

PAULA RENATA MACHADO PASSOS

**CONTROLE MICROBIOLÓGICO DE TECIDOS
HUMANOS UTILIZADOS PARA TRANSPLANTES**

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
BELO HORIZONTE
2011

PAULA RENATA MACHADO PASSOS

**CONTROLE MICROBIOLÓGICO DE TECIDOS
HUMANOS UTILIZADOS PARA TRANSPLANTES**

Monografia apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Microbiologia aplicada às Ciências da Saúde

Orientadora: Giliane de Souza Trindade

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
BELO HORIZONTE
2011

RESUMO

A utilização de tecidos biológicos em transplantes começa a se tornar uma realidade no Brasil. Até recentemente, apenas os transplantes de órgãos eram citados e ressaltados como avanços na Medicina. Visando a promoção da saúde, o SUS incentiva, cada vez mais, a criação de Bancos de Tecidos nos estados brasileiros. É o caso do CETEBIO, que será o maior Banco de Tecidos da América Latina e está sendo desenvolvido pelo Estado de Minas Gerais. São comprovados os benefícios dos tecidos biológicos no tratamento de diversas situações clínicas. É o caso dos tecidos musculoesqueléticos em traumatismos e o tecido cutâneo em queimaduras graves. Cuidados são imprescindíveis para assegurar a qualidade do tecido e proteger o receptor de possíveis infecções causadas pelo transplante, principalmente por se tratar de pessoas com a saúde debilitada e suscetíveis a um maior número de infecções. Existem legislações brasileiras e diretrizes internacionais referentes à microbiologia dos doadores e dos tecidos biológicos doados que os Bancos devem seguir. A triagem sorológica e o histórico social e médico do doador devem ser considerados juntamente com o exame clínico feito antes da coleta do tecido. As análises microbiológicas, que verificam a presença de bactérias e fungos, devem ser feitas em todas as etapas em que o tecido é submetido, desde a coleta até sua liberação para uso. Este trabalho busca conhecer melhor as etapas onde ocorrem contaminação e os principais microrganismos responsáveis, visando buscar alternativas para minimizar a perda de tecidos e, conseqüentemente, beneficiar um maior número de pacientes.

Palavras chaves: transplantes, tecidos biológicos, contaminação microbiana, bancos de tecidos.

ABSTRACT

The use of biological tissues for transplant is becoming a reality in Brazil. Formerly, only the organ transplant were stated and claimed as a medical breakthrough. Focusing on health issues, Brazilian Health Care (SUS) incentivizes, more and more, the opening of Tissue Banks in Brazilian states. It is the case of CETEBIO which will be the largest tissue bank in Latin America and currently it is being performed by the state of Minas Gerais. It has been proved the benefits of biological tissues in the treatment of many clinical situations. It is the case of musculoskeletal tissues in trauma and the skin in grave burns. Precautions must be taken to the extreme in order to ensure the tissue quality and also to protect possible infections caused by the transplant. Especially regarding people in poor health condition which are prone to a greater number of infections. There are some legislations and international rules regarding the microbiology of donors as well as the donated tissue. The screening, the social record and donators' physicians should also be considered, regarding the clinical exam done before it was collected. The microbiological analysis which verifies the presence of bacterias and yeasts must be done throughout the stages in which the tissue was submitted; from the collection until the stage of release. This essay helps us to better understand the stages in which contamination occurs and the main microorganisms focusing on alternative measures in order to minimize tissue loss and consequently benefit a greater number of patients.

Key words: transplantation, biological tissue, microbiology, microbial contamination, tissue bank.

***Aos meus pais, meu irmão Alexis e André,
pelo apoio e incentivo.***

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida.

À professora Giliane de Souza Trindade, pela atenção disponibilizada durante a orientação e por ter aceitado este desafio. Pelo seu apoio, confiança, por tudo que aprendi e pelas contribuições imprescindíveis para a realização deste trabalho. Pela simpatia e tranquilidade. Muito obrigada!

À equipe docente do curso de Especialização em Microbiologia da Universidade Federal de Minas Gerais, e aos funcionários do setor, por terem contribuído com a minha formação e estarem sempre dispostos a ajudar.

À equipe do Cetebio e Fundação Hemominas, pelo conhecimento transmitido e por terem contribuído para a realização desse trabalho.

Aos amigos e colegas do curso, em especial aos Amigos da Saúde, pelo aprendizado compartilhado, auxílio em vários momentos e por terem feito os finais de semana agradáveis. Pelos almoços, risadas e noites de estudo.

À minha família, pelo incentivo e por sempre estarem ao meu lado.

Ao André, pelo seu amor e compreensão durante esse período.

Aos amigos, por entenderem a minha ausência em vários momentos durante o ano dedicado ao curso e por sempre me apoiarem.

E a todas as pessoas que colaboraram de alguma maneira para a minha formação acadêmica.

Muito obrigada!

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tecidos e suas indicações	12
Tabela 2 – Equipes que realizaram transplantes de tecidos em 2009	21
Tabela 3 – Equipes que realizaram transplantes de tecidos no período de janeiro a setembro de 2010	21
Tabela 4 – Controle de Qualidade de Tecidos Humanos 2009-2010	31
Tabela 5 – Controle de Qualidade de Tecidos Humanos 2008-2009	31
Tabela 6 – Resultados dos testes microbiológicos realizados no tecido cutâneo durante o processo de validação	51

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Transplante realizado pelos santos São Cosme e São Damião	16
Figura 2 - Evolução anual dos transplantes de órgãos (por milhão de população)	19
Figura 3 – Evolução anual dos transplantes de tecidos no Brasil	22
Figura 4 - Teoria do Queijo Suíço	26
Figura 5 – Organograma: Destino de tecidos musculoesqueléticos e válvulas cardíacas na presença de microrganismos	27
Figura 6 - Formulário de Exame Físico	34

LISTA DE ABREVIações

AATB – American Association of Tissue Banks

ABTO – Associação Brasileira de Transplante de Órgãos

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BMO – Banco de Medula Óssea

BP – Banco de Pele

BSCUP – Banco de Sangue de Cordão Umbilical e Placentário

BSR – Banco de Sangues Raros

BTME – Banco de Tecidos Musculoesqueléticos

BVC – Bancos de Válvulas Cardíacas

Cetebio – Centro de Tecidos Biológicos de Minas Gerais

CIHDOTT – Comissão Intrahospitalar de Doação de Órgãos e Tecidos para Transplantes

CNCDO - Central de Notificação, Captação e Distribuição de Órgãos

CNNCDO - Central Nacional de Notificação, Captação e Distribuição de Órgãos

FDA – Food and Drug Administration

Hemominas – Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais

NAT – Nucleic acid test ou teste do ácido nucléico

Pmp – por milhão de população

SIPAC – Sistema Integrado de Procedimentos de Alta Complexidade

SNT – Sistema Nacional de Transplantes

SUS – Sistema Único de Saúde

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	14
2.1 OBJETIVO GERAL	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3 METODOLOGIA	15
4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
4.1 A DOAÇÃO DE ÓRGÃOS E TECIDOS NO BRASIL	16
4.1.1 <i>Histórico</i>	16
4.1.2 <i>Situação atual</i>	18
4.1.3 <i>Bancos de Tecidos: Uma nova tendência</i>	20
4.2 A MICROBIOLOGIA DOS TECIDOS DOADOS E AS LEGISLAÇÕES	23
4.2.1 <i>Legislações internacionais</i>	23
4.2.2.1 <i>FDA</i>	23
4.2.2.2 <i>AATB</i>	24
4.2.2 <i>Legislações nacionais</i>	28
4.3 BANCOS DE TECIDOS E A CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA	30
4.3.1 <i>A experiência internacional</i>	30
4.3.1.1 <i>Héma-Québec – Quebec/ Canadá</i>	30
4.3.2 <i>Etapas do processo e o risco de contaminação microbológica</i>	33
4.3.2.1 <i>Exame clínico e triagem do doador</i>	33
4.3.2.2 <i>Coleta</i>	36
4.3.2.3 <i>Processamento e armazenamento</i>	37
4.3.3 <i>Casos de infecções após transplantes</i>	44
4.3.4 <i>Métodos de assepsia dos tecidos e insumos</i>	45
5 A EXPERIÊNCIA DA CRIAÇÃO DE UM BANCO DE MULTITECIDOS NO BRASIL	47
5.1 PROJETO CETEBIO	47
5.2 VALIDAÇÃO DO BANCO DE PELE DO CETEBIO E ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	47
5.2.1 <i>Controle Microbiológico</i>	50
6 ASPECTOS ÉTICOS	52
7 CONCLUSÃO	56
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

1 INTRODUÇÃO

O Sistema Único de Saúde (SUS), criado pela Constituição Federal Brasileira, em 1988, é um dos maiores sistemas públicos de saúde do mundo, atendendo mais de 180 milhões de pessoas, contemplando desde o atendimento ambulatorial ao transplante de órgãos. Apesar das permanentes dificuldades constatadas e críticas à instituição, algumas medidas estão sendo tomadas pelo Ministério da Saúde visando à promoção da saúde; e uma delas, o transplante de órgãos e tecidos, é alvo deste trabalho.

