

10

SÉRGIO HONORATO DE MATOS (Medico?)

- ANÁLISE DA CONTAMINAÇÃO BACTERIANA EM FRAÇÕES DE
CONCENTRADOS DE HEMÁCIAS -

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
HEMOCE

- 1996 -

SÉRGIO HONORATO DE MATOS

ANÁLISE DA CONTAMINAÇÃO BACTERIANA EM FRAÇÕES DE CONCENTRADOS DE HEMÁCIAS

ORIENTADORES: Dr. Ormando Campos
Dr. Luciano Moreira

Monografia apresentada como requisito final para conclusão do X Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia, Residência Médica em Hematologia e Hemoterapia.

Universidade Federal do Ceará
Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE)
Fortaleza-Ceará-Brasil
Janeiro 1996.

Ao Deus da minha vida.

Aos meus pais e aos amigos
Neuma e Fran, pelo incen-
tivo e compreensão dos mo-
mentos de ausência.

AGRADECIMENTOS

Dr. Murilo Martins por seu pioneirismo.

Dra. Vânia pela coordenação do curso.

Dra. Alana, pela dedicação ao ensino.

Dra. Clara pela coordenação inovadora da Residência Médica em Hematologia.

Célia, Viviane, Jeovani e Lêda pela dedicação ao Curso.

Suzana de Matos Alves pelo resultado gráfico deste trabalho.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Dr. Ormando Campos, pela idéia inovadora e confiança no trabalho.

Dr. Luciano Moreira, pelas análises microbiológicas e por seu profissionalismo.

Dra. Luciana Barros, pelo constante incentivo.

Aos funcionários do Setor de Fracionamento do HEMOCE e do Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina pela eterna paciência.

ÍNDICE

RESUMO	15
INTRODUÇÃO	16
MATERIAL E MÉTODOS	20
RESULTADOS, GRÁFICOS E TABELAS	22
DISCUSSÃO	27
CONCLUSÃO	33
ABSTRACTS	34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

RESUMO

(Sumário)

Este estudo foi realizado com o objetivo de determinar a frequência de contaminação bacteriana, nas frações de concentrados de hemácias, preparadas no setor de fracionamento do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE), no período de maio a setembro de 1995.

Nele descrevemos o método utilizado para estudo, o material escolhido e os resultados obtidos. Uma revisão bibliográfica sobre o assunto está incluída neste trabalho.

* * * * *

INTRODUÇÃO

No início deste século Karl Landsteiner descobriu e classificou o primeiro sistema de grupo sanguíneo - o ABO - e por volta dos anos 30 Landsteiner e Wiener começaram a desvendar o sistema de grupo sanguíneo Rh⁽¹⁴⁾. Isso proporcionou um grande avanço na medicina transfusional. No entanto, desde aquela época, ainda se busca realizar a transfusão sanguínea sem risco.

A Hemoterapia dedica importante capítulo ao tema "Reações transfusionais". Nos Estados Unidos, recente pesquisa realizada pelo Departamento de Medicina de Harvard e pelo Dana-Farber Cancer Institute⁽⁴⁾ mostrou que num período de cinco anos, das 51.272 transfusões acompanhadas por aquelas instituições, 2208 (4,3%) foram complicadas por reações transfusionais. Dessas, 0,173% tiveram como causa, transfusão de sangue e/ou hemoderivados contaminados por bactérias. Ampla variação estatística existe sobre o tema, com cifras de 2,4%⁽¹⁰⁾ até cerca de 7% ou mais^(8, 22).

A partir dos anos 80 as atenções dos bancos de sangue de todo o mundo voltaram-se para a detecção de unidades contaminadas pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), já que a AIDS tornara-se uma pandemia. Mesmo assim, a literatura médica não deixou de publicar importantes trabalhos sobre sepsis pós-transfusional, apa-

rentemente num tema novo.

Em 1982, um grupo sul-africano relatou os primeiros casos de sepsis pós-transfusional causada por Yersinia enterocolítica, em importante publicação científica⁽²⁸⁾. Essa bactéria é um bacilo Gram negativo capaz de sobreviver a baixas temperaturas e apresentar exacerbação do seu metabolismo quando exposto a temperatura ambiente. Um total de 32 casos semelhantes já foram publicados na literatura de língua inglesa, desde então⁽²⁶⁾.

