambiental.

O controle microbiológico da autoclave utilizada no LEPA-EERP foi realizado através do bioindicador de controle de autoclave (Sterikon®, plus Bioindicador) a partir de um controle positivo e negativo contendo esporos bacterianos do microrganismo *Geobacillus stearothermophilus*. Para o uso do controle, foram seguidas as recomendações do fabricante. A coloração violeta indica ausência de crescimento bacteriano após esterilização na autoclave e a coloração amarela (controle positivo) indica a presença do microrganismo não esterilizado na autoclave, conforme a Figura 4.

Figura 4 – Controle negativo e positivo da autoclave utilizada.

Após a semeadura das amostras nos meios de cultura selecionados, as placas de Petri foram colocadas na estufa a uma temperatura de 35 a 37°C por um período de 48 horas (MCDONALD et al., 2001; WONG et al., 2004). Após esse período, as colônias de microrganismos que cresceram nas placas de petri foram contadas. Após a contagem, algumas placas de petri foram selecionadas e fotografadas para documentação e registro de imagens. Todas as contagens do número de colônias foram realizadas por mim, pesquisadora, de maneira a evitar discrepâncias nos resultados.

Posteriormente à contagem, os microrganismos que cresceram nas placas com meio de cultura após a antissepsia cutânea, foram isolados e semeados em meio de cultura ágar sangue (Figura 5) e, após o seu crescimento foi realizado a “coloração de Gram” e visualização microscópica. As bactérias isoladas foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto (LM-HC/FMRP) para a sua identificação automatizada.

Figura 5 - Isolamento de duas colônias bacterianas em placa de Ágar Sangue para identificação bacteriana no LM-HC/FMRP.

Para a identificação de bactérias, utilizaram-se cartões de identificação bacteriana, Gram-positivo e Gram-negativo (BIOMERIEUX®, VITEK2 - Compact). A identificação automatizada baseia-se em testes bioquímicos com substratos específicos que permite a identificação bacteriana por gênero e espécie, com a respectiva porcentagem de confiabilidade sendo consideradas altas as porcentagens acima de 90%.

5.8. Análise dos dados

Foi construído um banco de dados no Programa Microsoft Excel Versão 2009 com dupla digitação e calculado o percentual de redução microbiana para cada amostra coletada utilizando-se os valores do crescimento microbiano antes e após a aplicação das técnicas antissepsia cutânea. Posteriormente, os dados foram transferidos para o programa Graph Pad Prism (Version 5, Graph Pad Software, San Diego, CA, USA), para análise estatística.

Os percentuais de redução microbiana foram comparados estatisticamente utilizando-se o teste estatístico não paramétrico Mann-Witney. Em relação às características coletadas dos doadores de sangue, os dados obtidos foram relacionados com o percentual de redução microbiana para ambas as técnicas analisadas. Para isso, aplicou-se o teste estatístico não paramétrico Mann-Witney para a variável sexo, e o teste de correlações de Pearson para as variáveis número de doações e idade dos doadores de sangue incluídos no presente estudo. Os resultados comprobatórios dos testes estatísticos realizados constam ao final do presente estudo (Anexo B).

Em todos os testes realizados, o nível de significância utilizado foi de $\alpha = 0,05$, de modo que o valor de $p < 0,05$ indicou a existência de diferença significativa entre as amostras coletadas antes e após a antissepsia. Já para as amostras com $p > 0,05$ indicou que não houve diferença significativa entre os parâmetros analisados (ZAR, 1999).

6. Resultados e Discussão

.....

Os serviços de hemoterapia visam padronizar métodos de antissepsia cutânea anterior a doação de sangue, que promovam a redução da carga microbiana. Sabe-se que, mundialmente existem esforços e tendências para a padronização universal das técnicas de coleta, processamento e estocagem do sangue, porém, há de se considerar que no ramo da antissepsia são utilizadas diferentes técnicas nos diversos serviços de hemoterapia, sendo muito divergente e variável o número de rotinas implementadas mundialmente para a realização da antissepsia em doadores de sangue. Esse fato dificulta a padronização de técnicas e a comparação entre diferentes formas de aplicação da antissepsia cutânea.

Considerando-se a proposta deste estudo, em analisar a atividade antimicrobiana de duas técnicas de antissepsia em doadores de sangue optou-se por apresentar os resultados e a discussão em 03 etapas de acordo com os objetivos específicos previamente estabelecidos.

6.1. Quantificação do crescimento microbiano e a porcentagem de redução microbiana nas técnicas analisadas

Nas tabelas 1, 2 e 3, serão apresentados, para cada técnica de antissepsia e para cada meio de cultura utilizado, os resultados do crescimento microbiano antes e após a aplicação da antissepsia cutânea e, também, o percentual de redução microbiana. Para a apresentação dos resultados foi obtido a média das amostras em duplicatas de cada meio de cultura e técnica utilizada (Ágar Sangue, Ágar Manitol Salgado e Mac Conkey). Os doadores de sangue foram identificados com numeração crescente de 1 a 50. Ao final da Tabela constam, também, os valores máximos, mínimos e os valores médios.

Tabela 1 – Crescimento microbiano antes e após a aplicação da Técnica com PVPI a 10% e da Técnica com Clorexidina a 0,5% e o respectivo percentual de redução microbiana no meio de cultura Ágar Sangue (A.S).

Doador	Técnica PVPI a 10%			Técnica Clorexidina a 0,5%		
	Média N° de colônias		% redução microbiana	Média N° de colônias		% redução microbiana
	A.S antes	A.S após		A.S antes	A.S após	
1	538	-	100,0%	262	-	100,0%
2	12	-	100,0%	19	-	100,0%
3	06	-	100,0%	05	-	100,0%
4	120	-	100,0%	28	11	60,7%
5	35	02	94,3%	1536	02	99,9%
6	41	-	100,0%	152	-	100,0%
7	33	-	100,0%	170	-	100,0%
8	16	01	96,9%	04	01	85,7%
9	98	-	100,0%	440	15	96,7%
10	235	-	100,0%	162	01	99,7%
11	137	-	100,0%	91	-	100,0%
12	252	-	100,0%	203	-	100,0%
13	33	01	98,5%	34	03	91,2%
14	10	01	94,7%	47	-	100,0%
15	02	-	100,0%	6	-	100,0%
16	152	-	100,0%	105	01	99,0%
17	06	02	66,7%	03	01	80,0%
18	110	-	100,0%	67	01	98,5%
19	16	01	96,9%	35	01	97,1%
20	1215	01	100,0%	815	88	89,2%
21	24	-	100,0%	72	01	99,3%
22	98	02	98,5%	122	03	98,0%
23	395	01	99,9%	06	-	100,0%
24	57	03	95,6%	55	02	97,2%
25	100	01	99,0%	78	01	98,7%
26	890	01	99,9%	580	15	97,5%
27	253	03	99,0%	218	87	60,0%
28	195	-	100,0%	63	01	99,2%
29	189	01	99,5%	193	59	69,7%
30	62	-	100,0%	32	-	100,0%
31	59	-	100,0%	19	-	100,0%
32	11	-	100,0%	10	-	100,0%
33	187	-	100,0%	1010	07	99,3%
34	508	-	100,0%	305	03	99,0%
35	68	-	100,0%	73	-	100,0%
36	129	-	100,0%	68	-	100,0%
37	43	-	100,0%	175	-	100,0%
38	372	-	100,0%	86	32	63,2%
39	810	-	100,0%	770	13	98,4%
40	178	-	100,0%	340	-	100,0%
41	303	-	100,0%	825	08	99,0%
42	55	-	100,0%	10	03	75,0%
43	215	-	100,0%	80	26	67,9%
44	38	-	100,0%	76	-	100,0%
45	625	-	100,0%	425	-	100,0%
46	63	-	100,0%	37	-	100,0%
47	103	-	100,0%	35	-	100,0%
48	06	01	91,7%	2500	6	99,8%
49	83	-	100,0%	64	-	100,0%
50	48	01	97,9%	66	-	100,0%
Val. Máx.	1215	03	100%	2500	88	100%
Val. Mín.	48	-	66,7%	66	-	60,0%
Val. Méd.	184	-	98,57%	252	08	94,38%

Tabela 2 – Crescimento microbiano antes e após a aplicação da Técnica com PVPI a 10% e da Técnica com Clorexidina a 0,5% e o respectivo percentual de redução microbiana no meio de cultura Ágar Manitol Salgado (A.M.S).

Doador	Técnica PVPI a 10%			Técnica Clorexidina a 0,5%		
	Média N° de colônias		% redução microbiana	Média N° de colônias		% redução microbiana
	A.M.S antes	A.M.S após		A.M.S antes	A.M.S após	
1	155	-	100,0%	44	01	98,9%
2	11	-	100,0%	11	01	95,2%
3	03	01	80,0%	06	01	91,7%
4	119	01	99,6%	15	02	86,2%
5	19	01	97,3%	345	04	98,8%
6	17	-	100,0%	113	-	100,0%
7	21	01	97,6%	150	-	100,0%
8	07	-	100,0%	02	-	100,0%
9	67	-	100,0%	250	03	99,0%
10	103	-	100,0%	60	-	100,0%
11	65	-	100,0%	63	-	100,0%
12	61	-	100,0%	47	-	100,0%
13	52	-	100,0%	20	-	100,0%
14	02	-	100,0%	09	01	94,4%
15	03	-	100,0%	01	-	100,0%
16	116	-	100,0%	61	-	100,0%
17	05	-	100,0%	02	-	100,0%
18	53	01	98,1%	39	01	98,7%
19	11	01	90,5%	15	-	100,0%
20	305	-	100,0%	309	36	88,3%
21	21	-	100,0%	24	-	100,0%
22	19	01	97,4%	42	02	95,2%
23	132	-	100%	01	-	100%
24	30	-	100,0%	41	-	100,0%
25	63	01	99,2%	30	01	98,3%
26	310	-	100,0%	328	02	99,5%
27	275	-	100,0%	270	78	71,1%
28	39	-	100,0%	59	-	100,0%
29	159	01	99,7%	174	106	39,2%
30	68	-	100,0%	25	-	100,0%
31	06	-	100,0%	05	-	100,0%
32	07	-	100,0%	04	01	87,5%
33	119	-	100,0%	915	05	99,5%
34	465	-	100,0%	267	01	99,6%
35	75	-	100,0%	74	-	100,0%
36	95	-	100,0%	21	-	100,0%
37	16	-	100,0%	85	-	100,0%
38	78	-	100,0%	21	11	48,8%
39	625	-	100,0%	215	05	97,9%
40	12	02	87,5%	150	-	100,0%
41	210	-	100,0%	810	02	99,8%
42	10	-	100,0%	03	-	100,0%
43	57	-	100,0%	17	05	70,6%
44	09	-	100,0%	53	-	100,0%
45	288	-	100,0%	163	-	100,0%
46	20	-	100,0%	21	-	100,0%
47	40	-	100,0%	13	-	100,0%
48	05	-	100,0%	650	02	99,7%
49	59	-	100,0%	26	-	100,0%
50	21	01	97,6%	13	-	100,0%
Val. Máx.	625	02	100%	915	106	100%
Val. Mín.	21	-	87,5%	13	-	39,2%
Val. Méd.	90	-	98,87%	122	06	95,06%

Tabela 3 – Crescimento microbiano antes e após a aplicação da Técnica com PVPI a 10% e da Técnica com Clorexidina a 0,5% e o respectivo percentual de redução microbiana no meio de cultura Mac Conkey (M.C).