O transplante de órgãos e tecidos está se consolidando cada vez mais no Brasil. O Sistema Nacional de Transplantes (SNT), órgão do Governo Federal responsável por essa área, busca cada vez mais um maior número de doadores, uma vez que a fila de espera para muitos órgãos é enorme. É comum ver campanhas com propagandas e cartilhas incentivando a doação e esclarecendo dúvidas da população.

A cada ano, mais Bancos são criados e novos estudos são feitos para a disponibilização de órgãos e tecidos para transplantes. Em relação aos órgãos, a quantidade de Bancos e o serviço prestado por eles já está bem definido. Já em referência aos Bancos de Tecidos, com exceção dos Bancos de córnea, ainda é novidade para a maior parte da população. Poucas pessoas sabem da possibilidade de doar, além dos seus órgãos, os ossos, tendões, ligamentos, a pele e as válvulas cardíacas.

Em Minas Gerais não há ainda nenhum banco de tecidos público em operação, com exceção dos Bancos de córnea da Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais e da Universidade Federal de Uberlândia; e mesmo no Brasil a quantidade existente é muito inferior se comparado aos Bancos de órgãos. Alguns exemplos relevantes no Brasil são o Banco de Pele da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre (RS), único no país, e o Banco de Tecidos Musculoesqueléticos do Hospital das Clínicas de Curitiba (PR).

Os benefícios do transplante de tecidos são imensos. A tabela 1, adaptada de Woll (2005) resume esses benefícios.

Tabela 1 - Tecidos e sua indicações

Tecido	Indicação	Benefícios
Ossos	Reconstrução devido a um trauma ou tumor	Cura, melhora da motilidade, Redução da dor
Tecido Cutâneo	Queimaduras	Barreira para infecções, prevenção da perda de fluidos,
Córnea	Edema de Córnea, Ceratocone etc	Evita a cegueira, restauração da visão
Válvulas Cardíacas	Reparo de válvulas danificadas	Não utilização de anticoagulantes, Crescimento normal em crianças
Sangue de Cordão	Doenças hematológicas, anemia, leucemia etc	Reconstituição da medula óssea

Fonte: Woll, 2005 (com modificações).

Para a criação de um Banco de Tecidos, é importante seguir as normas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), uma vez que cuidados são imprescindíveis; desde a seleção do doador aos testes relacionados à saúde e à presença de microrganismos no tecido ou órgão. Esse rigor é importante para a saúde do receptor uma vez que ele se encontra com o sistema imunológico debilitado devido aos procedimentos necessários para o transplante.

Ao longo dos anos, pesquisas relacionadas com órgãos a serem transplantados cresceram e diversificaram muito. No início era comum preocupar-se somente com as doenças transmitidas via sangue, principalmente as causadas por vírus. Exames para constatar a presença do vírus HIV – relacionado à AIDS – são realizados há bastante tempo, enquanto a pesquisa de bactérias e fungos é bastante recente e, ainda, escassa (IRELAND & SPELMAN, 2005).

De acordo com o Banco de Tecidos Musculoesqueléticos de Curitiba, cerca de 23% dos tecidos doados para transplantes são descartados devido à contaminação microbiológica (ALENCAR *et al*, 2007). Estes números se repetem para vários dos outros Bancos de tecidos e órgãos. Tendo esse dado

como base, é importante conhecer mais sobre estes microrganismos e, principalmente, sobre os mecanismos e as fases em que pode ocorrer a contaminação para que seja possível criar medidas para evitá-las e assim diminuir a perda desses tecidos e órgãos doados.

O transplante de órgãos não será o alvo principal deste trabalho, pois a finalidade do estudo é abordar questões referentes à contaminação microbiana dos tecidos a serem transplantados. Quando há uma doação de órgãos, o mais importante é que o órgão esteja viável e exercendo sua função. O transplante é imediato não havendo tempo suficiente para análises microbiológicas.

No caso dos Bancos de Tecidos, além de pele, musculoesquelético e válvulas cardíacas, que serão abordados neste estudo, também existe os Bancos de Sangue Raros (BSR), os Bancos de Sangue de Cordão Umbilical e Placentário (BSCUP) e os Bancos de Medula Óssea (BMO). O BSR tem a função de estocar e fornecer unidades de hemácias fenotipadas raras para transfusão. O BSCUP e o BMO visam disponibilizar unidades de células-troncos hematopoiéticas para o tratamento de pacientes portadores de doenças hematológicas, onco-hematológicas, imunodeficiências, lesões da medula óssea, doenças autoimunes e doenças genéticas. Apesar de também serem considerados Bancos de Tecidos, estes não serão abordados neste trabalho, pois apresentam características muito diferentes dos demais bancos.

Está em implantação em Minas Gerais um projeto público que será o maior Banco integrado de multitecidos da América Latina. Alguns estudos para a criação desse Banco já começaram e o processo de validação do primeiro Banco piloto – o de pele - será abordado neste estudo.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Obter informações qualitativas e quantitativas sobre a contaminação microbiana de tecidos biológicos a serem transplantados, e da implantação do Centro de Tecidos Biológicos de Minas Gerais.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar os principais microrganismos responsáveis pela contaminação e, conseqüentemente, pela perda do tecido.
- Identificar em qual fase do processo existe maior risco de contaminação microbiana e traçar metas para a solução do problema.
- Revisar aspectos sobre o processo de validação do primeiro Banco de Pele (BP) do Estado de Minas Gerais.

3 METODOLOGIA

Para o desenvolvimento da monografia, foram utilizados sites de busca de artigos científicos. Esses artigos englobaram os mais diversos órgãos e tecidos utilizados em transplantes e microrganismos que estão relacionados à sua contaminação. Antes da pesquisa, era esperado que se utilizasse somente artigos mais recentes (posteriores ao ano de 2005), porém isso não foi possível uma vez que a busca mostrou que a quantidade de artigos publicados nesse período não seria suficiente, o que levou a um critério menos rigoroso em relação ao ano da publicação aqui considerada. As palavras chaves utilizadas para a busca foram: tissue contamination, tissue bank, infection in transplantation, tissue microbiology, skin bank, muskuloeskeletal bank, banco de tecidos e transplantes no Brasil.

Além dos artigos, foram utilizadas as informações disponibilizadas por bancos de dados sobre transplantes do Brasil e do mundo. Hoje existem vários Bancos de Tecidos e órgãos pelo mundo e alguns no Brasil, como é o caso do Héma-Québec localizado no Canadá, do Banco de Pele da Santa Casa de Misericórdia localizado em Porto Alegre – Brasil, e do Banco de Tecidos Musculoesqueléticos localizados em Curitiba – Brasil.

Após a busca de artigos e coleta de dados, os resultados foram discutidos e apresentados.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 A DOAÇÃO DE ÓRGÃOS E TECIDOS NO BRASIL

4.1.1 Histórico

São muitas as lendas e histórias sobre os primeiros transplantes de órgãos e tecidos no mundo. A ideia do homem-quimera, ser que possui em seu corpo parte de um outro ser com características genéticas distintas, é bem antiga. Segundo o Dr. Pestana, ex-presidente da Sociedade Brasileira de Transplante de Órgãos e membro do conselho consultivo, em entrevista para a revista “Prática Hospitalar”, existem lendas sobre o assunto nas civilizações mais antigas, principalmente na grega. É o caso das sereias, da Esfinge e do Minotauro.