Sabe-se, porém, da existência de um grupo heterogêneo de bactérias que seriam capazes de sobreviver ao frio, como o dos refrigeradores de bancos de sangue (1-6°C), adaptando-se ao meio com baixo metabolismo, utilizando dextrose e ferro como fonte de energia e multiplicando-se rapidamente quando expostos a temperaturas mais elevadas, ou seja, pouco tempo antes do hemoderivado ser transfundido. Tal grupo é denominado grupo das bactérias psicrófilas e é representado por Yersinia enterocolítica, Enterobacter, Klebsiella ssp, Pseudomonas ssp, especialmente P. fluorescens e P. putida, e E.coli. Outras espécies, ditas não psicrófilas, podem contaminar os derivados de sangue, principalmente os concentrados de plaquetas, pela temperatura ideal em que permanecem^(3, 12, 14, 26). Dentre elas destacam-se os Staphylococcus ssp, Streptococcus ssp etc.

A importância dessas bactérias para a Hemoterapia deve-se ao fato das mesmas poderem causar sepsis pós-transfusional, com índice de mortalidade em torno de 50%^(22, 29, 30). A via de contaminação das unidades transfundidas pode ser a pele do doador (limpeza insuficiente no ato da doação), material de coleta contaminado, infecções inaparentes no doador, manuseio inadequado no banco de sangue, principalmente durante o fracionamento e armazenagem. O uso de banho-maria para aquecer o material a ser transfundido também funciona como fonte de contaminação^(1, 2, 4, 7, 12, 16, 21, 26).

No Brasil, a portaria 1376 do Ministério da Saúde⁽²⁰⁾ preconiza que, se uma bolsa plástica de sangue tiver o seu lacre violado, a mesma deve ser utilizada rapidamente em um período máximo de 24 horas. O mesmo ocorre com as pequenas frações utilizadas para transfusão em pediatria, por exemplo.

No nosso meio, devido a particularidades locais como a escassez de hemoderivados, essas pequenas frações de sangue tem sido utilizadas por até 48 horas após o seu preparo. Algumas reações transfusionais foram relatadas, sem que um estudo efetivo fosse realizado para melhor compreendê-las.

Tal fato provocou-nos inquietação e curiosidade. Era seguro, no que diz respeito ao perfil microbiológico, transfundir tais unidades estocadas por mais

de 24 horas? Qual a incidência de contaminação bacteriana nas frações preparadas no HEMOCE? Isso existe entre nós? Então, planejamos um estudo que será descrito em seguida.

* * * * *

MATERIAL E MÉTODOS

Esse estudo foi realizado no Setor de Fracionamento do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE) e no laboratório de Microbiologia do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará (UFC), no período de maio a setembro de 1995.

Aproveitamos as ocasiões em que os serviços de pediatria do Hospital Infantil Albert Sabin (HIAS) e do Hospital Universitário Walter Cantídeo da UFC (HUWC) solicitavam frações de concentrado de hemácias ao hemocentro para colhermos nossas amostras concomitantemente. Colhíamos um volume aproximado de 30ml de concentrado de hemácias em bolsas de transferência (ASEM Hospitalar SA, Itapeverica da Serra, São Paulo), com finalidade exclusiva de pesquisa.

Em seguida identificávamos nossas bolsas com código conhecido no setor. As mesmas eram guardadas em refrigerador a parte, em temperatura que variava de 1 - 6°C. Cada bolsa era classificada, quanto ao tempo de colheita, em mais de cinco dias e menos de cinco dias. Em formulário próprio, anotávamos também a classificação ABO e Rh. Preparamos um total de 100 bolsas no período estudado.

Para cada bolsa colhida preparávamos um tu-

bo piloto estéril correspondente, no primeiro dia. Após 15 minutos de funcionamento do fluxo laminar do setor (TROX do Brasil, Modelo FLV, série 417, Curitiba PR), flambávamos a boca do tubo piloto em lamparina apropriada. Em seguida, fazíamos assepsia no equipo da bolsa de transferência com álcool iodado, seccionávamos o equipo e colhíamos 5ml da amostra, utilizando um extrator de plasma.