Doador	Técnica com PVPI a 10%			Técnica com Clorexidina a 0,5%		
	Média N° de colônias		% redução microbiana	Média N° de colônias		% redução microbiana
	M.C antes	M.C após		M.C. antes	M.C. após	
1	04	-	100,0%	-	-	100,0%
2	-	-	100,0%	-	-	100,0%
3	-	-	100,0%	-	-	100,0%
4	-	-	100,0%	-	-	100,0%
5	-	-	100,0%	-	-	100,0%
6	-	-	100,0%	-	-	100,0%
7	-	-	100,0%	-	-	100,0%
8	-	-	100,0%	-	-	100,0%
9	-	-	100,0%	-	-	100,0%
10	-	-	100,0%	-	-	100,0%
11	-	-	100,0%	01	-	100,0%
12	01	-	100,0%	01	-	100,0%
13	-	-	100,0%	-	-	100,0%
14	-	-	100,0%	-	-	100,0%
15	-	-	100,0%	-	-	100,0%
16	-	-	100,0%	-	-	100,0%
17	-	-	100,0%	-	-	100,0%
18	-	-	100,0%	-	-	100,0%
19	-	-	100,0%	-	-	100,0%
20	-	-	100,0%	-	-	100,0%
21	-	-	100,0%	-	-	100,0%
22	-	-	100,0%	-	-	100,0%
23	-	-	100,0%	-	-	100,0%
24	-	-	100,0%	-	-	100,0%
25	-	-	100,0%	-	-	100,0%
26	-	-	100,0%	-	-	100,0%
27	-	-	100,0%	-	-	100,0%
28	01	-	100,0%	-	-	100,0%
29	01	-	100,0%	01	-	100,0%
30	-	-	100,0%	-	-	100,0%
31	-	-	100,0%	-	-	100,0%
32	-	-	100,0%	-	-	100,0%
33	-	-	100,0%	-	-	100,0%
34	-	-	100,0%	-	-	100,0%
35	-	-	100,0%	-	-	100,0%
36	-	-	100,0%	-	-	100,0%
37	-	-	100,0%	-	-	100,0%
38	-	-	100,0%	-	-	100,0%
39	-	-	100,0%	-	-	100,0%
40	-	-	100,0%	-	-	100,0%
41	-	-	100,0%	-	-	100,0%
42	-	-	100,0%	-	-	100,0%
43	-	-	100,0%	-	-	100,0%
44	-	-	100,0%	-	-	100,0%
45	-	-	100,0%	-	-	100,0%
46	-	-	100,0%	-	-	100,0%
47	-	-	100,0%	-	-	100,0%
48	-	-	100,0%	-	-	100,0%
49	-	-	100,0%	02	-	100,0%
50	-	-	100,0%	-	-	100,0%
Val. Máx.	04	-	100,0%	02	-	100,0%
Val. Mín.	-	-	100,0%	-	-	100,0%
Val. Méd.	-	-	100,0%	-	-	100,0%

Ao observar as tabelas 1, 2 e 3, percebe-se que, todas as amostras semeadas no meio de cultura Ágar sangue e Ágar Manitol Salgado apresentaram crescimento microbiano antes da antissepsia cutânea. Para o meio de cultura Mac Conkey houve crescimento microbiano em apenas 08 amostras coletadas antes da antissepsia em ambas as técnicas utilizadas.

A maior parte dos microrganismos encontrados na microbiota da pele são bactérias Gram-positivas, seguido de bactérias Gram-negativas, fungos e vírus, fato que poderia justificar a ausência de crescimento em algumas amostras semeadas antes da antissepsia no meio de cultura Mac Conkey, considerado um meio seletivo para o crescimento de bactérias Gram-negativas (TRABULSI; SAMPAIO, 2005). As características individuais do doador como os hábitos de vida e/ou higiene e o meio ambiente em que o doador vive, são fatores contribuintes para o aumento ou diminuição da carga microbiana da pele do sujeito. Além disso, esses fatores podem contribuir em variações quanto ao gênero e espécie de microrganismos encontrados na microbiota da pele, podendo levar a alguns indivíduos a apresentarem uma menor colonização de bactérias Gram-negativas em sua microbiota (FONSECA, 2006).

Nos meios de cultura Ágar sangue e Ágar Manitol Salgado o crescimento microbiano antes da antissepsia é esperado em todas as amostras visto que na microbiota da pele existe grande quantidade de bactérias Gram-positiva sendo grande parte delas pertencem ao gênero *Staphylococcus* (TRABULSI; SAMPAIO, 2005).

O crescimento microbiano após a antissepsia foi menos frequente. Na Técnica com PVPI a 10%, o crescimento microbiano após antissepsia ocorreu em 32% dos casos para as amostras semeadas no meio de cultura Ágar Sangue totalizando a ocorrência de crescimento microbiano em 16 doadores de sangue. No meio de cultura Ágar Manitol Salgado 22% dos doadores após a aplicação da Técnica com PVPI a 10% obtiveram crescimento microbiano, ou seja, 11 doadores apresentaram crescimento após antissepsia. Não houve crescimento microbiano após a antissepsia com a Técnica com PVPI a 10% para as amostras semeadas no meio de cultura Mac Conkey. No total 27 amostras apresentaram crescimento microbiano após a antissepsia na Técnica com PVPI a 10%.

Os valores encontrados para o crescimento microbiano após a aplicação da Técnica com clorexidina a 0,5% foram diferentes aos achados da Técnica com PVPI

a 10%. Observou-se que com a aplicação da Técnica com clorexidina a 0,5% um número maior de doadores apresentou crescimento microbiano após sua realização quando comparado com a Técnica com PVPI a 10%. Na Técnica com clorexidina a 0,5% houve crescimento microbiano após a antissepsia em 54% dos casos no meio de cultura Ágar Sangue, totalizando a ocorrência de crescimento microbiano em 27 doadores. No meio de cultura Ágar Manitol Salgado, a técnica com clorexidina a 0,5%, apresentou crescimento microbiano após a antissepsia em 44% das amostras analisadas, ou seja, 22 doadores apresentaram crescimento microbiano após a aplicação da antissepsia. Não houve crescimento microbiano após a antissepsia com a Técnica com clorexidina a 0,5% para as amostras semeadas no meio de cultura Mac Conkey. Nesse sentido, a Técnica com clorexidina a 0,5%, apresentou 49 amostras com crescimento microbiano após a antissepsia cutânea.

Os resultados do presente estudo indicam que, a Técnica com PVPI a 10% foi apresentou maior redução microbiana, quando comparado com a Técnica com clorexidina a 0,5%, ou seja, a persistência microbiana após a antissepsia foi menos freqüente na Técnica com PVPI a 10%. A persistência microbiana após a antissepsia cutânea é considerada atualmente, o grande desafio dos estudiosos da área na prevenção e detecção da contaminação microbiana dos hemocomponentes visto que múltiplos fatores estão envolvidos na resistência microbiana após a aplicação da antissepsia (BUENO, 2010).

O fato da Técnica com clorexidina a 0,5% apresentar maior persistência microbiana após antissepsia cutânea, pode ser influenciado por alguns fatores que podem limitar e interferir na ação antimicrobiana da técnica utilizada. Dentre esses fatores, podemos destacar: o modo de aplicação da técnica de antissepsia, o volume do antisséptico utilizado e a concentração do produto (BUENO, 2010). Cabe destacar que dentro desses fatores, a concentração utilizada da clorexidina pode ser determinante em sua atividade antimicrobiana. A solução de clorexidina a 0,5% apresenta atividade antimicrobiana contra um amplo espectro de microrganismos de origem bacteriana, vírus e fungos, porém nessa concentração não apresenta atividade esporicida questionável. Fato que poderia justificar o maior crescimento após a antissepsia de microrganismos resistentes a aplicação do produto (BENJAMIN et al., 2010).

Nesse contexto, é importante destacar que a RDC nº 153/2004, o FDA (2004) e o manual técnico da AABB (2008), recomendam o uso da clorexidina alcoólica na

concentração de 2% para a antissepsia do braço do doador. O Hemocentro de Ribeirão Preto emprega a clorexidina alcoólica a 0,5%, fato que poderia ser justificado pela dificuldade em encontrar a clorexidina alcoólica a 2% comercializada no Brasil. Entretanto no presente estudo a técnica com clorexidina a 0,5% apresentou percentual de redução microbiana inferior aos estudos que utilizaram a clorexidina a 2% (MCDONALD et al., 2010; BENJAMIN et al., 2010; RAMIREZ-ARCOS; GOLDMAN, 2010). Os resultados do presente demonstram a necessidade de adequação da concentração da clorexidina utilizada atualmente para a antissepsia do braço do doador alérgico ao produto iodo no Hemocentro de Ribeirão Preto.

Embora tenha havido crescimento microbiano em algumas amostras após a antissepsia, o percentual de redução das técnicas analisadas foi elevado. Para a Técnica com PVPI a 10% o valor médio de redução microbiana foi de 98,57% no meio de cultura Ágar sangue e de 98,89% no meio de cultura Ágar manitol salgado. O valor médio nos dois meios de cultura analisados para a Técnica com PVPI a 10% foi de 98,73%. No meio de cultura Mac Conkey o percentual de redução microbiana foi de 100% para ambas as técnicas analisadas.

Para a Técnica com clorexidina a 0,5%, foi observado um percentual de redução microbiana menor, obtendo um valor médio de redução microbiana de 94,38% no meio de cultura Ágar sangue e um percentual médio de redução microbiana de 95,06% no meio de cultura Ágar manitol salgado. Para a Técnica com clorexidina a 0,5% foi obtido um valor médio para os dois meios de cultura utilizados de 94,72%.

O percentual de redução microbiana foi estatisticamente significativo ($p < 0,05$) quando se compararam os valores médios de redução microbiana nos meios de cultura Ágar Sangue e Ágar Manitol Salgado para ambas as técnicas de antissepsia implementadas. Observou-se através do teste estatístico Mann Whitney (ANEXO B - 1, 2), que a técnica com PVPI a 10% apresentou significativamente maior percentual de redução microbiana que a Técnica com clorexidina a 0,5%.

Em ambos os meios de cultura utilizados, os valores médios de redução microbiana na Técnica com clorexidina a 0,5% são inferiores quando comparados com a Técnica com PVPI a 10%. Esse fato evidencia através das análises que, no presente estudo, a Técnica com PVPI a 10% apresentou melhor efeito antimicrobiano que a Técnica com clorexidina a 0,5%. A Figura 6, a seguir, mostra o

valor do percentual médio de redução microbiana e o desvio padrão de cada técnica desenvolvida nos diferentes meios de cultura utilizados.

Figura 6 – Valor médio e desvio padrão do percentual de redução microbiana no meio de cultura Ágar Sangue, Ágar Manitol Salgado e Mac Conkey, segundo a Técnica com PVPI a 10% (T.I. a 10%) e Técnica com Clorexidina a 0,5% (T.C. a 0,5%).

Em estudo realizado por McDonald et al. (2001), em que foi avaliada o poder antimicrobiano de 12 técnicas de antisepsia cutânea em doadores, foram identificados percentuais de redução microbiana diferentes para cada uma das técnicas analisadas. Dentre as técnicas analisadas, os autores verificaram a eficácia antimicrobiana da técnica denominada “North London” que consistiu na aplicação de clorexidina alcoólica a 0,5% em movimento espiral único no local da punção e

esperado secar por 15 segundos após a aplicação do produto. Esta técnica aplicada apresenta bastante semelhança com a Técnica com clorexidina a 0,5%, realizada no presente estudo. Os autores obtiveram um percentual de redução de 88% para a técnica “*North London*”, inferior ao resultado obtido pela Técnica com clorexidina a 0,5% do presente estudo, fato que pode estar relacionado principalmente com a forma de execução da técnica, que pode influenciar diretamente na atividade antimicrobiana da antissepsia (BUENO, 2010).

A maneira de aplicação da técnica de antissepsia pode ser uma ferramenta relevante na atividade antimicrobiana da mesma. Fato que pode ser evidenciado pelo estudo realizado por McDonald et al. (2001). No estudo, os autores avaliaram que a técnica que obteve maior percentual de redução microbiana foi à técnica adaptada denominada “*Medi-Flex Adapted*” com 99,79% de redução, valor superior aos resultados encontrados nas técnicas analisadas no presente estudo. A técnica adaptada pelos autores consistiu na aplicação de dois estágios sendo o primeiro com álcool 70% em movimentos de descida e subida por 30 segundos seguido da aplicação de iodo tinctura 2% em movimentos de descida e subida no braço do doador. Após, os autores realizaram a mesma técnica, porém, no segundo estágio alteraram a maneira de aplicação do produto, ao invés de movimentos de descida e subida, aplicaram o antisséptico em movimento espiral, nessa técnica, denominada “*Medi Flex Standard*”, o percentual de redução foi de 97,54%, concluindo-se que a maneira de aplicação da técnica de antissepsia, também, constitui fator decisivo em sua atividade antimicrobiana (MCDONALD et al., 2001).

Outro aspecto relevante para o sucesso da atividade antimicrobiana da técnica de antissepsia utilizada é a quantidade exata do produto antisséptico utilizado. No Hemocentro de Ribeirão Preto a quantidade do produto antisséptico utilizado em cada doador não é padronizada, apenas é colocada pelo flebotomista no algodão estéril quantidade suficiente de antisséptico para a realização da antissepsia. De acordo com estudo realizado por McDonald et al. (2010), em que foi avaliada a mesma técnica, com o mesmo antisséptico e na mesma concentração por 03 vezes mudando apenas o volume de aplicação para cada momento sendo de 3,0 ml, 1,5 ml e 1,0 ml, observaram que o percentual de redução microbiana variou em cada um dos volumes utilizados. Segundo os autores, foi encontrado maior percentual de redução microbiana quando se utilizou o volume de 1,5 ml (99,91%), para o volume de 3,0 ml foi encontrado percentual de redução microbiana de

99,66% e no volume de 1,0 ml foi observado o percentual de redução microbiana de 98,51%, no entanto o trabalho não informa se houve significância estatística (MCDONALD et al., 2010).

Esse fato demonstra a necessidade da padronização do volume do antisséptico utilizado como uma das etapas importantes no sucesso da técnica de antisepsia cutânea realizada no braço do doador (MCDONALD et al., 2010). Em geral, na concepção dos flebotomistas o aumento do volume do antisséptico significa um aumento da atividade antimicrobiana da técnica utilizada, no entanto os dados publicados por Macdonald et al. (2010) sugerem que não existe uma relação direta entre o aumento do volume do antisséptico com o aumento do poder antimicrobiano do mesmo, o que pode ser um importante indicador para a padronização do volume antisséptico que vem utilizado pelo Hemocentro de Ribeirão Preto na técnica de antisepsia.