(><http://www.praticahospitalar.com.br/pratica%2026/paginas/materia%201.html>< acesso em 05 de dezembro de 2010).

Para a comunidade religiosa, o primeiro transplante foi realizado pelos santos católicos São Cosme e São Damião em 348d.C quando retiraram a perna de uma pessoa recém-morta e a colocaram em um homem que havia perdido a perna por causa de uma doença (FIGURA 1). São Cosme e São Damião eram médicos cristãos do século III e até hoje são consagrados por esse ato. O Dia Internacional do Doador de Órgãos é comemorado em 27 de setembro, a mesma data consagrada pelo calendário cristão a São Cosme e São Damião, também considerados os padroeiros dos médicos e farmacêuticos.



Figura 1: Transplante realizado pelos santos São Cosme e São Damião

Fonte: <http://andancaespirita.blogspot.com/2010/09/salve-sao-cosme-e-sao-damiao.html>

O primeiro transplante de órgãos em humanos, certificado pela ciência e com êxito, aconteceu em dezembro de 1954, em Boston, nos Estados Unidos. Um caminhoneiro com problemas renais recebeu um rim de sua irmã e conseguiu sobreviver por mais oito anos. Após essa data, as pesquisas com transplantes aumentaram muito e, cada vez mais, novos órgãos passaram a ser disponibilizados para o procedimento (PÊGO-FERNANDES & GARCIA, 2010).

Dez anos depois, em 1964, médicos brasileiros realizaram o primeiro transplante de rim e após quatro anos, em 1968, transplantes de coração, fígado, intestino e pâncreas foram realizados (PÊGO-FERNANDES & GARCIA, 2010). Ao longo dos anos, com a descoberta de novas técnicas e novos medicamentos, o transplante de órgãos evoluiu e conseguiu superar a maioria das barreiras impostas pelo próprio corpo humano.

Segundo Pêgo-Fernandes e Garcia (2010), a história dos transplantes, quanto à regulação, pode ser dividida em três fases. A primeira vai de 1964 a 1987, período em que o Ministério da Saúde não tinha nenhuma responsabilidade sobre o assunto. A demanda, a coleta e o transplante em si eram de total responsabilidade de cada centro. A segunda fase se inicia em 1987, com a publicação de um plano para o tratamento de pacientes com problemas renais. A partir desse momento, várias medidas foram tomadas pelo Ministério da Saúde e o governo passou a ser responsável pelo controle das listas de espera. Dois grandes passos no processo de evolução das políticas relacionadas a transplantes no país foram a Constituição Federal de 1988, que proibia a venda de órgãos, e a Lei de Transplantes de 1992 (Lei 8.489/92) que regulamentava todas as atividades relacionadas aos transplantes. A criação do Sistema Integrado de Procedimentos de Alta Complexidade (SIPAC) estabeleceu parâmetros para regulamentação e acreditação dos serviços de transplantes brasileiros, gerando mecanismos de controle de qualidade e uma maior segurança para os receptores. Foi nesta época, também, que os procedimentos de transplantes entraram para a tabela de serviços pagos pelo SUS.

Em 1998, iniciou-se a terceira fase com a nova lei de transplantes e com a criação do Sistema Nacional de Transplantes e das Centrais de Notificação, Captação e Distribuição de Órgãos (CNCDOs) nos estados e no Distrito Federal. O financiamento e o controle dos processos de doação e transplante se tornaram de total responsabilidade do Governo Federal e as funções passaram a ser divididas da seguinte forma: o SNT ficou responsável pelas políticas de transplante e contavam com o suporte de grupos específicos para cada tipo de órgão. As CNCDOs cuidavam da logística da doação e do transplante. Visando um maior controle e maior facilidade na distribuição dos órgãos, em 1999 foi criada a Central Nacional de Notificação, Captação e Distribuição de Órgãos (CNNCDO) e, em 2000, a Comissão Intrahospitalar de Doação de Órgãos e Tecidos para Transplantes (CIHDOTT).

Atualmente, todos os estados seguem as características da terceira fase e cursos para treinamento e atualização são realizados para as coordenações de transplantes em cada estado brasileiro.

4.1.2 Situação Atual

A quantidade de doações e transplantes realizados no Brasil oscilou muito desde 1964. Isso pode ser observado na figura 2 publicada pela Associação Brasileira de Transplante de Órgãos (ABTO) em 2010. Houve um crescimento significativo até 2004, mas a partir de 2005 ocorreu uma queda devido a diversos fatores como alterações no SNT, que interrompeu os cursos de treinamento e atualização. Em 2007, medidas para reverter a situação foram tomadas e o número de transplantes voltou a subir. Dois anos depois a taxa de doação era de 8.6 por milhão de população (pmp), o que significa um aumento de 54% comparado com o período anterior (PÊGO-FERNANDES & GARCIA, 2010).

Evolução anual dos transplantes de órgãos (por milhão de população)

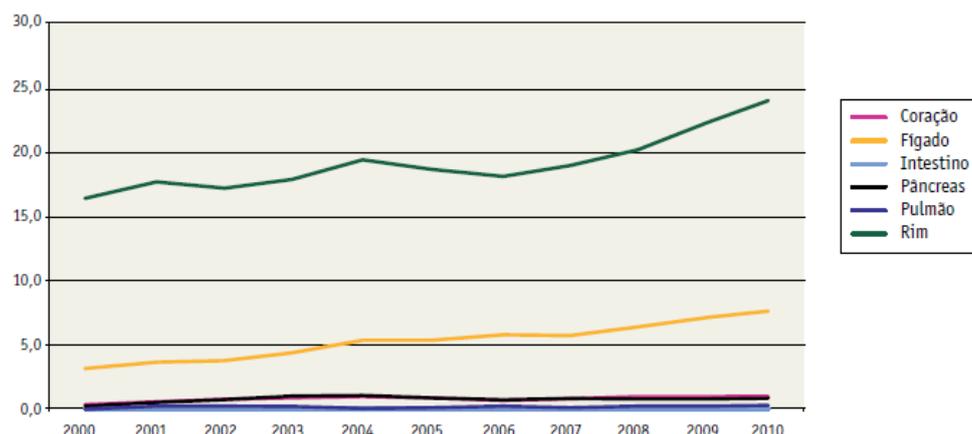


Figura 2 – Evolução anual dos transplantes de órgãos (por milhão de população)

Fonte: ABTO/ 2010

No final de 2010, a ABTO divulgou um relatório parcial contendo informações quantitativas e qualitativas das doações e transplantes de órgãos e tecidos no período de Janeiro a Setembro de 2010. Este é o documento mais atualizado disponível e foi utilizado como referência para este tópico.

Ao analisar o relatório é possível observar que houve um aumento, em relação ao ano anterior, do número de transplantes de fígado, rim, pulmão e córnea. A quantidade de transplantes de coração e pâncreas caiu 12% e 9% respectivamente. O aumento, em geral, da quantidade de transplantes realizados está relacionado com o aumento da taxa de notificação de potenciais doadores que aumentou 6% comparado ao ano anterior e com o aumento da taxa de efetivação da doação que foi de 7%.

O estado de Minas Gerais neste mesmo período (janeiro a setembro de 2010) teve 380 notificações de potenciais doadores de órgãos sendo que destes 130 foram doadores efetivos. Dos 250 não efetivados, 67 foram por não autorização da família, 65 por alguma contra-indicação, 12 por não confirmação da morte encefálica, 99 por parada cardiorrespiratória e 7 por outros motivos. Entre os doadores somente 69 foram doadores de múltiplos órgãos. A quantidade de doação no estado de Minas Gerais só foi inferior ao estado de São Paulo. O Acre seguido de Sergipe e Mato Grosso foram os estados com menor índice de doações.