O remanescente da bolsa, com um nó no equipo como segurança, era mantido em refrigerador entre 1 - 6°C por cinco dias. Todo o processo era repetido no 3º e 5º dias de armazenamento, colhendo, respectivamente, a 2ª e 3ª amostras, após o que o material era desprezado. Em cinco meses de estudo colhemos 280 amostras. Não foi possível colher a terceira amostra de algumas bolsas, devido a coincidências com domingos e feriados, dias em que o laboratório de microbiologia não funcionava.

As amostras colhidas eram submetidas ao estudo microbiológico através de bacterioscopia pelo método tradicional de Gram e cultura em meio BHI (Brain Heart Infusion Broth) ⁽⁵⁾.

Ao fim da pesquisa queríamos saber qual o percentual de contaminação das bolsas e se, para uma mesma bolsa, identificávamos bactérias nas três amostras.

Para fins de significância estatística fixamos α em 5%.

RESULTADOS

Foram estudadas um total de 100 frações de sangue de 30mℓ. Essas frações, em relação a classificação ABO dividiram-se da seguinte forma: 46% pertenciam ao Grupo A, 34% ao Grupo O, 17% ao Grupo B, 3% ao Grupo AB conforme mostra a figura 1.



Figura 1: Classificação das amostras estudadas quanto ao grupo ABO.

Em relação a classificação Rh tivemos 96% das amostras Rh positivo e 4% Rh negativo.



Figura 2: Classificação das amostras estudadas quanto ao fator Rh.

Ao analisarmos as duas variáveis conjuntamente temos o seguinte: A+ (44%), A- (2%), B+ (16%), B- (1%), AB+ (3%), AB- (0%), O+ (33%), O- (1%), conforme a tabela 1.

Classificação ABO x Rh em 100 amostras estudadas

ABO \ Rh	+	-	TOTAL
A	44	2	46
B	16	1	17
O	33	1	34
AB	3	0	3
TOTAL	96	4	100

Nossas amostras também foram divididas quanto ao tempo de armazenagem em refrigerador antes de iniciarmos o estudo, em mais de cinco dias e menos de cinco dias de armazenamento. Cinquenta e um por cento tinham menos de cinco dias de colheita contra 49% com mais de cinco dias.

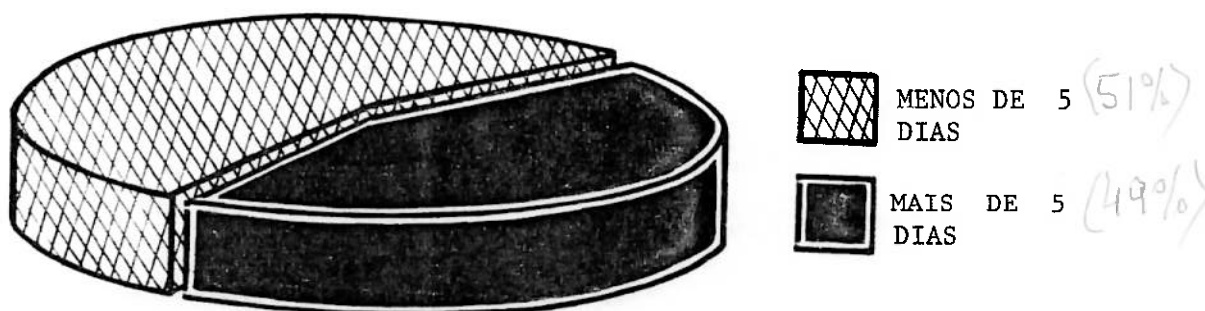


Figura 3: Classificação das amostras estudadas quanto ao tempo de armazenagem no refrigerador.

Quanto ao fator contaminação bacteriana encontramos 3% de nossas bolsas contaminadas, das contra 97% não contaminadas.

TABELA 2

Classificação das amostras quanto a presença de contaminação bacteriana.

Presença de bactérias		
NEGATIVO	POSITIVO	Total
97	03	100

Distribuindo essas amostras por número de culturas realizadas ($n = 280$) tivemos então 1,07% de contaminação contra 98,93% de não contaminação.