Nesse mesmo estudo, Mcdonald et al. (2010) chegaram à outra conclusão relevante, que nem sempre a antisepsia realizada em 02 estágios de aplicação, ou seja, produtos diferentes aplicados um após o outro a fim de se obter um efeito sinérgico, representa o método mais eficaz na redução microbiana como recomendado em alguns estudos (MCDONALD et al., 2001; LEE et al., 2002; FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2004; AMERICAN ASSOCIATION of BLOOD BANKS, 2008). Mcdonald et al. (2010) avaliaram duas técnicas: a primeira consistiu em 02 estágios de aplicação (álcool 70% seguido da aplicação de 2% de iodo tintura) e a segunda em apenas um estágio (clorexidina alcoólica a 2% aplicada com dispositivo próprio de aplicação e de uso único). Os autores observaram que a técnica com melhor percentual de redução microbiana foi àquela aplicada em apenas um estágio obtendo um valor de redução de 99,91%, já a técnica aplicada em 02 estágios obteve redução inferior de 99,89%, concluindo-se que com apenas um estágio de aplicação da antisepsia é capaz de se conseguir um excelente resultado antimicrobiano (MCDONALD et al., 2010).

Os mesmos achados foram encontrados no estudo realizado por Ramirez-Arcos e Goldman (2010). Os autores concluíram que a aplicação da mesma técnica analisada por Mcdonald et al. em 2010 (clorexidina alcoólica a 2% com swab estéril e descartável) é preferível pelo seu efeito antimicrobiano e custo - benefício a métodos de antisepsia com 02 estágios de aplicação, visto que a técnica com apenas um estágio consegue igualar e/ou superar o poder antimicrobiano das

técnicas aplicadas em dois estágios de antissepsia, além disso, o novo protocolo não afetou os índices de contaminação microbiana de hemocomponentes do serviço de hemoterapia estudado (RAMIREZ-ARCOS; GOLDMAN, 2010).

A técnica aplicada em apenas um estágio utilizando a clorexidina alcoólica a 2% vem sendo descrita na literatura, como a técnica mais recomendável para a antissepsia em doadores de sangue pelo seu elevado poder antimicrobiano e por apresentar um custo - benefício favorável para as instituições que implementaram em sua rotina esse protocolo. Mais recentemente, Benjamin et al. (2010), compararam a aplicação dessa técnica de estágio único para antissepsia com a técnica aplicada em dois estágios utilizando o método com PVPI 7,5% seguido de PVPI alcoólico a 10%. Após análises microbiológicas, os autores concluíram que a técnica mais efetiva na redução microbiana após a antissepsia, foi a aplicada em apenas um estágio com clorexidina alcoólica a 2% (BENJAMIN et al., 2010).

No presente estudo, a técnica realizada em apenas um estágio (Técnica com clorexidina a 0,5%) obteve um valor de redução microbiana menor que a técnica realizada em 02 estágios (Técnica com PVPI a 10%). Esse fato poderia estar relacionado com a concentração do produto antisséptico utilizado, ou seja, na concentração de 0,5% a clorexidina não apresenta função esporicida (BENJAMIN et al., 2010).

Essas evidências podem trazer elementos para discussões futuras visando à mudança da concentração que vem sendo estipulada nos protocolos do Hemocentro de Ribeirão Preto para a técnica de antissepsia em que se utiliza a clorexidina alcoólica. Nesse contexto, é importante destacar que os órgãos americanos FDA (2004) e a AABB (2008) recomendam que a antissepsia quando realizada com o antisséptico clorexidina alcoólica, apresente a concentração de 2% (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2004; AMERICAN ASSOCIATION of BLOOD BANKS, 2008). No Brasil, não existe até o momento para a comercialização, formulações de clorexidina alcoólica a 2%, sendo necessária a sua importação, o que poderia aumentar os custos do serviço de hemoterapia. Por outro lado, ao implementar a técnica de antissepsia utilizando a clorexidina a 2% poderia diminuir os casos de contaminação microbiana dos hemocomponente e propiciar um incremento na segurança transfusional ao receptor, visto que, essa técnica apresenta um percentual alto de redução microbiana de acordo com estudo realizado por McDonald et al. (2010).

A implementação nos serviços de hemoterapia de uma técnica de antissepsia com elevado grau de redução microbiana, utilizando apenas 01 estágio de aplicação do produto, pode ser uma proposta interessante para a redução de custos e principalmente do tempo despendido pela equipe de flebotomistas na realização do procedimento de antissepsia. A possibilidade de ganho de tempo, mesmo que pequeno, por procedimento de antissepsia realizado, minimiza também, o tempo gasto pelo doador de sangue dentro do serviço de hemoterapia, que no Hemocentro de Ribeirão Preto é bastante valorizado (BUENO, 2010). O tempo despendido pelo doador de sangue no caminho do sangue é uma ferramenta importante na qualidade do serviço de hemoterapia. Nesse sentido a implantação de medidas, sejam elas na pré - triagem, triagem clínica ou coleta, que visam diminuir o tempo de permanência do doador, pode aumentar a qualidade do serviço de hemoterapia.

Outro aspecto que deve ser considerado para o sucesso de uma técnica de antissepsia em doadores de sangue, é certificar que o produto antisséptico que está sendo utilizado não está previamente contaminado. *Existem* relatos na literatura que evidenciam que as almotolias contendo soluções antissépticas sofrem contaminação por microrganismos principalmente por bactérias Gram-negativas devido à estrutura de sua parede celular que confere maior resistência aos antissépticos quando comparada com bactérias Gram-positivas. Alguns surtos de infecções hospitalares aconteceram na década de 80 devido a contaminação de almotolias contendo iodo. Goetz e Muder (1989) relataram casos de contaminação de almotolias de PVPI por *Pseudomonas aeruginosa* em pacientes dialíticos que utilizavam o PVPI para antissepsia anteriormente ao procedimento de diálise (PADOVANI, 2008).

Casos de contaminação de almotolias contendo clorexidina, também, foram reportados. Marrie e Costerton (1981) reportaram a contaminação prolongada de soluções contendo clorexidina por *Serratia marcescens* (PADOVANI, 2008). Outro estudo realizado por Garcia-Erce et al. (2002), investigou a contaminação microbiana de almotolias contendo clorexidina aquosa 0,5% por *Burkholderia cepacia* (bactéria Gram-negativa, amplamente distribuída no meio ambiente associada principalmente com infecções nosocomiais), os autores concluíram que dependendo da concentração utilizada de clorexidina, a mesma não é capaz de inibir o crescimento microbiano, principalmente de bactérias Gram-negativas (GARCIA-ERCE et al., 2002).

Nesse sentido, o controle microbiológico das almotolias torna-se um instrumento importante no sucesso da antissepsia do braço do doador, ressaltando que o referido controle deverá ser realizado em conjunto com outras medidas de prevenção e/ou minimização da contaminação microbiana do hemocomponente. A contaminação do antisséptico utilizado pode levar a diminuição na qualidade antimicrobiana da técnica de antissepsia implementada e um efeito indesejável de contaminação microbiana por patógenos que cresceram nas almotolias. No Hemocentro de Ribeirão Preto, as almotolias apenas são conservadas em locais climatizados e após abertas são fechadas com o próprio lacre do produto. Para contornar tal situação, alguns países desenvolvidos, utilizam em seu serviço de hemoterapia pacotes individuais contendo o swab, o produto desejado na concentração e volume padronizado.

Com intuito de aumentar ao máximo a segurança do receptor de uma transfusão sanguínea, os serviços de hemoterapia devem optar por uma eficaz antissepsia que reduza ao máximo o número de microrganismos após a aplicação da mesma levando-se em consideração o custo-benefício. Além disso, outras medidas adicionais devem ser implementadas atuando como barreiras na prevenção da contaminação de hemocomponentes, destacando-se entre elas o desvio do primeiro volume coletado e o controle microbiológico rigoroso dos hemocomponentes, bem como, dos produtos que são utilizados para finalidade antisséptica (BUENO, 2010).

6.2 Relações entre as características do doador e o percentual de redução microbiana

Nos dias atuais, embora seja reconhecida a importância da realização de uma antissepsia adequada e eficaz contra a contaminação microbiana de hemocomponentes, sabe-se que esse procedimento isoladamente não é completamente eficaz. Existem muitos fatores, anteriormente mencionados, que limitam a ação antimicrobiana da técnica de antissepsia empregada. Entre os fatores existem aqueles inatos do indivíduo, que podem limitar e fracassar a ação antimicrobiana das técnicas de antissepsia (BUENO, 2010).

Alguns indivíduos apresentam um elevado grau de colonização da microbiota da pele ocasionado pelo aumento da atividade das glândulas sebáceas que levam a maior produção de substrato pelas mesmas e consequentemente maior proliferação microbiana, além disso, a presença elevada de microrganismos na microbiota pode estar relacionada com hábitos de vida e higiene dos doadores. Esses fatores são de difícil previsão e sugerem que a persistência microbiana é passível de ocorrer visto que nenhuma técnica de antisepsia permite a total ausência de crescimento microbiano do braço do doador (BUENO, 2010; CID et al., 2003).

Os doadores participantes do presente estudo foram caracterizados segundo o sexo, número de doações e idade, conforme será apresentado na Figura 7.

Figura 7 – Distribuição dos sujeitos incluídos no estudo segundo o sexo, número de doações e idade.

Não foram achados, até o momento, dados conclusivos na literatura que relacionam a persistência microbiana e fatores inatos do indivíduo como sexo,

número de doações e idade. A escassez de dados científicos dificultou a comparação dos resultados encontrados no presente estudo com outras publicações científicas.

Ao observar a Figura 7, nota-se que dos 50 doadores de sangue que participaram do presente estudo, 60% deles eram do sexo masculino e 40% do sexo Feminino. Esses dados podem estar relacionados com o fato que no Hemocentro de Ribeirão Preto o número de doações realizadas por pessoas do sexo masculino é mensalmente superior quando comparado com o número de doações feitas por mulheres. O Hemocentro de Ribeirão Preto obteve no período de Janeiro a Julho de 2010, 2.475 doações do sexo feminino aptos para a doação de sangue e 5.723 doações do sexo masculino aptos para a doação (HEMOCENTRO, 2010).

Ao comparar o percentual de redução microbiana para o sexo feminino e masculino segundo a técnica antissepsia utilizada, não foi constatada relação estatisticamente significativa ($p>0,05$) pela aplicação do teste de Mann Whitney entre os sexos e o percentual de redução microbiana (ANEXO B – 3, 4, 5 e 6). Isso significa que o aumento ou diminuição do percentual de redução microbiana no presente estudo independe do sexo do sujeito analisado (homens ou mulheres) nos meios de cultura analisados e para ambas as técnicas implementadas.

Os dados encontrados em estudo realizado por Cid et al. (2003), foram divergentes com o do presente estudo. Os autores relataram em seu estudo, um percentual de redução microbiana menor em doadores do sexo masculino visto que houve maior persistência microbiana nos sujeitos do sexo masculino, ou seja, houve maior número de crescimento microbiano após a antissepsia cutânea (realizada com PVPI 7,5% seguido da aplicação de PVPI 1%) em doadores homens (CID et al., 2003). Entretanto, no estudo realizado Perez et al. (2002), em que avaliou diferentes determinantes na redução microbiana após a antissepsia do braço do doador, encontraram maior grau de persistência microbiana em mulheres (2,55%) e menor em homens (2,14%).

Os achados sugerem que o sexo do doador de sangue pode não ser uma característica determinante na persistência microbiana após a antissepsia do braço do doador. A microbiota da pele do ser humano independe do sexo do sujeito analisado e sim das características individuais como hábitos de vida e de higiene do doador analisado, características que irão determinar a composição da microbiana da pele do indivíduo.

Ao analisar novamente a Figura 7, nota-se que houve a predominância de doadores esporádicos incluídos no presente estudo (44%). Não foi observada correlação estatisticamente significativa ($p>0,05$) através do teste de correlações de Pearson (ANEXO B - 7), entre o número de doações dos sujeitos participante e o percentual de redução microbiana nos meios de cultura utilizados e em ambas as técnicas. Ou seja, o número de doações não influenciou no aumento ou na diminuição da persistência microbiana.

Alguns estudos sugerem que o percentual de redução microbiana pode ser aumentado com o aumento do número de doações do doador de sangue (PEREZ et al., 2002; CID et al., 2003). Os autores explicam esse fato, reportando que com o aumento do número de doações existe maior probabilidade de se formar pequenas escaras ou cicatrizes no local da punção, tornando-se locais de difícil antissepsia e remoção microbiana, o que levaria a uma diminuição na qualidade da técnica de antissepsia e uma diminuição do percentual de redução microbiana (PEREZ et al., 2002; CID et al., 2003). Porém, o presente estudo não apresentou essa relação, fato que poderia estar relacionado com o número de doações anteriores dos sujeitos analisados que em sua maioria foram doações esporádicas, nesses casos os sujeitos doam sangue geralmente apenas 01 vez por ano ou em período superior a 01 ano, prática que pode não alterar a integridade da pele do doador.