Apesar do aumento das doações, é importante ressaltar que se o Brasil pretende cumprir as metas de número de doações de 14 pmp em 2013 e 20 pmp em 2017, medidas precisam ser tomadas pelo governo para incentivar as doações (PÊGO-FERNANDES & GARCIA, 2010).

4.1.3 Bancos de Tecidos: Uma nova tendência

Ao contrário do que acontece no resto do mundo, a ideia de Bancos de Tecidos para transplantes ainda não é muito disseminada no Brasil. Com exceção dos Bancos de Córnea existem poucos bancos disponibilizando tecidos para transplantes. Pereira (2000) relata que desde o século XIX cirurgiões plásticos já realizavam autotransplantes de pele e que os primeiros transplantes ósseos do mundo foram feitos em 1881. Segundo Peruzzo e colaboradores (2006), o primeiro transplante de válvulas cardíacas aconteceu em 1948.

De acordo com a Portaria 2.600, de 2009, do Ministério da Saúde: “Bancos de Tecidos são os estabelecimentos de saúde que dispõem de instalações físicas, equipamentos, recursos humanos e técnicas adequadas para identificação e triagem de doadores, captação, processamento, armazenamento e distribuição de tecidos e seus derivados, de procedência humana, de doadores vivos ou cadáveres, para fins terapêuticos e de pesquisa”. São considerados Bancos de Tecidos os Bancos Oculares, Tecidos Cardiovasculares, Tecidos Musculoesqueléticos, Sangue de Cordão Umbilical e Placentário e Pele.

A principal característica que difere a doação de tecidos da doação de órgãos é a possibilidade de uma pessoa que teve uma parada cardíaca no qual não há mais circulação de sangue ser o doador. Os doadores não vivos de órgãos são aquelas pessoas que tiveram somente morte encefálica e com isso os órgãos permanecem viáveis. A doação de tecidos pode ser feita por um doador de morte encefálica e também por um doador de coração parado, ou seja, a quantidade de possíveis doadores é maior.

Em relação aos Bancos de Tecidos atualmente existem apenas alguns bancos em poucos estados brasileiros que não conseguem atender a demanda de todo o país. As tabelas 2 e 3 mostram a quantidade de equipes as quais realizaram transplantes em 2009 e no período de janeiro a setembro de 2010. Observa-se que não há uma quantidade certa de equipes e que esse número está oscilando de um ano para o outro. A quantidade de equipes responsável por alguns tecidos como os ossos aumentou enquanto outras como, a de córnea, diminuiu.

EQUIPES TRANSPLANTADORAS			
Transplante	Equipes Cadastradas	Equipes Ativas em 2009	%
Córnea	389	173	91,5%
Ossos	27	5	2,6%
Pele	6	6	3,2%
Valva Cardíaca	8	5	2,6%
TOTAL	430	189	100,00%

Tabela 2 – Equipes que realizaram transplantes de tecidos em 2009

Fonte – ABTO/2009

Tecidos	EQUIPES QUE REALIZARAM TRANSPLANTES NO PERÍODO
Córnea	164
Ossos	42
Pele	11
valva cardíaca	4
TOTAL	221

Tabela 3 – Equipes que realizaram transplantes de tecidos período de janeiro a setembro de 2010

Fonte – ABTO/2010

A figura 3, que apresenta a evolução anual dos transplantes de tecidos no Brasil, confirma o relatado anteriormente: a não disseminação da doação de alguns tecidos no Brasil. No caso da pele pode-se observar que existe um baixo número de transplantes, entretanto, não existe nenhuma justificativa para este dado, a não ser pela falta de doação e pela falta de Bancos. Se compararmos a doação de pele com a de coração, por exemplo, pode-se dizer que a de pele é muito mais simples de acontecer visto que o tecido cutâneo pode ser coletado de doador de coração parado e não existe teste de compatibilidade. Não é preciso que o receptor tenha as mesmas características que o doador. Um ponto que pode justificar a pequena quantidade de Bancos de pele até 2009 é o não ressarcimento das atividades pelo SUS. Os Bancos

de pele só foram incluídos na tabela de habilitação com a portaria 2.620, de outubro de 2009.

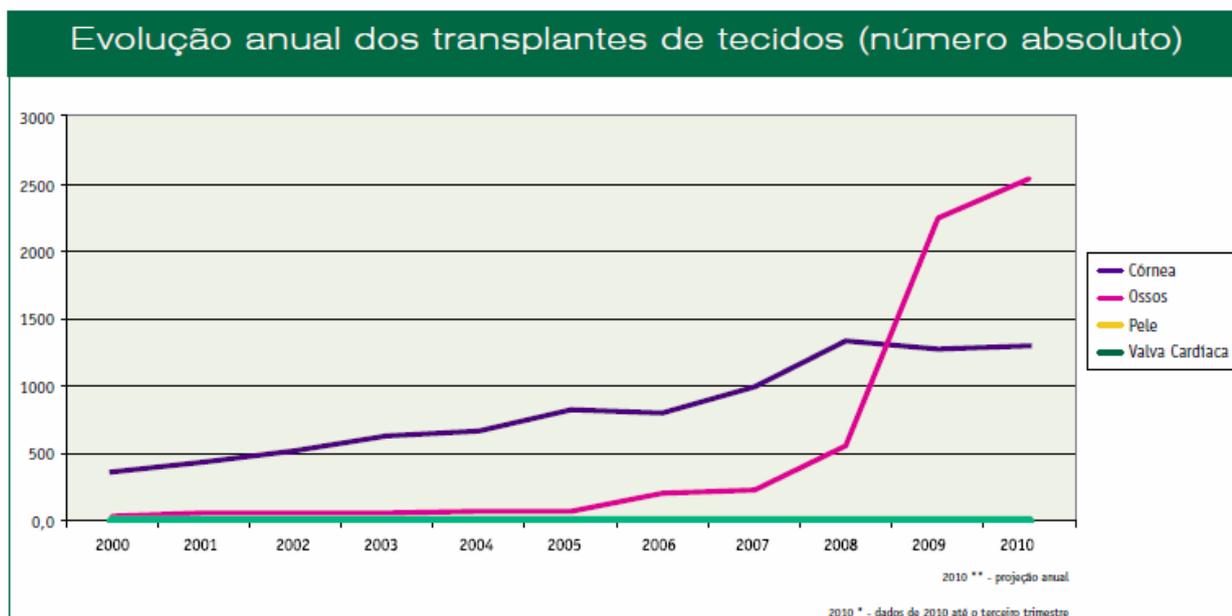


Figura 3 – Evolução anual dos transplantes de tecidos no Brasil
Fonte – ABTO/2010

Observa-se na figura 3 que o transplante de ossos tem crescido muito nos últimos anos e tende a crescer cada vez mais. Esta tendência pode estar relacionada ao fato de que os enxertos autólogos de tecidos musculoesqueléticos possuem algumas desvantagens de uso e obtenção, tornando cada vez mais comum a utilização de enxertos homólogos, obtidos de doadores vivos e não vivos. Estes podem ser aplicados em cirurgias de ressecção de tumores, recuperação de traumas, cirurgias de coluna, além de procedimentos cirúrgicos ortopédicos ou odontológicos que necessitem de substituição ou cicatrização (Granjeiro et al., 2009). Constituem os tecidos musculoesqueléticos os ossos, tendões, ligamentos, meniscos, fâscias e cartilagens (Portaria MS 2.600/09). Dentre os benefícios de sua utilização estão a diminuição do tempo de cirurgia e anestesia, arrefecimento da perda sanguínea, redução das potenciais complicações relativas ao local da doação de auto-enxertos, redução de lesões vasculares e nervosas, da instabilidade da articulação sacro-ilíaca, da deformidade cosmética e da dor crônica atribuída aos locais de doação autóloga (Drumond, 2000).

Outra tendência que se observa no Brasil é que os Bancos de córnea são uma exceção em relação aos Bancos de Tecidos. Essa é uma prática que já está bem definida no país e os estados de São Paulo e Minas Gerais são os que apresentam maior quantidade de transplantes (ABTO, 2010). Pouco se conhece sobre Bancos de Válvulas Cardíacas (BVC) no Brasil. Existem três Bancos em pleno funcionamento no Brasil, Curitiba, Distrito Federal e Pernambuco, sendo o último estado responsável pela maior quantidade de transplantes.