TABELA 3

Classificação das amostras quanto a presença de bactérias utilizando o número total de culturas realizadas

Presença de bactérias					
positivo		negativo		Total	
Nº	%	Nº	%	Nº	%
3	1,07	277	98,93	280	100

Bacterioscopia e cultura foram correspondentes.

Todas as culturas que se mostraram positivas foram colhidas no 2º dia de estudo (2ª cultura). Nenhuma amostra positiva foi encontrada no primeiro ou terceiro dias.

Analisando tempo de armazenagem X resultado dos exames microbiológicos, vemos que das 51 bolsas preparadas com menos de cinco dias de armazenagem, duas tiveram contaminação (Gram e cultura correspondentes). Das 49 bolsas preparadas com mais de cinco dias de armazenagem somente uma apresentou contaminação (Gram e cultura correspondentes).

TABELA 4

Tempo de armazenamento X contaminação bacteriana

Tempo de armazenagem \ Contaminação	Tempo de armazenagem		Total
	< 5 dias	> 5 dias	
Não contaminado	49	48	97
Contaminado	2	1	3
Total	51	49	100

Estes valores nos dão $\alpha > 5\%$.

O expectro bacteriano encontrado em nosso estudo foi variável, incluindo germes Gram+ e Gram-, com a seguinte representação: *S. aurius* (1 caso), *Bacillus* sp (1 caso), *E. coli* (1 caso), *S. viridaus* (1 caso), as duas últimas bactérias em conjunto numa mesma amostra.

(Ver tabela a seguir)

TABELA 5

Bactérias encontradas no estudo

Tipo de bactéria	Nº de bolsas
S. aureus	1
Bacillus sp	1
E.Coli/S.Viridous *	1
TOTAL	3

* encontradas em uma mesma bolsa.

* * * * *

DISCUSSÃO

Analizamos 280 hemoculturas e obtivemos cerca de 1,07% de positividade para contaminação bacteriana ($\alpha > 5\%$). Na literatura médica essa variação é ampla. Citam-se valores da ordem de 2,4%^(8, 10) até 10%^(22, 27), dependendo do tipo de cultura realizada: concentrado de hemácias ou plaquetas. Em geral, as maiores cifras são relacionadas aos concentrados de plaquetas. Essas unidades são consideradas como favorecedoras do crescimento bacteriano porque são mantidas em temperatura ambiente^(6, 7, 8, 10). Por causa disso, nos Estados Unidos, o FDA (Food and drug administration) e a AABB (American Association of Blood Banks) recomendam a armazenagem desses concentrados por no máximo cinco dias⁽²⁶⁾.

Dividimos nossas amostras em "menos de cinco dias" e "mais de cinco dias" de armazenagem. Essa decisão é justificada pelo que a literatura já observou. Segundo alguns trabalhos publicados, as bactérias psicrófilas apresentam maior concentração em material armazenado por mais de uma semana, com pico máximo por volta da terceira semana⁽¹²⁾. Tentamos correlacionar tais dados com "sangue com menos e mais tempo de armazenagem (5 dias" e ver qual dos dois daria maior positividade. Nossos resultados foram contrários aos citados pela literatura, com sangue mais recente apresentando maior contaminação.

Quanto a relação ABO/Rh X contaminação bacteriana, não existem dados na literatura a respeito, o que a torna aparentemente sem relevância.

Poderíamos considerar as bactérias encontradas em nosso estudo como psicrófilas? Segundo a literatura a *E. Coli* é considerada como psicrófila⁽¹²⁾; as outras são citadas como contaminantes, principalmente em concentrados de plaquetas, devido a temperatura ambiente. No entanto, todas são capazes de causar sepsis pós-transfusional.

Apesar de nossos resultados estarem dentro do que preconiza a literatura, devemos, ainda assim, olhá-los com reserva. Encontramos resultados positivos (contaminação) somente em amostras colhidas no segundo dia do procedimento. Ora, se aquelas bactérias contaminavam o conteúdo das bolsas estudadas, então porque não cresceram nas culturas realizadas no terceiro e último dia de procedimento (5º dia de estudo)? Isso nos leva a crer que a contaminação estudada encontrava-se não no conteúdo das bolsas (sangue), mas sim deve ter ocorrido durante a colheita do material, o que nos parece mais lógico e coloca o método de estudo escolhido em questionamento.