Em relação à idade dos participantes, observou-se que a maior parte dos sujeitos apresentava idade entre 18 a 49 anos. Não houve correlação estatisticamente significativa ($p>0,05$) através do teste de correlações de Pearson (ANEXO B - 8), entre a idade do indivíduo participante do estudo e o percentual de redução microbiana nos meios de cultura utilizados e em ambas as técnicas analisadas, ou seja, no presente estudo a idade não apresentou relações com o aumento ou diminuição do percentual de redução microbiana.

Em estudo realizado por Perez et al. (2002) em que avaliou os determinantes na contaminação microbiana dos hemocomponentes e suas relações com as características dos doadores, encontrou maior grau de contaminação microbiana em doadores com idade superior a 35 anos, apresentando taxa de contaminação de 2,82%. Para os doadores com idade abaixo de 35 anos a taxa de contaminação foi de 1,43%, ou seja, os autores sugerem que doadores com idade igual ou superior a 35 anos apresentaram menor percentual de redução microbiana. A possível explicação para esse fato, segundo Perez et al. (2002), ocorre porque doadores com

idade igual e/ou superior a 35 anos podem apresentar maior número de doações anteriores e com isso aumentar a sua probabilidade de desenvolver escaras e/ou cicatrizes no local da punção o que dificulta a antissepsia do braço do doador.

No presente estudo não houve relações estatisticamente significantes entre as características (sexo, número de doações e idade) do doador com o aumento ou diminuição do percentual de redução microbiana. Os dados encontrados nessa temática foram inconclusivos não sendo possível a análise profunda da relação entre as características do sujeito com o aumento ou diminuição do percentual de redução microbiana. É sugerido que novos estudos envolvendo essa temática sejam realizados com uma amostragem maior, a fim de se verificar com maior profundidade essas relações do doador com o percentual de redução microbiana.

6.3. Bactérias identificadas resistentes a antissepsia

A identificação de bactérias resistentes a antissepsia cutânea constitui uma ferramenta importante na avaliação da técnica antissepsia implementada, visto que, a identificação distingue a espécie e o gênero bacteriano resistente à técnica utilizada, com isso, algumas medidas podem ser tomadas e direcionadas de acordo com a bactéria identificada encontrada.

Nesse contexto, é necessário considerar, que algumas bactérias resistentes à antissepsia podem ter pouco ou nenhum significado clínico para o receptor da transfusão sanguínea, porém, outras espécies bacterianas podem causar quadros infecciosos mais graves nos indivíduos receptores da transfusão, principalmente aqueles em situação de imunossupressão. O quadro mais grave relatado na literatura por contaminação bacteriana de hemocomponentes é a ocorrência de séps e morte após a transfusão (WENKE-WALTHER, 2008).

De maneira geral, acredita-se que nem todos os indivíduos que recebem hemocomponentes contaminados por microrganismos de origem bacteriana irão desenvolver uma reação transfusional por contaminação bacteriana. Estima-se que 40% dos indivíduos receptores de hemocomponentes contaminados desenvolvem reação transfusional por contaminação bacteriana. Além disso, de acordo com estudo realizado por Yomtovian (2004), a espécie bacteriana mais comumente

encontrada em concentrados de plaquetas contaminados por microrganismos de origem bacteriana são os *Staphylococcus* coagulase negativos capazes de causar quadros graves em indivíduos imunossuprimidos (YOMTOVIAN, 2004).

Na pele do ser humano existe uma variação muito grande quanto às espécies bacterianas, por esse motivo apenas algumas amostras foram identificadas (Tabela 4) embora todas as bactérias que cresceram após a antissepsia foram encaminhadas ao LM-HC/FMRP para identificação. Esse fato ocorreu devido o aparelho de identificação bacteriana do LM-HC/FMRP apresentar algumas limitações e identificar principalmente as bactérias de importância clínica em microbiologia. Os resultados comprobatórios da identificação bacteriana emitidos pelo aparelho VITEK2- Compact® constam no Anexo C.

A seguir, na Tabela 4, são apresentadas as espécies bacterianas identificadas após a antissepsia cutânea, segundo a técnica utilizada, o meio de cultura e o número do doador, respectivamente. Cabe destacar, que no meio de cultura Mac Conkey não houve crescimento microbiano após a antissepsia cutânea.

Tabela 4 - Bactérias identificadas resistentes a antissepsia nos doadores de sangue analisados segundo a técnica e o meio de cultura utilizado.

Doador	Técnica utilizada	Meio de cultura	Bactéria identificada
5	Técnica com PVPI a 10%	A.S	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
5	Técnica com Clorexidina a 0,5%	A.M.S	<i>Staphylococcus hominis</i>
7	Técnica com PVPI a 10%	A.M.S	<i>Staphylococcus hominis</i>
9	Técnica com Clorexidina a 0,5%	A.S	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
14	Técnica com PVPI a 10%	A.S	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
18	Técnica com Clorexidina a 0,5%	A.S	<i>Staphylococcus hominis</i>
19	Técnica com PVPI a 10%	A.M.S	<i>Staphylococcus cohnii</i>
22	Técnica com Clorexidina a 0,5%	A.S	<i>Staphylococcus capitis</i>
26	Técnica com Clorexidina a 0,5%	A.S	<i>Staphylococcus hominis</i>
26	Técnica com PVPI a 10%	A.S	<i>Staphylococcus hominis</i>
29	Técnica com Clorexidina a 0,5%	A.S	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
38	Técnica com Clorexidina a 0,5%	A.M.S	<i>Staphylococcus hominis</i>
41	Técnica com Clorexidina a 0,5%	A.S	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
41	Técnica com Clorexidina a 0,5%	A.M.S	<i>Staphylococcus hominis</i>
43	Técnica com Clorexidina a 0,5%	A.S	<i>Staphylococcus hominis</i>
48	Técnica com Clorexidina a 0,5%	A.M.S	<i>Staphylococcus hominis</i>
48	Técnica com Clorexidina a 0,5%	A.S	<i>Staphylococcus hominis</i>
48	Técnica com PVPI a 10%	A.S	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
50	Técnica com PVPI a 10%	A.M.S	<i>Staphylococcus hominis</i>

A.S = Ágar Sangue; A.M.S = Ágar Manitol Salgado.

A Tabela 4 mostra que foram encontradas 05 espécies bacterianas resistentes à antissepsia no presente estudo. Dentre todas as bactérias identificadas

o *Staphylococcus hominis* foi a que apresentou maior predominância nas amostras analisadas (57,9%), seguida respectivamente das bactérias *Leuconostoc mesenteroides* (26,4%), *Staphylococcus cohnii* (5,2%), *Staphylococcus capitis* (5,2%) e *Staphylococcus epidermidis* (5,2%). A seguir, na Figura 8, é representada a quantidade de bactérias identificadas segundo a espécie bacteriana.

Figura 8 – Distribuição das espécies bacterianas identificadas no presente estudo.

As bactérias identificadas no presente estudo resistentes à antissepsia apresentam como habitat natural a microbiota da pele do ser humano, apenas a bactéria da espécie *Leuconostoc mesenteroides* é mais comumente encontrada no meio ambiente, podendo colonizar a microbiota da pele do indivíduo acidentalmente (KONEMAN et al., 1994; BARROW; FELTHAM, 1993). Nesse sentido, as bactérias identificadas que resistiram a antissepsia podem ser encaminhadas para a bolsa de coleta do sangue no momento da punção venosa, visto que, a antissepsia não foi eficiente em inibir e/ou eliminar o crescimento desses microrganismos.

O desvio do primeiro volume de sangue coletado, constitui um estratégia adicional na eliminação de bactérias resistentes à antissepsia. Em um estudo realizado por Korte et al. (2006), em que foram avaliados os efeitos da antissepsia cutânea e o desvio do primeiro volume sanguíneo no momento da coleta na segurança transfusional, chegaram a conclusão que o desvio dos primeiros mililitros sanguíneos após a punção venosa constitui uma ferramenta importante na redução da contaminação bacteriana do hemocomponente coletado. Esse fato demonstra que,

nem sempre a resistência bacteriana após a antissepsia levará a contaminação do hemocomponente coletado, visto que, a estratégia do desvio dos primeiros mililitros sanguíneos reduz a taxa de contaminação microbiana por desviar, também, as bactérias que resistiram à antissepsia (KORTE et al., 2006).

As bactérias resistentes à antissepsia identificadas no presente estudo e que não são eliminadas com o desvio do primeiro volume coletado, podem causar graves infecções ao receptor da transfusão. Dentre as principais complicações destacam-se: endocardite, pneumonia, infecção do trato urinário e do Sistema Nervoso Central, entre outras infecções (KONEMAN et al., 1994). A seguir serão apresentadas as principais características dos microrganismos identificados que resistiram à antissepsia no presente estudo.

O *Staphylococcus hominis* é uma bactéria Gram-positiva, considerada como uma bactéria inofensiva comensal pertencente à microbiota da pele humana. Entretanto, como muitos outros estafilococos coagulase-negativo, o *Staphylococcus hominis*, ocasionalmente, pode ser um patógeno oportunista e causar infecção em indivíduos cujo sistema imunológico esteja comprometido (BARROW; FELTHAM, 1993).

As bactérias da espécie *Leuconostoc mesenteroides*, são cocos Gram-positivos, geralmente encontrados no meio ambiente, além de participarem na indústria no processo de fermentação de produtos lácteos. A microbiota da pele do homem pode ser colonizada por essa bactéria de maneira ocasional e/ou acidental, visto que essa bactéria está distribuída amplamente no meio ambiente, e assim como os *Staphylococcus hominis*, acidentalmente, podem se tornar um patógeno oportunista e causar graves infecções em indivíduos imunocomprometidos (KONEMAN et al., 1994; BARROW; FELTHAM, 1993).

O *Staphylococcus cohnii* é um coco Gram-positivo, catalase positivo, coagulase negativo, aeróbio que quando isolado de infecções em seres humanos apresenta um perfil de resistência aos antimicrobianos por apresentar plasmídios com genes de resistência. É um microrganismo componente da microbiota residente da pele de seres humanos e de outros primatas saudáveis podendo, também, em alguns casos ser encontrado no meio ambiente (BARROW; FELTHAM, 1993). Nos últimos anos, tem aparecido como importante agente causador de infecções hospitalares, sendo isolado principalmente em amostras de hemocultura de pacientes hospitalizados. Além disso, o *Staphylococcus cohnii* pode estar envolvido

em casos de endocardite, pneumonia e infecção do trato urinário. Existem atualmente duas subespécies descritas na literatura, o *Staphylococcus cohnii* spp *cohnii* e *Staphylococcus cohnii* spp *urealyticus* (D'AZEVEDO et al., 2008).

As bactérias *Staphylococcus capitis*, são coagulase negativos e fazem parte da microbiota da pele do ser humano e podem se tornar um patógeno oportunista principalmente em indivíduos imunossuprimidos. Já houve relatos na literatura de associações desse patógeno com quadros de sepse tardia em neonatos baixo peso ao nascer e, também, em endocardite em valva protética em indivíduos adultos. Existe um relato de caso de um indivíduo com lesão no couro cabeludo que desenvolveu endocardite infecciosa por *Staphylococcus capitis*, tendo como porta de entrada do microrganismo através de uma lesão da pele (D'MELLO et al., 2008; PAULA; SILVA; BERRIEL, 2009).

Os *Staphylococcus epidermidis* são bactérias Gram-positivas, pertencentes à microbiota da pele e mucosa humana e durante a última década têm surgido na prática clínica, como uma importante causa de infecções nosocomiais em indivíduos hospitalizados. As infecções no indivíduo, estão principalmente associadas a cateteres venosos e centrais de longa permanência, sondas urinárias, bem como próteses implantadas, devida sua alta capacidade de formar biofilmes. Os biofilmes dificultam a ação de drogas antimicrobianas e até mesmo das células do sistema imunológico fagocitárias em chegarem ao foco de infecção o que pode levar a quadros graves de infecção e de sepse (FREBOURG et al., 2000).

Após revisão da literatura, percebe-se que alguns estudos (LEE et al., 2002; MCDONALD et al., 2004; KORTE et al., 2002) que objetivaram estudar o efeito do desvio do primeiro volume sanguíneo e sua relação com a taxa de contaminação microbiana dos hemocomponentes, realizaram a identificação bacteriana a partir de amostras de hemocultura coletadas do desvio do primeiro volume sanguíneo, sem fazê-lo diretamente da pele do doador após a antisepsia. Entretanto, outros estudos (RAMIREZ-ARCOS; GOLDMAN, 2010; CID et al., 2003), em menor número, realizaram a identificação bacteriana a partir de amostras de swabs coletados após a antisepsia cutânea, como a técnica de coleta realizada no atual estudo. A diferença na maneira de coleta das amostras deve ser considerada como um ponto importante na discussão dos resultados. As amostras de hemocultura, geralmente, apresentam bactérias provenientes tanto da microbiota da epiderme quanto da derme, já as

amostras de swabs coletados da pele refletem somente as bactérias resistentes a antissepsia presentes na microbiota da epiderme da pele.