As válvulas ou valvas cardíacas provenientes de Bancos são utilizadas no Brasil desde 1962 em cirurgias de transplantes. Elas possuem inúmeras vantagens em relação às próteses utilizadas, isso ocorre, pois apresentam um melhor desempenho hemodinâmico fisiológico, dispensam o uso de anticoagulantes e são mais resistentes à infecções (COSTA *et al*, 2005).

Com a criação do Centro de Tecidos Biológicos de Minas Gerais (CETEBIO), o estado contará com o primeiro centro de multitecidos do Brasil e o maior da América Latina. Esse centro, que será descrito no capítulo 5, trará alternativas para o tratamento de diversas enfermidades, melhorando a saúde pública do estado e do Brasil.

4.2 A MICROBIOLOGIA DOS TECIDOS DOADOS E AS LEGISLAÇÕES

4.2.1 Legislações internacionais

4.2.2.1 FDA

A *Food and Drug Administration* (FDA) é uma agência do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos responsável por proteger a saúde pública. A FDA controla todos os produtos biológicos, medicamentos, cosméticos e qualquer outro que possa ter interferência na saúde humana visando sempre a segurança das pessoas. A agência é responsável, também, pelo desenvolvimento da saúde pública buscando inovações na produção de medicamentos e alimentos.

Entre os inúmeros códigos de regulação propostos pela FDA, existe um específico para tecidos humanos – *Title 21, Part 1271 Human Cells, Tissues, and Cellular and Tissue-based Products*. Este código estabelece parâmetros para o registro de atividades e produtos relacionados aos tecidos. Muitas das informações descritas são semelhantes às informações da *American Association of Tissue Banks* (AATB), uma vez que as atividades desenvolvidas pela AATB devem ser registradas pelo FDA. O que difere uma da outra é que os códigos do FDA relatam o que deve ser feito e os manuais da AATB como deve ser feito. Baseando-se nisso, para o conhecimento e criação de um Banco de Tecido no Brasil é importante a leitura dos dois, mas principalmente dos manuais da AATB.

Em relação à microbiologia dos tecidos humanos, todas as diretrizes e obrigações serão descritas no item a seguir uma vez que a AATB aborda com mais detalhe cada questão.

4.2.2.2 AATB

A *American Association of Tissue Banks* é uma organização profissional, científica e educacional fundada em 1976 por um grupo de médicos e pesquisadores que criaram o primeiro Banco de Tecidos dos Estados Unidos. Hoje, é a única instituição que trata de tecidos biológicos nos Estados Unidos e é responsável pela acreditação de mais de 100 Bancos de Tecidos e possui mais de 1000 membros.

Os Bancos acreditados pela AATB captam tecidos de mais de 30.000 doadores e esses tecidos são utilizados em mais de dois milhões de cirurgias de transplantes por ano nos Estados Unidos. Buscando a qualidade dos tecidos, desde o início, a AATB se preocupou com os procedimentos utilizados e publicou diversas diretrizes para o funcionamento dos Bancos de Tecidos que foram sendo atualizadas ao longo dos anos. O “Standards for Tissue Banking” está na décima segunda edição e foi utilizado, junto aos demais manuais da AATB, como referência para este capítulo. Vale ressaltar a

importância dessas normas e manuais para a comunidade internacional, sendo considerados os mais completos e detalhados do mundo.

Um dos tópicos principais abordados nos manuais da AATB é em relação à microbiologia do doador e dos tecidos doados. Existem diretrizes para cada tipo de tecido e para cada procedimento. Todos eles serão descritos a seguir. Vale ressaltar que neste capítulo será focada a legislação que aborda a possível contaminação por microrganismos; as técnicas do procedimento e de assepsia serão tema do item 4.3.2.

O primeiro ponto a ser analisado quando existe um potencial doador é a sua sorologia. Antes de se iniciar o exame clínico e o histórico social e médico, é preciso verificar o resultado dos testes sanguíneos. A coleta de sangue pode ser realizada até sete dias antes ou depois da doação e testes para as seguintes doenças precisam ser feitos:

- HIV 1/2 (Anticorpo e NAT)
- Hepatite B (HbsAg, Anti-HBc, IgG, IgM)
- Hepatite C (Anti-HCV e NAT)
- HTLV 1/2
- Sífilis

Os testes de sorologia devem ser realizados em duplicata. Se o resultado de ambos for não reagente, a amostra é considerada não reagente, porém se o resultado de um for reagente, a amostra é considerada reagente. Um ponto importante quanto à sorologia é a hemodiluição. Este tópico tem sido bastante estudado e é considerado um dos maiores vieses para erro durante o processo. Segundo o Title 21 da FDA hemodiluição é a diminuição da concentração das proteínas e dos anticorpos e antígenos circulantes no plasma. Ela é resultante da transfusão de sangue ou de seus derivados e pode ocasionar resultados falso-negativos.

Após os resultados da sorologia, os médicos podem prosseguir com a triagem do doador. A maioria dos profissionais da área considera essa fase a principal, pois ela deve ser feita com muito cuidado e é onde existe a maior possibilidade de erros. A teoria do “Queijo Suíço” proposta por Reason (2000) (FIGURA 4) retrata exatamente a vulnerabilidade de algumas técnicas. Por mais que a triagem seja bem feita, existem riscos de infecção por microrganismos e se tratando da saúde de um receptor essas chances precisam ser mínimas. Qualquer indício de uma possível infecção deve ser documentado, como placas na garganta e manchas na pele. A AATB desenvolveu um formulário para triagem e exame clínico do doador que pode ser visto no item 4.3.2.1. A princípio pode parecer um pouco exagerado, porém ao estudar a causa de contaminações de tecidos a importância desse formulário fica clara.

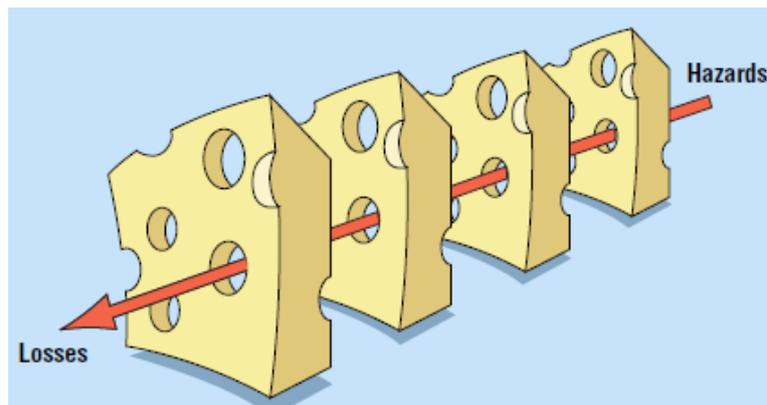


Figura 4 – Teoria do Queijo Suíço

Fonte: Reason, 2000

A coleta, processamento e o armazenamento podem se diferenciar bastante de um tecido para outro. Existem parâmetros para cada um deles, mas alguns aspectos como a importância do controle de microrganismos no ambiente e a utilização de materiais estéreis são comuns para todos.

O organograma a seguir (FIGURA 5) ilustra resumidamente o que acontece com os tecidos musculoesqueléticos e válvulas cardíacas na presença de microrganismos. Todos os lotes precisam ser testados e os resultados devem ser documentados e revisados pelo responsável médico.