Os métodos utilizados para cultura são variados, e em todos, o ponto crucial é a colheita. Como colher material de uma bolsa plástica sem contaminar seu conteúdo? Segundo a literatura, isso tem sido o fator que limita a credibilidade dos resultados de muitos tra-

balhos^(8,23) por isso, alguns trabalhos têm sido realizados com bolsas plásticas com dispositivos laterais especiais que facilitariam a colheita e minimizariam a interferência do acaso em seus resultados^(17,18). É de se imaginar o índice de contaminação na época em que se usavam recipientes de vidro nos bancos de sangue!

Em 1986, a Universidade de Chicago publicou artigo sobre controvérsias em culturas de sangue⁽³¹⁾. Segundo o mesmo, o volume mínimo utilizado para hemoculturas deve ser de 10mℓ de sangue por amostra colhida. Utilizamos 5mℓ por amostra em nosso estudo. Questiona-se se esse seria um fator limitante para os nossos resultados.

As formas de contaminação conhecidas abrangem desde o ato da colheita até o processamento do sangue⁽²⁵⁾. São fontes de contaminação: a pele do doador; o material utilizado na colheita (bolsas, agulhas, substâncias preservadoras); e o processamento do sangue (fracionamento, armazenagem, manipulação das bolsas momentos antes e durante sua utilização).

Os estudos com concentrados de hemácias ainda têm sido muito limitados, apesar da citação de vários casos de sepsis pós-transfusional relacionados aos concentrados. Os serviços de Hemoterapia de todo o mundo ainda não estabeleceram estudo microbiológico de rotina como arma para prevenir os casos de sepsis pós-transfusional. Segundo a AABB, a incidência é baixa e não jus-

tificaria tais gastos⁽²⁶⁾. Ainda assim, o Gram e a cultura têm sido amplamente questionados por não apresentarem sensibilidade e especificidade adequadas para tal estudo. Até o momento não dispomos de métodos laboratoriais que sejam "Padrão ouro" para o assunto em questão. A maioria dos estudos é realizada quando novos casos são citados na literatura. Sepsis por Yersinia enterocolitica é descrita desde a década de 80⁽²⁸⁾.

Devido a importância do assunto e suas graves conseqüências (alta mortalidade), vários métodos têm sido descritos na literatura na tentativa de se evitar a utilização de sangue contaminado. A cor do concentrado a ser transfundido é importante. Concentrados com cor mais escura que o normal ou sinais de hemólise não devem ser transfundidos⁽¹⁷⁾.

Por recomendação da AABB toda bolsa de concentrado de hemácias que permaneça fora da geladeira por mais de trinta minutos deve ser desprezada. Segundo estudos realizados, após esse tempo, o ritmo de crescimento de eventuais bactérias contaminantes passaria a ser logarítmico, o que teria maior importância para os casos de sepsis devido a maior concentração bacteriana. T. R. Hamil, em trabalho publicado pela revista TRANSFUSION em 1990, questiona esse comportamento⁽¹³⁾. Segundo o autor, seriam necessárias no mínimo duas horas, para que tal crescimento ocorresse. Esse comportamento, adotado pela maioria dos bancos de sangue americanos, seria res-

ponsável pelo desperdício de cerca de 18 mil unidades de concentrado de hemácias por ano, um produto já tão escasso.

deleuco...
O uso de filtros de leucocitadores também é objeto de controvérsias. Para alguns, a retirada dos leucócitos dos concentrados de hemácias favoreceria o aumento do número de bactérias⁽¹⁹⁾. Para outros, a filtração seria capaz de remover bactérias que ficariam aderidas às fibras de poliéster, ou aos leucócitos retidos, eliminando com isso o fator contaminante.^(18,32) Ainda não chegamos ao consenso.