Até o momento, foram encontrados poucos estudos que identificaram as espécies bacterianas a partir de amostras de swabs coletados da microbiota da pele do doador após a antissepsia. As principais espécies bacterianas identificadas pelos autores foram *Bacillus lentus*, *Bacillus circulans*, *Micrococcus* sp., *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus* sp., *Acinetobacterium* e *Staphylococcus* sp., entretanto não foi reportado a espécie do gênero *Staphylococcus* (RAMIREZ-ARCOS; GOLDMAN, 2010; CID et al., 2003). Dentre as bactérias identificadas, a única bactéria encontrada no presente estudo foi o *Staphylococcus epidermidis*. Esse fato demonstra a diversidade de espécies bacterianas que podem ser resistentes a antissepsia dependendo da técnica de antissepsia implementada, do produto antisséptico e da concentração utilizada.

Considerando o contexto do Hemocentro de Ribeirão Preto, no ano de 2007 foram notificados 03 casos de contaminação bacteriana de hemocomponentes a partir de amostras de hemocultura. Os hemocomponentes contaminados foram: concentrado de plaqueta coletada por aférese e concentrado de hemácia. Em ambos os produtos a técnica de antissepsia utilizada foi a Técnica com PVPI a 10%, visto que os doadores não eram alérgicos ao iodo. As bactérias apresentavam-se como bacilo Gram-positivo não esporulado e coco Gram-positivo. Dentre os casos de contaminação, apenas uma bactéria foi identificada como *Staphylococcus hominis* (HEMOCENTRO, 2010). A mesma bactéria foi identificada no presente estudo por ser resistente às técnicas de antissepsia utilizadas. O *Staphylococcus hominis* presente na microbiota da pele e não eliminado com a antissepsia e, também, com o desvio do primeiro volume sanguíneo, pode ser capaz de provocar graves infecções em receptores sanguíneos (BARROW; FELTHAM, 1993).

Mais recentemente, entre os anos de 2008 e 2009, ocorreram 18 contaminações de hemocomponentes notificados decorrentes de bactérias oriundas da microbiota da pele do doador de sangue a partir de amostras de hemocultura coletadas pelo Hemocentro de Ribeirão Preto. Todos os hemocomponentes contaminados foram concentrados de plaquetas, apenas um caso, em 2008, foi de concentrado de hemácias. Observou-se que, a maior predominância de contaminações notificadas pelo Hemocentro de Ribeirão Preto, nesse período, foi pelo microrganismo *Propionibacterium acnes* (HEMOCENTRO, 2010). O

Propionibacterium acnes alimenta-se da secreção produzida pelas glândulas sebáceas e, também, são comumente encontrados nos folículos pilosos da pele dos seres humanos sendo removidos apenas através da descamação celular natural do indivíduo, ou seja, a contaminação de hemocomponentes por esse microorganismo pode não estar associada com a técnica de antissepsia.

Nesse sentido, de acordo com as notificações realizadas pelo Hemocentro de Ribeirão Preto em relação aos casos de contaminação bacteriana de hemocomponentes, acredita-se que, os principais casos são decorrentes de bactérias oriundas da microbiota da camada da derme do braço do doador. Esse fato poderia ser justificado, devido a grande maioria das bactérias notificadas pelo Hemocentro de Ribeirão Preto serem diferentes daquelas encontradas pelo presente estudo. Os achados sugerem que as bactérias resistentes às técnicas de antissepsia implementadas no Hemocentro de Ribeirão Preto podem estar sendo eliminadas com o desvio do primeiro volume de sangue coletado. Para maiores evidências, são necessários novos estudos no ramo da microbiologia a fim de se verificar por completo qual a real incidência da contaminação microbiana nos hemocomponentes coletados pelo Hemocentro de Ribeirão Preto.

Portanto, a identificação de bactérias resistentes a antissepsia cutânea constitui um caminho importante na prevenção da contaminação bacteriana de hemocomponentes, possibilitando a distinção da espécie bacteriana que possivelmente poderá estar associada com a contaminação do hemocomponente coletado. Além disso, as combinações de uma técnica de antissepsia de qualidade somada à estratégia de desvio do primeiro volume coletado constituem excelentes medidas de controle da contaminação dos hemocomponentes, quando utilizadas de maneira combinada são capazes de reduzir em 77% os casos de contaminação bacteriana (MCDONALD et al., 2004).

De um modo geral, apesar da evolução científica no ramo da medicina transfusional, ainda torna-se imprescindível o controle microbiológico dos hemocomponentes coletados nos serviços de hemoterapia, bem como, a validação das técnicas de antissepsia utilizadas pelos mesmos. Estudos que visam estabelecer o percentual de redução microbiana da técnica de antissepsia utilizada, a real taxa de contaminações dos hemocomponentes coletados e os principais microrganismos responsáveis por essas contaminações, constituem uma ferramenta importante no ramo da hemoterapia.

Por fim, os resultados desse estudo sugerem algumas respostas para a prática da antissepsia realizada no Hemocentro de Ribeirão Preto, que até o momento não havia sido validada. As técnicas analisadas apresentaram percentual de redução microbiana elevado, entretanto, alguns microorganismos sobreviveram a antissepsia. Novas técnicas de antissepsia foram relatadas na literatura recentemente com percentual de redução microbiana superior aos valores encontrados no presente estudo. Espera-se que os resultados encontrados e a discussão abordada na presente dissertação contribuam para mudanças futuras em melhorias na prática da antissepsia de braço de doadores de sangue do Hemocentro de Ribeirão Preto e em outros serviços de hemoterapia.

7. Conclusões

Ao comparar duas técnicas de antissepsia cutânea utilizadas em doadores de sangue, foi possível concluir a partir do presente estudo:

1. A Técnica com PVPI a 10% em ambos os meios cultura utilizados, apresentou maior redução microbiana que a Técnica com clorexidina a 0,5%. O percentual médio de redução microbiana na Técnica com PVPI a 10% foi de 98,57% no meio de cultura Ágar Sangue, 98,87% no meio de cultura Ágar Manitol Salgado e 100% no meio de cultura Mac Conkey. Já para a Técnica com clorexidina a 0,5% o percentual médio de redução microbiana foi de 94,38% no meio de cultura Ágar Sangue, 95,06% no meio de cultura Ágar Manitol Salgado e 100% no meio de cultura Mac Conkey.
2. Os doadores participantes do estudo eram em sua maioria sujeitos do sexo masculino, que apresentavam doações esporádicas e com idade entre 18 a 49 anos. Não houve relações estatisticamente significantes entre as características analisadas do doador com aumento e/ou diminuição do percentual de redução microbiana. Isso significa que, no presente estudo o fato do doador de sangue ser do sexo masculino ou feminino; ser doador de primeira vez, esporádico ou de repetição e ser jovem ou apresentar idade avançada, não interferiu no percentual da redução microbiana.
3. Foram identificadas 05 espécies bacterianas persistentes a antissepsia, sendo elas: *Staphylococcus hominis* que apresentou maior predominância nas amostras analisadas com 60%, seguido respectivamente das bactérias *Leuconostoc mesenteroides* (25%), *Staphylococcus cohnii* (5%), *Staphylococcus capitis* (5%) e *Staphylococcus epidermidis* (5%). As bactérias identificadas como resistentes à antissepsia apresentam como habitat natural a microbiota da pele, sendo inofensivas ao ser humano saudável em seu habitat natural, apenas a bactéria *Leuconostoc mesenteroides* é mais comumente encontrada no ambiente, podendo colonizar a microbiota da pele do indivíduo acidentalmente. As bactérias resistentes a antissepsia podem contaminar a bolsa de sangue no momento da punção venosa e causar quadros infecciosos principalmente em indivíduos imunocomprometidos.

Nos dias atuais, apesar da evolução científica e tecnológica no ramo da medicina transfusional, ainda torna-se imprescindível e necessária a doação de

sangue realizada de maneira consciente e responsável por parte do doador. Quanto ao governo cabe a efetivação de políticas públicas voltadas à doação de sangue a fim de facilitar o suprimento dos estoques e de contribuir, principalmente, para a melhoria da qualidade do sangue a ser transfundido. Somado a esse fato, acredita-se que os serviços de hemoterapia que realizem uma eficaz antissepsia no momento da doação de sangue, capaz de reduzir e/ou inibir o crescimento microbiano, contribuem para aumentar a qualidade do sangue coletado nos serviços de hemoterapia (PEREIME, 2007).

Assim, é de grande valia o desenvolvimento de novos estudos que permitam ampliar as evidências científicas sobre essa temática. Pode se concluir que não existe técnica de antissepsia cutânea capaz de eliminar todos os microrganismos da microbiota da pele, visto que o braço do doador nunca será estéril. Entretanto, a investigação da atividade antimicrobiana de outros métodos de antissepsia cutânea em doadores de sangue, bem como, avaliar o real efeito das estratégias adicionais implementadas nos primeiros passos da doação contra a contaminação microbiana, constituem um avanço para a segurança transfusional do receptor.

8. Referências Bibliográficas

ALMEIDA NETO, C. **Perfil epidemiológico de doadores de sangue com diagnóstico sorológico de sífilis e HIV**. 2007. 113 f. Dissertação (Doutorado em Hematologia) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

AMERICAN ASSOCIATION OF BLOOD BANKS - AABB. **Terapêutica Transfusional Manual para médicos**. 3 ed. Bethesda: Copyright, p. 141, 2002.

_____. **Blood Collection, Component Preparation, and Storage**. AABB Technical Manual, Methods section 6, p. 941-961, 2008.

_____. **Bacterial Contamination of Platelets: Summary for Clinicians on Potential Management Issues Related to Transfusion Recipients and Blood Donors**. 2005. Disponível em: http://www.aabb.org/Content/News_and_Media/Topics_of_Interest/. Acesso em 07 de fevereiro de 2010.

ANDERSON, K.C. et al. Transfusion-related sepsis after prolonged platelet storage. **The American Journal of Medicine**, Arizona, v. 81, n. 3, p. 405-411, set. 1986.

ANDREU, G. et al. Hemovigilance network in France: organization and analysis of immediate transfusion incident reports from 1994 to 1998. **Transfusion**, Baltimore, v. 42, p. 1356-64, 2002.

AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Higienização das mãos em serviços de saúde – ANVISA**. Brasília, DF, 2007, 52 p.

ARCOS, S.R; GOLDMAN, M. Skin disinfection methods: prospective evaluation and postimplementation results. **Transfusion**, Baltimore, v.50, n.1, p.59-64, 2010.

BARBIN, E.L. **Análise química da clorexidina misturada ou não ao hidróxido de cálcio**. 2008. 116 p. Dissertação (Doutorado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

BARRETO, J. A. et al. **Manual de uso de hemocomponentes, hemoderivados e reações transfusionais**. 5ª ed. São Paulo: Diretoria da Colsan/ Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). 2009. 78p.

BARROW, G.I.; FELTHAM, R. K. A. Characters of Gram positive bacteria. In: _____. **Cowan S.T. and Steel's K.J. Manual for identification of medical bacteria**. 3rd ed. Great Britain: Cambridge University Press, 1993. cap. 6, 176 p.

BENJAMIN, R. J. et al. Skin disinfection with a single-step 2% chlorhexidine swab is more effective than a two-step povidone-iodine method in preventing bacterial contamination of apheresis platelets. **Transfusion**, Baltimore, v.50, n.1, p. 1537-2995, 2010.

BLAJCHMAN, M.A. Incidence and significance of the bacterial contamination of blood components. **Developmental Biology** (Basel), New York, n. 108, p. 59-67, 2002.

BORDEN, C.W; HALL, W.H. Fatal Transfusion Reactions train Massive Bacterial Contamination of Blood. In: FONSECA, L.G. **Contribuição para o estudo da avaliação de quatro agentes anti-septicos cutâneos em doadores de sangue no Hemocentro da Santa Casa de São Paulo**. 2006. 80f. Dissertação (Mestrado em Hematologia) – Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2006.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada nº 153, de 14 de junho de 2004. Determina o regulamento técnico para procedimentos hemoterápicos, incluindo a coleta, o processamento, a testagem, o armazenamento, o transporte, o controle de qualidade do sangue e o uso humano do sangue, e seus componentes obtidos do sangue venoso, do cordão umbilical, da placenta e da medula óssea. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 24 jun. 2004. Seção 1, p. 68-80.

_____. Lei nº 1.075, de 27 de março de 1950. Dispõe sobre a doação voluntária de sangue **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 12 abr. 1950. Seção 1, p. 5425.