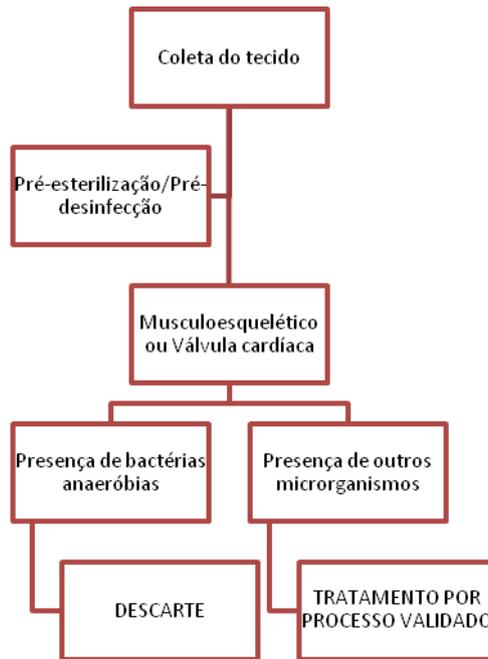


Figura 5 – Organograma: Destino de tecidos musculoesqueléticos e válvulas cardíacas na presença de microrganismos
 Fonte: AATB (adaptado)

Em relação ao tecido cutâneo, não existem microrganismos específicos no pré-processamento. A presença de microrganismos considerados patogênicos e muito virulentos ocasionam o descarte do tecido, a não ser que o banco possua tratamento validado para os microrganismos em questão. Após o processamento e antes de ser embalado, um novo teste para detecção de microrganismos precisa ser feito. O tecido cutâneo não deve ser disponibilizado para transplante se o resultado microbiológico for positivo para:

- *Streptococcus pyogenes* (grupo A strep);
- *Staphylococcus aureus*;
- *Enterococcus sp.*;
- Bacilos Gram negativos;
- *Clostridium sp.*;
- Fungos filamentosos ou leveduras

Culturas para crescimento de microrganismos devem ser feitas em todos os tecidos antes da sua liberação para transplante. É preciso levar em conta os diferentes tipos de microrganismos e o cuidado com os meios de cultura é fundamental. Todo microbiologista deve saber a importância da qualidade dos meios de cultura no momento de liberar um resultado positivo ou negativo.

4.2.3 Legislações nacionais

A portaria 2.600, de 21 de Outubro de 2009, é a principal legislação brasileira sobre transplante de tecidos e órgãos. No capítulo VII “Dos Bancos de Tecidos” estão todas as informações que um Banco de Tecidos deve seguir inclusive sobre a microbiologia do doador e dos tecidos.

Em concordância com as legislações internacionais, antes da retirada do tecido é preciso coletar amostras de sangue para exames sorológicos. Essa coleta deve ser realizada no máximo 72h antes da parada da circulação e até 12h após a parada cardíaca se o corpo for mantido em temperatura ambiente e 24h se refrigerado à 4°C. Um resultado positivo para qualquer um dos testes, exceto toxoplasmose e citomegalovírus (CMV), exclui a doação. Embora não seja critério de exclusão, não é recomendado o uso de tecidos de doadores com toxoplasmose ou CMV em pacientes imunossuprimidos. Uma alíquota de sangue do doador deve ser armazenada por vinte anos para pele e tecido musculoesquelético e por seis meses para válvulas cardíacas. Os seguintes testes precisam ser feitos:

- Hepatite B (HBsAg e anti-HBc total)
- Hepatite C (anti-HCV)
- HIV 1/2 (anti-HIV 1/2)
- Doença de Chagas (anti-T.cruzi)
- Sífilis
- HTLV 1/2 (anti- HTLV 1/2)

- Toxoplasmose (anti- toxoplasma IgG e IgM)
- Citomegalovírus (anti-CMV IgG e IgM)

No doador cadáver, os resultados negativos para HIV e HCV devem ser comprovados com algum teste molecular como o teste do Ácido Nucléico (NAT). O NAT é considerado, hoje em dia, o padrão ouro para detecção de infecções virais por diminuir o período de janela imunológica (em comparação aos outros testes). O teste investiga a presença do material genético do vírus tendo como base a reação em cadeia da polimerase (GARCIA, *et al* 2008; LAJOLO, JUNIOR & JUNIOR, 2008).

Em relação à infraestrutura, o local da retirada de tecidos deve permitir a técnica de assepsia e antissepsia pertinente a um ato operatório. Todos os materiais e insumos utilizados devem ser estéreis. Para o processamento o Banco de Tecido deve contar com sistema de acondicionamento de ar de classificação mínima ISO 7 e área para manipulação dos tecidos com classificação ISO 5. O acesso deve ser feito por antecâmara e os materiais e insumos através de caixas de passagem. É necessária a existência de um lavabo cirúrgico em área contígua à sala de processamento e de um espaço diferenciado reservado para o tecido liberado e o tecido não liberado.

Antes de qualquer processamento, é preciso haver a retirada de amostras do tecido para exames microbiológicos. Patógenos aeróbios, anaeróbios e fungos devem ser pesquisados. Durante todas as etapas, o operador precisa estar com paramentação estéril e os processos de esterilização complementares devem ter eficiência comprovada por indicadores microbiológicos.

No final do processamento do tecido, no momento da embalagem final outra análise microbiológica deve ser feita. Essa análise também deve abordar patógenos anaeróbios, aeróbios e fungos.

Existem outras legislações que abordam o tema, porém a portaria 2.600 é a que enfoca assuntos referentes à microbiologia do doador e do tecido. A portaria 482/99 "Procedimentos de instalação e uso do gás óxido de etileno e

suas misturas em unidades de esterilização” trata de um método de esterilização que será abordado no item 4.3.4.

4.3 BANCOS DE TECIDOS E A CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA

4.3.1 *A experiência internacional*

4.3.1.1 *Héma-Québec – Canadá*

Criado em 1988, o Héma-Québec é uma organização nacional e demonstrou, desde o início, preocupação com a qualidade e segurança dos produtos ofertados. Este serviço segue, criteriosamente, todas as leis do Canadá e ainda é acreditado pela AATB. A cada três anos, a AATB audita a instituição e, exige que relatórios sejam respondidos todos os anos.

O Héma-Québec foi desenvolvido, primeiramente, com o intuito de ser um Banco de sangue, mas em 2001 observou-se a necessidade de expandir os produtos e incluir a disponibilização de tecidos biológicos entre as atividades do Banco. Ao longo dos últimos dez anos novos testes que visavam a qualidade do sangue e dos tecidos ofertados foram incluídos na rotina do Banco; e hoje, todos os testes exigidos pelas legislações são feitos na tecnologia mais avançada (como o uso do NAT para a pesquisa de infecções virais).

O Héma-Québec disponibiliza um relatório anual que aborda dados quantitativos e qualitativos de todos os processos realizados pelo Banco. A última versão (Annual Report 2009 – 2010) foi utilizada como referência para os próximos tópicos.

O número de doações de tecidos biológicos, exceto córnea, teve um aumento de 25% se comparado com o ano anterior (2008-2009). Esse aumento pode estar relacionado a medidas de divulgação adotadas pelo banco e à maior conscientização da população sobre o assunto.

Um ponto importante é a quantidade de tecidos, exceto córnea, distribuídos para transplantes. Em 2009-2010 foram 2.225, sendo que em

2008-2009 foram 1.966. Esse valor está, obviamente, relacionado ao aumento do número de doações, mas está vinculado, principalmente, à diminuição do descarte dos tecidos devido à contaminação por microrganismos. As tabelas 4 e 5 extraídas na íntegra do relatório anual disponibilizado pelo Héma-Québec mostram a porcentagem de contaminações durante o período 2009-2010 e no período de 2008-2009, respectivamente.