A biologia molecular também têm sido utilizada com êxito na eliminação de unidades contaminadas por bactérias. O uso de sondas quimioluminescentes tem sido citado com êxito. O preço é o fator limitante. O método precisa ser difundido para ganhar aceitação.⁽⁶⁾

A análise microbiológica automatizada utilizando o método colorimétrico é descrita como rápida e eficaz. Não está disponível em todos os serviços. É utilizada com sucesso para concentrados de plaquetas⁽¹¹⁾.

No entanto, de todos os métodos citados, nenhum supera a importância de uma triagem bem feita. A AABB recomenda atenção ao questionamento sobre sinais e sintomas referentes ao trato gastrointestinal, eliminando possíveis doadores que apresentaram sinais/sintomas nos últimos trinta dias.

Um estudo britânico mostrou a importância da limpeza correta da pele do doador⁽²⁴⁾. ✓

O manuseio do sangue durante o fracionamento, a adequada armazenagem com revisão periódica da temperatura dos refrigeradores, e os cuidados pré-transfusional são cruciais para evitar-se a sepsis pós-transfusional⁽²⁵⁾. Lembramos ainda que nenhum ato transfusional deve ser superior a quatro horas^(20, 26). ✓

Mesmo com todos os cuidados descritos, ainda assim, encontramos bactérias em nosso estudo. A causa mais provável foi o excessivo manuseio. Do ponto de vista estatístico os resultados encontrados não são significativos, tendo em vista encontramos um " α " maior que o estabelecido (>5%). O mesmo não podemos dizer do ponto de vista prático. O óbvio não precisa ser explicado. ✓

* * * *

CONCLUSÃO

Esse estudo mostrou a presença de bactérias em 3% das frações de concentrado de hemácias estudados durante cinco meses ($n = 100$) e em 1,07% das hemoculturas realizadas no mesmo período ($n = 280$). No entanto, do ponto de vista estatístico, o " α " encontrado foi maior que o " α " estabelecido mostrando a interferência do acaso no estudo.

Por esses resultados não podemos afirmar ser seguro, em relação ao perfil microbiológico, transfundir frações de concentrado de hemácias preparadas há mais de 24 horas, haja visto termos encontrado contaminação bacteriana em nosso estudo, mesmo seguindo o rigor técnico descrito. Questiona-se a eficácia do método utilizado para o estudo.

* * * * *

ABSTRACTS

This study was made ^{with} the objective of detection^{ok} the bacterial contamination in small packages of red cells prepared in the division of fractionation in the Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE) from may to september of 1995.

We talk about the method, the material and the results of this search. This paper also has a review about this topic.

* * * * *

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aber, Rc.: Transfusion - associated Yersinia entero-colitica. **Transfusion**. 30:193-195; 1990. ✓
2. Arduino, MJ; Bland, LA; Tipple, MA.: Growth and endotoxin production of Yersinia interocolitica and Enterobacter agglomerans in packed erythrocytes. **J Clin Microbiol** 27: 1483-1485; 1989. ✓
3. Barbara, John AJ.: Challenges in Transfusion Microbiology. **Tran Med Rev** 7(2): 96-103; 1993. ✓
4. Barrett, BB; Anderson, JW; Anderson, KC.: Strategies for the avoidance of bacterial contamination of blood components. **Transfusion** 33: 228-233; 1993. ✓
5. Biek, Otto.: **Microbiologia e Imunologia**, 24ª ed., Melhoramentos, São Paulo, p. 946; 1985. ✓
6. Brecher, ME; Hogan, JJ; Kerr, A.: Platelet bacterial contamination an the use of a chemiluminescence-linked universal bacterial ribossomal RNA gene probe. **Transfusion** 34: 750-755; 1994. ✓
7. Buchholz, DH; Yonng, VM; Friedman, NR.: Bacterial proliferation in platelet products stored at room temperature. Transfusion-induced Enterobacter sepsis. **N. Engl J Med** 285: 429-433; 1971. ✓
8. Buchholz, DH; Yonng, VM; Friedman, NR.: Detection and quantitation of bacteria in platelet products stored ✓