_____. Lei nº 4.701, de 28 de junho de 1965. Dispõe sobre o exercício da atividade hemoterápica no Brasil e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 01 jul. 1965. Seção 1, p.6113-4.

_____. Portaria nº 1376, de 19 de novembro de 1993. Aprova normas técnicas para coleta, processamento de sangue, componentes e derivados. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 02 dez. 1993. Seção 1, p. 18.405-415.

_____. Portaria nº 121, de 24 de novembro de 1995. Normas gerais de garantia na qualidade em unidades hemoterápicas. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 nov. 1995. Seção 1, p.197-83.

_____. Portaria nº 15, de 23 de agosto de 1988. Determina que o registro de produtos saneantes domissanitários com finalidade antimicrobiana seja procedido de acordo com as normas regulamentares. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 05 set. 1988. Seção 1, p. 17041- 3.

_____. Portaria nº 2.616, de 12 de maio de 1998. Dispõe sobre a obrigatoriedade da manutenção pelos hospitais do país, de programa de controle de infecções hospitalares. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 13 maio 1998. Seção 1, p. 2231-43.

BRECHER, M.E., HAY, N.S. Bacterial Contamination of Blood Components. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 18, n. 1, p. 195-2004, jan. 2005.

BUENO, J.L. Skin disinfection and bacterial contamination of blood components: be simple. **Transfusion**, Baltimore, v. 50, n.1, p. 5-8, jan. 2010. Editorial.

BURNS, K.H., WERCH, J.B. Bacterial contamination of platelet units: a case report and literature survey with review of upcoming American Association of Blood Banks requirements. **Archives of Pathology Laboratory Medicine**, Northfield, v. 128, p. 279-281. mar. 2004.

CABTREE, T.D., PELLETIER, S.J., PRUETT. Surgical Antisepsis. In: BLOCK, S.S. **Disinfection, Sterilization, and Preservation**. 5 ed. Philadelphia: Lippincott Williams e Wilkins, 2001. cap. 44, p. 919-934.

CARRAZZONE, C. F. V.; BRITO, A. M. de; GOMES, Y. M.. Importância da avaliação sorológica pré-transfusional em receptores de sangue. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São José do Rio Preto, v. 26, n. 2, p. 93-98, 2004.

CARDOSO, S.R et al. Anti-sepsia para administração de medicamentos por via endovenosa e intramuscular. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, Goiania, v. 8, n. 1, p. 75-82, 2006.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Guideline for hand hygiene in health-care settings. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, Atlanta, v.51, n. RR-16, oct. 2002.

CID, J. et al. Bacterial persistence on blood donors' arms after phlebotomy site preparation: analysis of risk factors. **Haematologica**, Pavia, v. 88, n.7, p. 839-840, 2003.

CONSELHO FEDERAL DE ENFERMAGEM. **Resolução nº 306, 25 abr. de 2006.** Normatiza a atuação do Enfermeiro em Hemoterapia. Disponível em: <http://www.sbh.com.br/home/resolucaoCOFEN.pdf>. Acesso em 12 de janeiro de 2011.

CRUZ, E.D.A. ***Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina em trabalhadores de um hospital universitário: colonização e crenças em saúde.** 2008. 189f. Dissertação (Doutorado em Enfermagem) – Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

D'AZEVEDO, P. A. et al. *Staphylococcus cohnii* spp *urealyticus*: relato de caso de um patógeno incomum. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 41, n. 02, Apr. 2008.

DENTON, G.W. Chlorhexidine. In: BLOCK, S.S. **Disinfection, Sterilization, and Preservation.** 5 ed. Philadelphia: Lippincott Williams e Wilkins, 2001. cap. 15, p. 321-335.

DEPCIK-SMITH, N.D.; HAY, S.N.; BRECHER, M.E. Bacterial Contamination of Blood Products: Factors, Options, and Insights. **Journal of Clinical Apheresis**, Massachusetts, v. 16, p. 192-201, set. 2001.

D' MELLO, D. et al. Vancomycin Heteroresistance in Bloodstream Isolates of *Staphylococcus capitis*. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 46, n. 9, p. 3124-3126, Sep. 2008.

DUMONT, L.J. et al. Screening of single-donor apheresis platelets for bacterial contamination: the passport study results. **Transfusion**, Baltimore, v. 50, p. 589 - 599, 2010.

FERREIRA, O. **Estudo de doadores de sangue com sorologia reagente para hepatites B e C, HIV e Sífilis no Hemocentro de Ribeirão Preto.** 2007. 123 f. Dissertação (Mestrado em Saúde na Comunidade) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2007.

FREBOURG, N. B. et al. PCR - Based Assay for Discrimination between Invasive and Contaminating *Staphylococcus epidermidis* Strains. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 38, n. 2, p.877-880, feb. 2000.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Options form Arm Preparation**: Center for Biologics Evaluation and Reserch – FDA. Silver Spring: 2004. Disponível em: www.fda.gov/cber/blood/armpreprev.htm. Acesso em 29 jun. 2004.

FONSECA, L.G., et al. Avaliação da antissepsia cutânea por quatro métodos em doadores de sangue. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v. 31, n.1, p. 5-8, fev. 2009.

FONSECA, L.G. **Contribuição para o estudo da avaliação de quatro agentes anti-septicos cutâneos em doadores de sangue no Hemocentro da Santa Casa de São Paulo**. 2006. 80f. Dissertação (Mestrado em Hematologia) – Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2006.

GARCIA-ERCE, J.A. et al. Bacterial contamination of blood components due to Burkhoderia cepaia contamination from clorhexidine bottles. **Vox Sanguinis**, Vienna, v. 83, n.3, p 70-71, 2002. Carta.

GOLDMAN, M; BLAJCHMAN, M.A. Blood product-associated bacterial sepsis. **Transfusion Medicine Reviews**, Montreal, v. 5, p. 73-83, 1991.

GOTTARDI, W. Iodine and Iodine Compounds. In: BLOCK, S.S. **Disinfection, Sterilization, and Preservation**. 5 ed. Philadelphia: Lippincott Williams e Wilkins, 2001. cap. 08, p. 159-184.

GOETZ, A; MUDER, R.P. *Pseudomonas aeruginosas* infections associated with use of povidone-iodine in patients receiving contínuos ambulatory peritoneal dialysis. In: PADOVANI, C.M. **Avaliação microbiológica das diferentes formulações anti-sépticas – polivilipirrolidona e clorexidina – após contaminação intencional das almotolias**. 2008. 69 f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem em Saúde do Adulto) – Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

GRAZIANO, K.U; SILVA, A.; BIANCHI, E.R.F. Limpeza, desinfecção, esterilização de artigos e anti-sepsia. In: PADOVANI, C.M. **Avaliação microbiológica das diferentes formulações anti-sépticas – polivilipirrolidona e clorexidina – após contaminação intencional das almotolias**. 2008. 69 f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem em Saúde do Adulto) – Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

HEMOCENTRO DE RIBEIRÃO PRETO. **Relatórios Internos de Movimento de Período**. Ribeirão Preto: Centro Regional de Hemoterapia do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto/ USP, 2010.

HILLYER, C.D. et al. Bacterial contamination of blood components: risks, strategies and regulation: Joint ASH and AAB Educational Session in Transfusion Medicine. **Hematology**: American Society Hematology Education Program Book, Washington, p. 575-89, jan. 2003.

JAFARI, M. Salmonella sepsis caused by a platelet transfusion from a donor with a pet snake. **The New England Journal of Medicine**., Massachusetts, v. 347, n.14, p. 1075-1078, 2002.

JUNQUEIRA, C.P.; ROSENBLIT, J.; HAMERSCHLAK, N. História da Hemoterapia no Brasil. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, Rio de Janeiro, v. 3, n. 27, p. 201-207, 2005.

KOONEMAN, E.W. et al. Cocos Gram positives. In: _____. **Introduction to diagnostic microbiology**. 1 ed. Washington: Philadelphia, 1994. p. 527.

KORTE, D. et al. Effects of skin disinfection method, deviation bag, and bacterial screening on clinical safety of platelet transfusions in Netherlands. **Transfusion**, Baltimore v. 46, p. 476-485, mar. 2006.

KUEHNERT, M.J. et al. Transfusion-transmitted bacterial infection in the United States, 1998 through 2000. **Transfusion**, Baltimore, v. 41, n. 12, p. 1493-9, 2001.

LARSON, E. Skin hygiene and infection prevention: more of the same or different approaches?. **Clinical Infectious Diseases**, Oxford, v.29, p.1287-94, 1999.

LEE, C.K. et al. Impact of donor arm skin disinfection on the bacterial contamination rate of platelet concentrates. **Vox Sanguinis**, Vienna, v. 83, n.3, p.204-208, 2002.

MARRIE, T.J; COSTERTON, W. Prolonged survival of *Serratia marcescens* in chlorhexidine. In: PADOVANI, C.M. **Avaliação microbiológica das diferentes formulações anti-sépticas – polivilipirrolidona e clorexidina – após contaminação intencional das almotolias**. 2008. 69 f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem em Saúde do Adulto) – Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

MCDONALD, C.P. Bacterial risk reduction by improved donor arm disinfection, diversion and bacterial screening. **Transfusion**, Baltimore, v. 16, n. 6, p. 381-396, 2006.

MCDONALD, C.P. et al. Relative values of the interventions of diversion and improved donor-arm disinfection to reduce the bacterial risk from blood transfusion. **Vox Sanguinis**, Vienna, v. 86, n. 3, p.178-182, abr. 2004.

MCDONALD, C.P. et al. Evaluation of donor arm disinfection techniques. **Vox Sanguinis**, Vienna, v. 80, n. 3, p.135-141, abr. 2001.

MCDONALD, C.P. et al. A novel rapid and effective donor arm disinfection method. **Transfusion**, Baltimore, v. 50, n.1, p.53-58, 2010.

MCDONNELL, G; RUSSELL, A. D. Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, , Washington, v. 12, n. 1, p. 147-179, jan 1999.

MOREL, P. et al. 2000. Transfusion sanguine et risqué bactérien. In: NASCIMENTO, F. **Contaminação bacteriana nos componentes do sangue algumas medidas preventivas**. Revista de Medicina Transfusional ABO, Lisboa, n. 10, jun. 2002.

MURPHY, M.F; STANWORTH, S.J; YAZER, M.Et. Transfusion practice and safety: current status and possibilities for improvement. **Vox Sanguinis**, Vienna, v. 100, n.1, p. 46-59, jan. 2011.

NASCIMENTO, F. Contaminação bacteriana nos componentes do sangue algumas medidas preventivas. **ABO Revista de Medicina Transfusional**, Lisboa, n. 10, p. 21-28, jun. 2002.

NESS, P. et al. Single-donor platelets reduce the risk of septic platelet transfusion reactions. **Transfusion**, Baltimore, v. 41, p. 857-861, jul. de 2001.

OLIVEIRA, L.C.O; COZAC, A.P.C.N.C. Reações transfusionais: diagnóstico e tratamento. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 36, p. 431-438, abr/dez. 2003.

PADOVANI, C.M. **Avaliação microbiológica das diferentes formulações anti-sépticas – polivilipirrolidona e clorexidina – após contaminação intencional das almotolias**. 2008. 69 f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem em Saúde do

Adulto) – Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

PADOVANI, C.M.; GRAZIANO, K. U.; GOVEIA, V. R. Avaliação microbiológica das diferentes formulações anti-sépticas, polivinilpirrolidona-iodo e clorexidina, após contaminação intencional das almotolias. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, Ribeirão Preto, v. 16, n. 6, dec. 2008.

PAULA, F.J. et al. A educação continuada em enfermagem norteando a prática em hemoterapia: uma busca constante pela qualidade. **Revista Prática Hospitalar**, São Paulo, n. 51, ano IX, p. 125-131, 2007.

PAULA, T. A.; SILVA, P. S. L.; BERRIEL, L. G. S. Endocardite infecciosa por *staphylococcus capitis* em valva nativa – Relato de caso. **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, São Paulo, v. 7, p. 438-439, 2009.

PEREIRA, R. S. M. R. et al. Projeto Escola do Centro de Hematologia e Hemoterapia de Santa Catarina: Uma Estratégia de Política Pública. **Texto e contexto Enfermagem**, Florianópolis, v. 16, n. 3, p. 546-552, 2007.

PEREIRA, M. G. Métodos Empregados em Epidemiologia. In: _____. **Epidemiologia Teoria e Prática**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. cap.12, p.269-288.

PEREZ, P. et al. Multivariate analysis of determinantes of bacterial contamination of whole-blood donations. **Vox Sanguinis**, Vienna, v. 82, n. 3, p.55-60, 2002.

RAMIREZ-ARCOS, S.; GOLDMAN, M. Skin disinfection methods: prospective evaluation and postimplementation results. **Transfusion**, Baltimore, v. 50, n.1, p.59-64, jan. 2010.

RUTALA, W.A. Guideline for selection and use of disinfectants. **American Journal of Infect Control**, New York, v. 24, n. 4, p. 313-35, 1996.