QUALITY CONTROL OF HUMAN TISSUES			
TYPE OF PRODUCT	TESTS PERFORMED	NUMBER OF PRODUCTS TESTED	% UNACCEPTABLE MICRO-ORGANISMS
SKIN TISSUE	Pre-treatment microbiological culture	127	1.6%
	Post-treatment microbiological culture	124	0.8%
MUSCULOSKELETAL TISSUE	Pre-treatment microbiological culture	401 ¹	1.0%
	Post-treatment microbiological culture	264 ¹	0.0%
HEART TISSUE	Pre-treatment microbiological culture	91	14.3%
	Post-treatment microbiological culture	91	26.4% ²

Tabela 4 – Controle de Qualidade de Tecidos Humanos 2009-2010
 Fonte: Relatório Anual Héma-Québec / Canadá

QUALITY CONTROL OF HUMAN TISSUES			
TYPE OF PRODUCT	TESTS PERFORMED	NUMBER OF PRODUCTS TESTED	% UNACCEPTABLE MICRO-ORGANISMS
SKIN TISSUE	PRE-TREATMENT MICROBIOLOGICAL CULTURE	77	1.0%
	POST-TREATMENT MICROBIOLOGICAL CULTURE	77	3.0%
MUSCULOSKELETAL TISSUE	PRE-TREATMENT MICROBIOLOGICAL CULTURE	416 ¹	2.8%
	POST-TREATMENT MICROBIOLOGICAL CULTURE	375 ¹	0.5%
HEART TISSUE	PRE-TREATMENT MICROBIOLOGICAL CULTURE	64	9.0%
	POST-TREATMENT MICROBIOLOGICAL CULTURE	64	36.0% ²

Tabela 5 – Controle de Qualidade de Tecidos Humanos 2008-2009
 Fonte: Relatório Anual Héma-Québec / Canadá

Existem dois dados para cada tipo de tecido: porcentagem referente à contaminação por microrganismos não aceitáveis antes do tratamento/processamento e após o tratamento/processamento. Como relatado anteriormente, esses microrganismos são definidos pela AATB e legislações locais. Os valores referentes à contaminação no pré-processamento não devem ser levados em conta com relação a qualidade do tratamento/processamento. Sabe-se que inúmeros fatores podem influenciar esse dado. Condições do ambiente de coleta e do próprio doador podem resultar em um resultado positivo. Este tópico será abordado detalhadamente no item 4.3.2.2. Já o valor pós-processamento está relacionado às técnicas de manipulação do tecido e requer uma atenção especial.

Em 2009-2010, a porcentagem de tecido cutâneo contaminado foi de 0,8% enquanto em 2008-2009 foi de 1,0%. Isso sugere uma queda, que por menor que pareça, significa uma maior quantidade de pele a ser disponibilizada para transplante. Em relação ao tecido musculoesquelético, houve uma queda de 0,5% chegando a 0,0% em 2009-2010. Fato de alta relevância já que indica que as condições de manipulação e armazenamento estão perfeitas. Os dados referentes às válvulas cardíacas são muito altos se comparados aos demais tecidos. Apesar da redução de 36,1% para 26,4%, a quantidade de tecido descartado continua alta. Esses valores estão, possivelmente, relacionados à falta de prática na manipulação dessas peças biológicas. O Banco de Válvulas Cardíacas foi o último a ser criado pelo Héma-Québec e pesquisas ainda estão sendo feitas para aprimorar o processamento e armazenamento das peças.

Os dados apresentados pelo Héma-Québec e as informações encontradas sobre o banco retrata um Banco de Multitecidos que preza pela excelência e que a cada ano melhora suas atividades. Ao criar um Banco de Multitecidos no Brasil é importante ter como referência experiências como a do Candá e sempre priorizar a qualidade do tecido ofertado.

4.3.2 Etapas do processo e o risco de contaminação microbiológica

4.3.2.1 Exame clínico e triagem do doador

Considerada pela AATB como um dos pontos críticos de um Banco de Tecidos, a etapa de triagem do doador, seguida do exame clínico, envolve a coleta de informações relevantes sobre o potencial risco de transmitir doenças de um doador. Uma boa triagem irá filtrar os doadores de modo que seja descartado menos tecido devido à contaminação.

O exame clínico e a triagem do doador são divididos nas seguintes partes:

- Exame físico: deve ser feito em todos os possíveis doadores para avaliar evidências que possam sugerir infecções por HIV, hepatites e outras bactérias e vírus.
- Histórico médico, social e sexual: deve ser feito baseado nas informações dadas por um parente próximo, informações do prontuário e da equipe responsável pelo atendimento do doador. Essas informações devem ser coletadas a partir de um questionário desenvolvido pelo Banco. No questionário, precisam estar presentes informações que indiquem comportamento sexual de risco, infecções e doenças que o doador já teve e o período em que ele teve, consumo de álcool e drogas, doenças genéticas na família, exposição a agentes químicos e radiação, além das informações básicas do doador e da pessoa que respondeu o questionário.
- Triagem sorológica: é obrigatória a realização de exames laboratoriais de acordo com as legislações vigentes.

Visando uma padronização dessa etapa, foi desenvolvido pela AATB um formulário que engloba, entre outras informações, indícios de uma possível infecção ou septicemia. Destacados na figura estão tópicos que podem sugerir uma infecção e que muitas vezes não são considerados (FIGURA 6).



Sample Tissue Donor Physical Assessment Form

Identification

Name stated on Consent (Authorization): _____

Age: _____ days months years Recovery Agency ID#: _____

Sex/gender: Male Female Race: _____ ID#: _____

Weight: _____ lbs. kgs Weight is: estimated/team, reported (source: _____), actual

Height: _____ ft. in. cm. Height is: estimated/team, reported (source: _____), actual

Manner identified by: hospital ID band, toe tag, other (describe) _____

Identification Band/Tag

ID re-created as closely as possible,

or circle N/A (if not present).



Personnel confirming donor identification: _____ Date/time: _____

Evidence of Donation/Autopsy

Eye donation: whole eyes, corneas only, N/A; Organ donation: Yes No UNOS#: _____

Autopsy: tissue recovery is pre, or post autopsy (full, limited); no autopsy planned; or, plan unknown

Recovery Team Assessment:

Is there evidence of:

Jaundice _____ Yes _____ No

Genital lesions _____ Yes _____ No

Enlarged lymph nodes _____ Yes _____ No

Tattoo/piercing _____ Yes _____ No

White spots in the mouth _____ Yes _____ No _____ Unable to visualize

Non-medical injection sites _____ Yes _____ No

Enlarged liver (hepatomegaly) _____ Yes _____ No

Insertion trauma/perianal lesions _____ Yes _____ No

Rash/scab/skin lesion (non-genital) _____ Yes _____ No

Blue/purple (gray/black) spots/lesions _____ Yes _____ No

Trauma/infection to potential retrieval sites _____ Yes _____ No

Abnormal ocular finding (e.g., icterus, scarring) _____ Yes _____ No _____ Unable to visualize

Notes/Explain if "unable to visualize", or if any answers are "Yes": _____

General Appearance

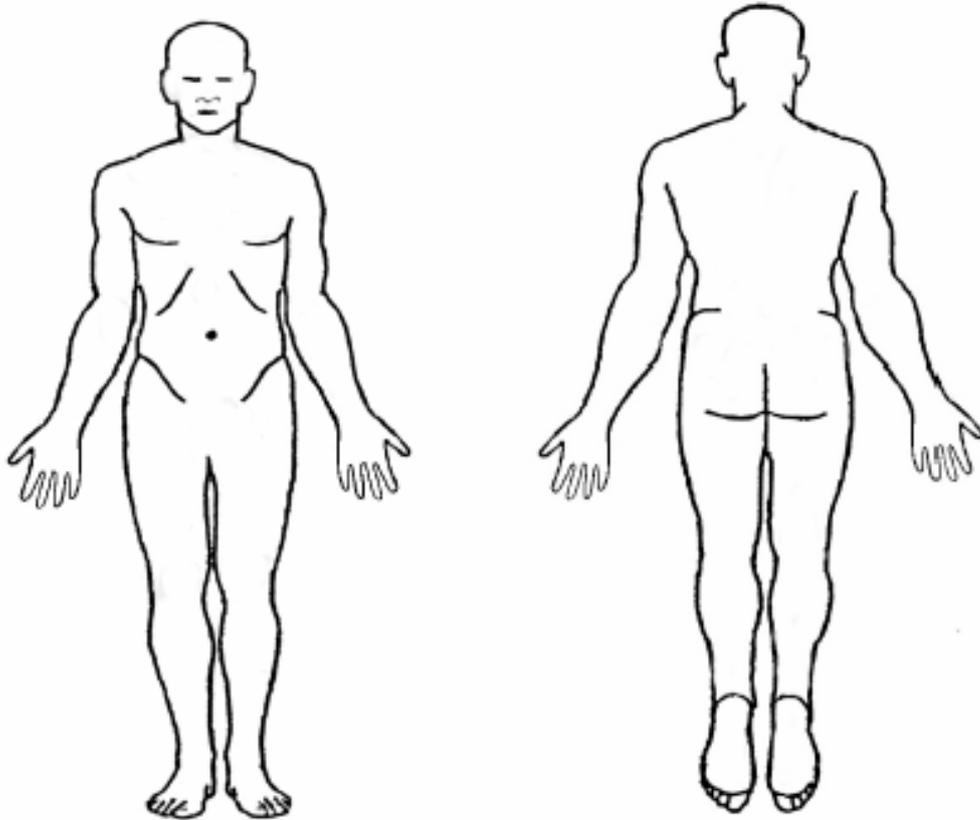
Cleanliness: Good Poor; Describe if "poor" _____