- at ambient temperature. **Transfusion** 13: 268-275; 1973. ✓
9. Bussab, W; Morettin, P.: **Estatística Básica**, Atual Editora, São Paulo, p. 321; 1986. ✓
10. Goddard, D; Jacobs, SI; Manohitharajah, SM.: The bacteriological screening of platelet concentrates stored at 22 C. **Transfusion** 13: 103-106; 1973. ✓
11. Gong, J; Högmom, CF; Lundholm, M.; Novel automated microbial screening of platelet concentrates. **APMIS** 102: 72-78; 1994. ✓
12. Grolttlieb, T.: Hazards of Bacterial contamination of Blood Products. **Anaesth Intenscare** 21: 20-23; 1993. ✓
13. Hamil, TR.: The 30 - minute rule for reissuing blood: Are we needlessly discarding units?. **Transfusion** 30: 58-62; 1990. ✓
14. Harmening, DP.: **Técnicas Modernas em Banco de Sangue e transfusão**, 2ª ed., Livraria e Editora Revinter, Rio de Janeiro, p. 303; 1992. ✓
15. Heal, JM; Cohen, HJ.: Do white cells in stored blood Components reduce the likelihood of post-transfusion bacterial sepsis? (editorial). **Transfusion** 31: 581-583; 1991. ✓
16. Jacobs, J; Jamaer, D; Vandewen, J.: *Yersinia enterocolitica* in donor blood, a case report and review. **J clin Microbiol** 27: 1119-1121; 1989. ✓

17. Kim, DM; Brecher, ME; Bland, LA.: Visual identification of bacterially contaminated red cells. **Transfusion** 32: 221-225; 1992.
18. Kim, DM; Brecher, ME; Bland, LA.: Prestorage removal of *Yersinia enterocolitica* from red cells with white cel-reduction filters. **Transfusion** 32: 658-662; 1992.
19. Martin, CV; Montoro, JA.: **Manual de Medicina Transfusional**, 1ª ed. Mosby/Doyma Libros, Barcelona, p. 144-145; 1994.
20. Ministério da Saúde; Secretaria de Assistência à Saúde; Departamento de Assistência e Promoção à Saúde; Coordenação de Sangue e Hemoderivados.: Normas técnicas para coleta, Processamento e transfusão de sangue, componentes e derivados. Brasília, Ministério da Saúde, 1994.
21. Myhre, BA.: Bacterial contamination is still a hazard of blood transfusion. **Arch Pathol Lab Med** 109: 982-983; 1985.
22. Pittik, SD; Morduchowicz, G; Alkan, M.: Transfusion reactions due to bacterial contamination of blood and blood products. **Rev Hif Dis** 13: 307-314; 1991.
23. Puckett, A: A sterility testing method for blood products. **Med Lab Sci** 43: 249-251; 1986.
24. Puckett, A; Davison, G; Entwistle, CC.: Post transfusion septicemia 1980-1989: Importance of donor arm cleansing. **J clin Pathol** 45: 155-157; 1992.

25. Puckett, A.: Bacterial contamination of blood for transfusion: a study of the growth characteristics of four implicated organisms. **Med Lab Sci** 43: 252-257; 1986.
26. Sazama, K.: Bacteria in blood for transfusion: a review. **Arch Pathol Lab Med** 118: 350-365; 1994.
27. Sazama, K.: Reports of 355 transfusion-associated deaths: 1976 through 1985. **Transfusion** 30: 583-590; 1990.
28. Stenhouse, MAE, Milner, LU.: *Yersinia enterocolitica*: a hazard in blood transfusion. **Transfusion** 22: 396-398; 1982.
29. Tabor, E; Gerety, RJ.: Five cases of pseudomonas sepsis transmitted by blood transfusions. **Lancet** 1: 1403; 1984.
30. Tipple, MA; Bland, LA; Murphy, JJ.: Sepsis associated with transfusion of red cells contaminated with *Yersinia enterocolitica*. **Transfusion** 30: 207-213; 1990.
31. Washington, JA; Jllstrup, DM.: Blood cultures: Issues and controversies. **Rev Inf Dis** 8: 792-801; 1986.
32. Wenz, B; Burns, ER; Freundlich, LF.: Prevention of growth of *Yersinia enterocolitica* in blood by polyester fiber filtration. **Transfusion** 32: 663-666; 1992.