SANT'ANNA, G.R et al. **Cariologia - diagnóstico, controle e tratamento**. São Paulo: Editora Santos; 72p. 2001. [Caderno de Odontopediatria].

SEIFRIED, E. et al. How much blood is needed?. *Vox sanguinis*, Vienna, v. 100, n.1, p.10-21, jan. 2011.

SERINOLLI, M.I. Evolução da medicina transfusional no Brasil e no mundo. **Revista Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v. 5, n.1, p.16-36, 1999.

STAINBY, D. et al. Serious hazards of transfusion. In: ALMEIDA NETO, C. de. Avaliação da eficácia dos métodos de desinfecção cutânea em doadores de sangue: uma etapa relevante na segurança transfusional. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v. 31, n. 1, feb. 2009.

SERIOUS HAZARDS OF TRANSFUSION. **Shot's Terms of Reference**. Disponível online em: <http://www.shotuk.org/terms-of-reference>. Acesso em 07 de fev. de 2010.

TRABULSI, L.R.; SAMPAIO, M.C. Microbiota ou Flora Normal do Corpo Humano. In: TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 4 ed. São Paulo: Atheneu, 2005. cap.12. p. 101-109.

VERÍSSIMO, M.P.; PEREIRA, F.B. Terapia Transfusional. **Revista Prática Hospitalar**, São Paulo, ano VIII, n. 48, p.44-50, nov./dez. 2006.

WENK-WALTHER, G. Incidence of bacterial transmission and transfusion reactions by blood components. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**., New Jersey, v. 46, n. 7, p.919-925, abr. 2008.

WILLIAMSON, L.M. et al. **Serious Hazards of Transfusion - Annual Report 1996-1997**. Manchester: mar. 1998. Disponível em: <http://www.shotuk.org/SHOT%20Report%2096-97.pdf>. Acesso em: 13 de jan. 2011.

WONG, P.Y et al. Validation and assessment of a blood-donor arm disinfectant containing chlorhexidine and alcohol. **Transfusion**, Baltimore, v. 44, p. 1238-1242, aug. 2004.

YOMTOVIAN, R. Bacterial contamination of blood: lessons from the past and road map for the future. **Transfusion**, Baltimore, v. 44, p. 450 - 460, mar. 2004.

ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**. 4ª ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, USA. 1999. 580 p.

Apêndices

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O Sr (a) está sendo convidado (a) a participar, como voluntário (a), da pesquisa: “Determinação da atividade antimicrobiana de duas técnicas de antisepsia cutânea utilizadas em doadores de sangue”, que tem por finalidade analisar qual o melhor método de limpeza do braço do doador para a coleta da bolsa de sangue.

Sua participação nesse estudo consistirá em responder um questionário relativo a seus dados pessoais (sexo, profissão e local de trabalho, escolaridade, idade e número de doações anteriores caso presente); assim como permitir a limpeza de seus dois braços (um braço utilizaremos o “íodo” e no outro a “clorexidina”) e com a passagem de dois cotonetes estéreis com algodão na extremidade em cada um de seu braço sendo um cotonete antes e um cotonete após a limpeza do seu braço.

A participação nesta pesquisa não traz complicações legais e não interferirá em nenhum momento na qualidade do seu sangue coletado; não lhe trará nenhum prejuízo. A qualquer momento o Sr (a) poderá pedir esclarecimentos sobre o andamento e os resultados do estudo, os quais serão utilizados somente para fins acadêmicos e para publicações em meios científicos, respeitando sempre o sigilo das informações e o seu anonimato; sua participação não lhe trará nenhum benefício direto, no entanto, esperamos que este estudo colabore para melhorar o nosso serviço. Nada será pago por sua participação a qual poderá ser interrompida em qualquer fase da pesquisa sem penalização ou prejuízo para a sua pessoa, caso assim decida, basta entrar em contato comigo, Marina Smidt Celere (Enfermeira e aluna de Mestrado), por meio do endereço e telefones constantes na parte final deste termo. Após estes esclarecimentos, solicitamos seu consentimento para participação nessa pesquisa. Este termo será assinado em duas cópias, assegurando-lhe o direito de receber uma delas assinada.

Consentimento Livre e Esclarecido

Tendo em vista os itens acima apresentados, eu _____, portador do RG _____, de forma livre e esclarecida, concordo e manifesto meu consentimento em participar desta pesquisa.

Assinatura do Participante

Assinatura da pesquisadora
Marina Smidt Celere*

* 1. Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo Laboratório de Pesquisa em Ecotoxicologia e Parasitologia Ambiental, 3900 - Campus Universitário USP, Monte Alegre – Ribeirão Preto / Tel.: **(16) 3602-0530 (Laboratório)**.

* 2. Hemocentro de Ribeirão Preto Campus Universitário USP, 2501 Monte Alegre – Ribeirão Preto / Tel.: **(16) 2101-9349 (Local de trabalho)**.

APÊNDICE B – ROTEIRO PARA A COLETA DE DADOS DOS DOADORES DE SANGUE

[illegible]

Anexos

ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA EERP/USP

Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo
Centro Colaborador da Organização Mundial da Saúde para
o Desenvolvimento da Pesquisa em Enfermagem

Avenida Bandeirantes, 3900 - Campus Universitário - Ribeirão Preto - CEP 14040-902 - São Paulo - Brasil
FAX: (55) - 16 - 3633-3271 / TELEFONE: (55) - 16 - 3602-3382

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA EERP/USP

Of.CEP-EERP/USP – 257/2009

Ribeirão Preto, 17 de novembro de 2009

Prezada Senhora,

Comunicamos que o projeto de pesquisa, abaixo especificado, foi analisado e considerado **APROVADO AD REFERENDUM** pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, em 13 de novembro de 2009.

Protocolo: nº 1091/2009

Projeto: AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE DOIS MÉTODOS DE ANTISSEPÇÃO CUTÂNEA EM DOADORES DE SANGUE DO HEMOCENTRO DE RIBEIRÃO PRETO.

Pesquisadores: Susana Inés Segura Muñoz
Marina Smidt Celere

Em atendimento à Resolução 196/96, deverá ser encaminhado ao CEP o relatório final da pesquisa e a publicação de seus resultados, para acompanhamento, bem como comunicada qualquer intercorrência ou a sua interrupção.

Atenciosamente,

Profª Drª Lucila Castanheira Nascimento
Coordenadora do CEP-EERP/USP

Ilma. Sra.

Profª. Drª. Susana Inés Segura Muñoz

Departamento de Enfermagem Materno-Infantil e Saúde Pública
Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto - USP

ANEXO B - TESTES ESTATÍSTICOS

1)

t test Tabular results		A.S
1	Table Analyzed	Diferença entre redução Iodo e Clorexidina
2	Column A	IODO
3	vs	vs
4	Column B	CLOREXIDINA
5		
6	Mann Whitney test	
7	P value	0.0125
8	Exact or approximate P value?	Gaussian Approximation
9	P value summary	*
10	Are medians signif. different? (P < 0.05)	Yes
11	One- or two-tailed P value?	Two-tailed
12	Sum of ranks in column A,B	2851 , 2200
13	Mann-Whitney U	924.5

2)

t test Tabular results		A.M.S
1	Table Analyzed	Diferença entre redução Iodo e Clorexidina
2	Column A	IODO
3	vs	vs
4	Column B	CLOREXIDINA
5		
6	Mann Whitney test	
7	P value	0.0191
8	Exact or approximate P value?	Gaussian Approximation
9	P value summary	*
10	Are medians signif. different? (P < 0.05)	Yes
11	One- or two-tailed P value?	Two-tailed
12	Sum of ranks in column A,B	2704 , 2148
13	Mann-Whitney U	922.5

3)

Correlações pzm MW Sexo AS t: Tabular results - Fri Dec 17 16:10:02 2010	
X Labels	A
Par. Estatísticos	MW Sexo AS I
X	Y
1 Par. Estatísticos	Dados por sexo Columns A and B
2	
3 Mann Whitney test	
4 P value	0.5388
5 Exact or approximate P value?	Gaussian Approximation
6 P value summary	ns
7 Are medians signif. different? (P < 0.05)	No
8 One- or two-tailed P value?	Two-tailed
9 Sum of ranks in column A,B	796 , 479
10 Mann-Whitney U	269.0

4)

Correlações pz:m:MW Sexo MS : Tabular results - Fri Dec 17 16:13:31 2010

X Labels		A
Par. Estatísticos		MW Sexo AMS Iodo
X		Y
1	Table Analyzed	Dados por sexo Columns E and F
2		
3	Mann Whitney test	
4	P value	0.7840
5	Exact or approximate P value?	Gaussian Approximation
6	P value summary	ns
7	Are medians signif. different? (P < 0.05)	No
8	One- or two-tailed P value?	Two-tailed
9	Sum of ranks in column E,F	779 , 496
10	Mann-Whitney U	285.0

5)

Correlações pz:m:MW Sexo AS Clo: Tabular results - Fri Dec 17 16:12:09 2010

X Labels		A
Par. Estatísticos		MW Sexo AS Clo
X		Y
1	Table Analyzed	Dados por sexo Columns C and D
2		
3	Mann Whitney test	
4	P value	0.6262
5	Exact or approximate P value?	Gaussian Approximation
6	P value summary	ns
7	Are medians signif. different? (P < 0.05)	No
8	One- or two-tailed P value?	Two-tailed
9	Sum of ranks in column C,D	790 , 485
10	Mann-Whitney U	275.0

6)

Correlações pz:m:MW Sexo MS Clo: Tabular results - Fri Dec 17 16:14:16 2010

X Labels		A
Par. Estatísticos		MW Sexo AMS Clo
X		Y
1	Table Analyzed	Dados por sexo Columns G and H
2		
3	Mann Whitney test	
4	P value	0.7342
5	Exact or approximate P value?	Gaussian Approximation
6	P value summary	ns
7	Are medians signif. different? (P < 0.05)	No
8	One- or two-tailed P value?	Two-tailed
9	Sum of ranks in column G,H	782.5 , 492.5
10	Mann-Whitney U	282.5

7)

Correlações.pzm: Correlation ND-%R: Tabular results - Fri Dec 17 16:05:07 2010

X Labels		A	B	C	D	
Número Doações -% R		AS-Iodo	AS-Clorex	AMS-Iodo	AMS-Clorex	
X		Y	Y	Y	Y	
1	Number of XY Pairs	50	50	50	1	50
2	Pearson r	0.01361	-0.2132	0.1157	2	-0.1378
3	95% confidence interval	-0.2658 to 0.2909	-0.4641 to 0.06933	-0.1681 to 0.3818	3	-0.4008 to 0.1462
4	P value (two-tailed)	0.9252	0.1371	0.4237	4	0.3399
5	P value summary	ns	ns	ns	5	ns
6	Is the correlation significant? (alpha=0.05)	No	No	No	6	No
7	R squared	0.0001853	0.04545	0.01338	7	0.01899

8)

Correlações.pzm: Correlation I-%R: Tabular results - Fri Dec 17 16:02:21 2010

X Labels		A	B	C	D	
Correlação I x %R		AS-Iodo	AS-Clorex	AMS-Iodo	AMS-Clorex	
X		Y	Y	Y	Y	
1	Number of XY Pairs	50	50	50	1	50
2	Pearson r	-0.2640	-0.2674	-0.03471	2	-0.1519
3	95% confidence interval	-0.5053 to 0.01558	-0.5080 to 0.01194	-0.3101 to 0.2461	3	-0.4129 to 0.1321
4	P value (two-tailed)	0.0640	0.0605	0.8109	4	0.2923
5	P value summary	ns	ns	ns	5	ns
6	Is the correlation significant? (alpha=0.05)	No	No	No	6	No
7	R squared	0.00968	0.07146	0.001205	7	0.02308

ANEXOS C - IDENTIFICAÇÃO BACTERIANA

Identification Information	Card: GP	Lot Number: 242168340	Expires: Jul 24, 2011 11:00 BRT
	Completed: Mar 29, 2010 22:36 BRT	Status: Final	Analysis Time: 8.00 hours
Selected Organism	93% Probability Leuconostoc mesenteroides ssp cremoris		
	Bionumber: 000000010020001		Confidence: Very good identification
SRF Organism			
Analysis Organisms and Tests to Separate:			
Analysis Messages:			
Contraindicating Typical Biopattern(s)			
Leuconostoc mesenteroides ssp cremoris BGAR(76),BGAL(76),URE(1), Doador 5 PVPI (AS)			

Identification Information	Card: GP	Lot Number: 242168340	Expires: Jul 24, 2011 11:00 BRT
	Completed: Mar 29, 2010 20:36 BRT	Status: Final	Analysis Time: 6.00 hours
Selected Organism	95% Probability Staphylococcus hominis		
	Bionumber: 000000014220031		Confidence: Very good identification
SRF Organism			
Analysis Organisms and Tests to Separate:			
Staphylococcus hominis			
Staphylococcus hominis ssp hominis NOVO_R(1).			
Staphylococcus hominis ssp novobiisepticus NOVO_R(99).			
Analysis Messages:			
Contraindicating Typical Biopattern(s)			
Staphylococcus hominis AGLU(85),O129R(95), Doador 5 clorex. (AMS)			

Patient Name:	Patient ID:															
Location:	Physician:															
Lab ID: 6200002/10	Isolate Number: 1															
Selected Organism : Staphylococcus hominis																
Source:	Collected:															
Comments:																
<table border="1"> <tr> <td>Identification Information</td> <td>Analysis Time: 6.00 hours</td> <td>Status: Final</td> </tr> <tr> <td>Selected Organism</td> <td>95% Probability Staphylococcus hominis</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td>Bionumber: 000000010660221</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Organism Quantity:</td> <td colspan="2"></td> </tr> <tr> <td>ID Analysis Messages</td> <td colspan="2">Doador 7 PVPI (AMS)</td> </tr> </table>		Identification Information	Analysis Time: 6.00 hours	Status: Final	Selected Organism	95% Probability Staphylococcus hominis			Bionumber: 000000010660221		Organism Quantity:			ID Analysis Messages	Doador 7 PVPI (AMS)	
Identification Information	Analysis Time: 6.00 hours	Status: Final														
Selected Organism	95% Probability Staphylococcus hominis															
	Bionumber: 000000010660221															
Organism Quantity:																
ID Analysis Messages	Doador 7 PVPI (AMS)															

Patient Name:	Patient ID:															
Location:	Physician:															
Lab ID: 6400004/10	Isolate Number: 1															
Selected Organism : Leuconostoc mesenteroides ssp cremoris																
Source:	Collected:															
Comments:																
<table border="1"> <tr> <td>Identification Information</td> <td>Analysis Time: 8.00 hours</td> <td>Status: Final</td> </tr> <tr> <td>Selected Organism</td> <td>91% Probability Leuconostoc mesenteroides ssp cremoris</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td>Bionumber: 000000010020001</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Organism Quantity:</td> <td colspan="2"></td> </tr> <tr> <td>ID Analysis Messages</td> <td colspan="2">Doador 9 clorex. (AS)</td> </tr> </table>		Identification Information	Analysis Time: 8.00 hours	Status: Final	Selected Organism	91% Probability Leuconostoc mesenteroides ssp cremoris			Bionumber: 000000010020001		Organism Quantity:			ID Analysis Messages	Doador 9 clorex. (AS)	
Identification Information	Analysis Time: 8.00 hours	Status: Final														
Selected Organism	91% Probability Leuconostoc mesenteroides ssp cremoris															
	Bionumber: 000000010020001															
Organism Quantity:																
ID Analysis Messages	Doador 9 clorex. (AS)															

Identification Information	Card: GP	Lot Number: 242168340	Expires: Jul 24, 2011 11:00 BRT
	Completed: Apr 14, 2010 19:17 BRT	Status: Final	Analysis Time: 8:00 hours
Selected Organism	91% Probability <i>Leuconostoc mesenteroides ssp cremoris</i> Bionumber: 000000000060001 Confidence: Good identification		
SRF Organism			
Analysis Organisms and Tests to Separate:			
Analysis Messages:			
Contraindicating Typical Biopattern(s) <i>Leuconostoc mesenteroides ssp cremoris</i> BGAL(76).NC6 5(10).dMAN(1).BGAR(76). Doador 14 PVPI (AS)			

Identification Information	Card: GP	Lot Number: 242168340	Expires: Jul 24, 2011 11:00 BRT
	Completed: Apr 20, 2010 19:07 BRT	Status: Final	Analysis Time: 6:00 hours
Selected Organism	93% Probability <i>Staphylococcus hominis</i> Bionumber: 000000010220021 Confidence: Very good identification		
SRF Organism			
Analysis Organisms and Tests to Separate: <i>Staphylococcus hominis</i> <i>Staphylococcus hominis ssp hominis</i> NOVO_R(1). <i>Staphylococcus hominis ssp novobioceticus</i> NOVO_R(99).			
Analysis Messages:			
Contraindicating Typical Biopattern(s) <i>Staphylococcus hominis</i> SAC(84).AGLU(85).O129R(95). Doador 18 clorex. (AS)			

Patient Name:		Physician:	
Location:		Isolate Number: 1	
Lab ID: 822/0510			
Selected Organism : <i>Staphylococcus cohnii ssp cohnii</i>			
Source:		Collected:	
Comments:			
Identification Information		Analysis Time: 6:00 hours	Status: Final
Selected Organism		95% Probability <i>Staphylococcus cohnii ssp cohnii</i> Bionumber: 00000000040201	
Organism Quantity:			
ID Analysis Messages		Doador 19 PVPI (AMS)	

Patient Name:		Physician:	
Location:		Isolate Number: 1	
Lab ID: 819/0510			
Selected Organism : <i>Staphylococcus capitis</i>			
Source:		Collected:	
Comments:			
Identification Information		Analysis Time: 7:25 hours	Status: Final
Selected Organism		94% Probability <i>Staphylococcus capitis</i> Bionumber: 010000002060241	
Organism Quantity:			
ID Analysis Messages		Doador 22 clorx. (AS)	

Identification Information	Card: GP	Lot Number: 242171740	Expires: Aug 27, 2011 11:00 BRT
	Completed: May 19, 2010 20:07 BRT	Status: Final	Analysis Time: 6:00 hours
Selected Organism	90% Probability Staphylococcus hominis		
	Bionumber: 020000054321021	Confidence: Good identification	
SRF Organism			
Analysis Organisms and Tests to Separate:			
Staphylococcus hominis			
Staphylococcus hominis ssp hominis	NOVO_R(1),		
Staphylococcus hominis ssp novobiosepticus	NOVO_R(99).		
Analysis Messages:			
Contraindicating Typical Biopattern(s)			
Staphylococcus hominis	dMNE(5), SAC(84), AGLU(85), O129R(95).		
Doador 26 clorex (AS)			

Identification Information	Card:	GP	Lot Number:	242171740	Expires:	Aug 27, 2011 11:00 BRT
	Completed:	May 19, 2010 20:07 BRT	Status:	Final	Analysis Time:	6.00 hours
Selected Organism	93% Probability		Staphylococcus hominis			
	Bionumber: 000000014221221				Confidence:	Very good identification
SRF Organism						
Analysis Organisms and Tests to Separate:						
Staphylococcus hominis						
Staphylococcus hominis ssp hominis NOVO_R(1),						
Staphylococcus hominis ssp novobiosepticus NOVO_R(99),						
Analysis Messages:						
Contraindicating Typical Biopattern(s)						
Staphylococcus hominis dMNE(5),SAC(84),AGLU(85),						
Doador 26 PVPI (AS)						

Identification Information	Card: GP	Lot Number: 242171740	Expires: Aug 27, 2011 11:00 BRT
	Completed: May 24, 2010 17:25 BRT	Status: Final	Analysis Time: 7.00 hours
Selected Organism	97% Probability Staphylococcus epidermidis		
	Bionumber: 010000052220211		Confidence: Excellent identification
SRF Organism			
Analysis Organisms and Tests to Separate:			
Analysis Messages:			
Contraindicating Typical Biopattern(s)			
Staphylococcus epidermidis BACI(BA)			Doador 29 clorex. (AS)

Identification Information	Card: GP	Lot Number: 242171740	Expires: Aug 27, 2011 11:00 BRT
	Completed: Jun 21, 2010 18:16 BRT	Status: Final	Analysis Time: 6.25 hours
Selected Organism	91% Probability Staphylococcus hominis		
	Bionumber: 000000014020011		Confidence: Good identification
SRF Organism			
Analysis Organisms and Tests to Separate:			
Staphylococcus hominis			
Staphylococcus hominis ssp hominis	NOVO_R(1),		
Staphylococcus hominis ssp novobiosepticus	NOVO_R(99),		
Analysis Messages:			
Contraindicating Typical Biopattern(s)			
Staphylococcus hominis	AGLU(85),dMAL(98),O129R(95),		
Doador 38 clorex. (AMS)			

Identification Information	Card: GP	Lot Number: 242171740	Expires: Aug 27, 2011 11:00 BRT
	Completed: Jun 21, 2010 19:01 BRT	Status: Final	Analysis Time: 7.00 hours
Selected Organism	91% Probability Staphylococcus hominis Bionumber: 000000010240221 Confidence: Good identification		
SRF Organism			
Analysis Organisms and Tests to Separate:			
Staphylococcus hominis			
Staphylococcus hominis ssp hominis	NOVO_R(1).		
Staphylococcus hominis ssp novobioceticus	NOVO_R(99).		
Analysis Messages:			
Contraindicating Typical Biopattern(s)			
Staphylococcus hominis	SAC(84).AGLU(85).NC6.5(99).dMAN(22).		
Doador 43 clorex. (AS)			

Identification Information	Card: GP	Lot Number: 242171740	Expires: Aug 27, 2011 11:00 BRT
	Completed: Jun 21, 2010 20:15 BRT	Status: Final	Analysis Time: 8.25 hours
Selected Organism	89% Probability Leuconostoc mesenteroides ssp cremoris Bionumber: 000000014000011 Confidence: Good identification		
SRF Organism			
Analysis Organisms and Tests to Separate:			
Analysis Messages:			
Contraindicating Typical Biopattern(s)			
Leuconostoc mesenteroides ssp cremoris SAC(1),BGAL(76),URE(1),BGAR(76), Doador 41 clorex. (AS)			

Identification Information	Card: GP	Lot Number: 242171740	Expires: Aug 27, 2011 11:00 BRT
	Completed: Jun 21, 2010 19:01 BRT	Status: Final	Analysis Time: 7.00 hours
Selected Organism	95% Probability Staphylococcus hominis		Very good identification
	Bionumber: 000000010260221		
SRF Organism			
Analysis Organisms and Tests to Separate:			
Staphylococcus hominis			
Staphylococcus hominis ssp hominis	NOVO_R(1),		
Staphylococcus hominis ssp novobioceticus	NOVO_R(99),		
Analysis Messages:			
Contraindicating Typical Biopattern(s)			
Staphylococcus hominis	SAC(84),AGLU(85),dMAN(22).		
Doador 41 clorex. (AMS)			

Identification Information	Card: GP	Lot Number: 242176540	Expires: Oct 14, 2011 12:00 BRST
	Completed: Jun 23, 2010 16:17 BRT	Status: Final	Analysis Time: 6.00 hours
Selected Organism	96% Probability Staphylococcus hominis		
	Bionumber: 000000046220211	Confidence: Excellent identification	
SRF Organism			
Analysis Organisms and Tests to Separate:			
Staphylococcus hominis			
Staphylococcus hominis ssp hominis	NOVO_R(1).		
Staphylococcus hominis ssp novobioceticus	NOVO_R(99).		
Analysis Messages:			
Contraindicating Typical Biopattern(s)			
Staphylococcus hominis	URE(83),AGLU(85),		
Doador 48 clorex. (AMS)			

Identification Information	Card: GP	Lot Number: 242176540	Expires: Oct 14, 2011 12:00 BRST
	Completed: Jun 23, 2010 16:17 BRT	Status: Final	Analysis Time: 6.00 hours
Selected Organism	95% Probability Staphylococcus hominis		
	Bionumber: 050000054221231		Confidence: Very good identification
SRF Organism			
Analysis Organisms and Tests to Separate:			
Staphylococcus hominis			
Staphylococcus hominis ssp hominis		NOVO_R(1),	
Staphylococcus hominis ssp novobiosepticus		NOVO_R(99),	
Analysis Messages:			
Doador 48 clorex. (AS)			

Identification Information	Card: GP	Lot Number: 242171740	Expires: Aug 27, 2011 11:00 BRT
	Completed: Aug 2, 2010 13:53 BRT	Status: Final	Analysis Time: 5.00 hours
Selected Organism	99% Probability Staphylococcus hominis		Confidence: Excellent identification
	Bionumber: 040000010220221		
SRF Organism			
Analysis Organisms and Tests to Separate:			
Staphylococcus hominis			
Staphylococcus hominis ssp hominis	NOVO_R(1),		
Staphylococcus hominis ssp novobiosepticus	NOVO_R(99),		
Analysis Messages:			
Doador 48 PVPI (AS)			

Identification Information	Card: GP	Lot Number: 242171740	Expires: Aug 27, 2011 11:00 BRT
	Completed: Aug 2, 2010 13:52 BRT	Status: Final	Analysis Time: 5.00 hours
Selected Organism	99% Probability Staphylococcus hominis		
	Bionumber: 040000010220221		Confidence: Excellent identification
SRF Organism			
Analysis Organisms and Tests to Separate:			
Staphylococcus hominis			
Staphylococcus hominis ssp hominis	NOVO_R(1).		
Staphylococcus hominis ssp novobiosepticus	NOVO_R(99).		
Analysis Messages:			
Contraindicating Typical Biopattern(s)			

Doador 50 PVPI (A.M.S)