Personnel performing physical assessment: _____ Date/time: _____

Name of Person Completing Form (Print) _____ Signature _____ Initials _____ Date _____

AATB Sample Tissue Donor Physical Assessment Form
 Recovery Agency ID#: _____

Recovery Team Assessment: (continued)



Key to schematics:

- | | | |
|--------------------------|--|-----------------------------------|
| (A) Abrasion | (J) Team blood draw site | (T) Tattoo – requires description |
| (B) Bruise/Contusion | (L) Laceration/Wound | (U) Urethral catheter |
| (C) Cast/Ortho device | (M) ID band/tag | (V) Skin lesion |
| (D) Dressing/Bandage | (N) Needle entry site | (W) Scab |
| (E) ET tube/NG tube | (O) Organ recovery incision | () _____ |
| (F) Fracture/Dislocation | (P) Body Piercing – requires description | () _____ |
| (H) Hematoma | (R) Rash | () _____ |
| (I) IV/Arterial line | (S) Scar (surgical/trauma) | () _____ |

Summary

A review of available medical records & physical assessment findings were completed & found to be acceptable/not acceptable prior to recovery. _____

(Circle one)

(Responsible person)

(Date/time)

Figura 6 – Formulário de Exame Físico
 Fonte: AATB

4.3.2.2 Coleta

A coleta do tecido a ser transplantado é a fase sobre a qual o Banco possui menos controle e por isso não precisa ser validada. São inúmeras as variáveis presentes nessa etapa, como o local da coleta, as condições do ambiente e a equipe do local.

Várias ações podem ser adotadas visando evitar a contaminação do tecido durante a coleta. A primeira delas é a utilização de materiais esterilizados a partir de uma metodologia já validada. A segunda é a paramentação cirúrgica. Segundo Paz *et al* (2000), paramentação cirúrgica é um conjunto de medidas que impedem a contaminação microbiana de sítios cirúrgicos e protegem as pessoas que estão trabalhando de possíveis contatos com material contaminado.

Apesar do controle dos materiais e insumos feito pelos Bancos, alguns aspectos não conseguem ser controlados. Na maioria dos casos a doação é feita no ambiente cirúrgico dos hospitais. Esse mesmo ambiente é utilizado em diversas cirurgias e a circulação de pessoas é alta. Silva e colaboradores (2002) estudaram os centros cirúrgicos e a microflora presente nas salas de cirurgia dos hospitais de Uberlândia/ Minas Gerais. Com os estudos, eles encontraram principalmente a presença de *Staphylococcus spp* e *Micrococcus spp* e concluíram que a contaminação ambiental foi menor nas salas com sistema de ar condicionado. Ressaltaram a importância do uso de filtro microbiológico que estava presente em somente um hospital.

Além das diversas variáveis que, muitas vezes, podem ser controladas existe um ponto que é independente de qualquer cuidado: a microbiota normal do doador. Ibrahim *et al* (2004) pesquisaram os microrganismos presentes no sangue e no tecido de doadores. As amostras de sangue foram semeadas em placas com ágar e um teste microbiológico feito com o auxílio de um *swab* foi utilizado para os tecidos. O *swab* era passado em todo o tecido e semeado em meios de cultura específicos. Em 37% das amostras de sangue foram encontrados microrganismos. Os mais comuns foram *Staphylococcus spp* e

Streptococcus sp. Os microrganismos do gênero *Staphylococcus* também foram os mais presentes nos tecidos seguido de *Bacillus spp.*

Outro ponto que favorece a contaminação durante a doação é a ordem da retirada dos tecidos e órgãos. Quando há doação de órgãos, os tecidos são os últimos a serem retirados. O tempo de retirada dos órgãos varia muito (dependendo dos órgãos a serem doados) e pode chegar até a cinco horas. Nesse tempo a manipulação do doador é excessiva, o que favorece a contaminação.

No momento da coleta, os tecidos coletados são divididos em lotes. Esse procedimento é realizado para evitar contaminações cruzadas. A partir desse momento, todas as atividades são realizadas individualmente para cada lote. Esse procedimento evita que todo o tecido de um doador seja descartado. A contaminação de uma parte (lote) não significa a contaminação de outra.

Durante a coleta, muitos profissionais utilizam a clorexidina para descontaminação de superfícies (inclusive para a antisepsia do doador). A clorexidina é um composto químico (Digluconato de Clorexidina) que age nas membranas citoplasmáticas das bactérias ocasionando perda de moléculas vitais para o microrganismo. Bambace *et al* (2003) fizeram uma pesquisa onde linhagens de diferentes bactérias e fungos foram semeadas em superfícies de couro, fórmica e aço inoxidável e depois desinfetadas com clorexidina em diferentes concentrações. Os resultados indicaram que as cepas de *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* foram as mais resistentes e as soluções de clorexidina a partir de 1% são mais eficazes. Pode-se concluir a partir desse trabalho que a solução de clorexidina, principalmente a 5%, é muito eficaz na desinfecção de superfícies e deve ser mantida como procedimento.

4.3.2.3 *Processamento e armazenamento*

De acordo com a FDA, a etapa de processamento engloba qualquer atividade relacionada ao tecido que não seja a triagem do doador, exames sorológicos, armazenamento, rotulagem e distribuição do tecido. As técnicas de

esterilização, os testes microbiológicos e o tipo de preservação e preparo entram nessa etapa.

Existem diversas metodologias para processar um tecido. Todas elas buscam a qualidade, segurança e a prevenção de contaminação (WOLL, 2005). Ao longo dos anos, novas pesquisas são feitas buscando métodos mais eficazes. Segundo Wang e colaboradores (2007), o principal responsável pelo aumento de transplantes nos Estados Unidos a partir de 2004 foi o desenvolvimento de novas técnicas de processamento, incluindo métodos de desinfecção do tecido.

Todas as atividades de processamento são feitas em salas limpas para evitar a contaminação dos tecidos. Abreu e colaboradores fizeram uma pesquisa em 2003 sobre a incidência de microrganismos nesses ambientes. Os microrganismos encontrados com mais frequência foram *Bacillus spp*, *Staphylococcus spp* e *Corynebacterium sp*. Após o trabalho, os pesquisadores concluíram que a presença de microrganismos em ambientes convencionalmente assépticos pode estar relacionada a diversos fatores entre eles a circulação de pessoas, os métodos de limpeza e a velocidade do ar.

Existem diversas metodologias para o processamento dos tecidos. Elas podem variar para o mesmo tecido e para tecidos diferentes. Independente da metodologia escolhida, cada lote é processado em momentos separados e com materiais diferentes. Para cada lote são feitas as análises microbiológicas pertinentes.

Uma metodologia muito usada para a primeira análise microbiológica dos tecidos é a o teste do *swab*. Esse teste consiste em passar um *swab* estéril por toda a superfície do tecido e colocá-lo em um tubo com meio de cultura para transporte. Em seguida, a amostra é semeada em meios de cultura específicos determinados pelo Banco e o crescimento microbiano é observado. Essa técnica é utilizada logo após a coleta e antes de qualquer processamento do tecido ou tratamento com antimicrobiano. Muitos pesquisadores criticam essa técnica por ela ter várias limitações, sendo pouco sensível e pouco reprodutível (RONHOLDT & BOGDANSKY, 2005; DENNIS *et al*, 2009).

Geralmente o processamento do tecido só inicia após o resultado do teste do *swab*.

Para o tecido cutâneo, a metodologia de processamento mais utilizada é a preservação em Glicerol. Existem variações nessa técnica. Cada Banco, ao longo dos anos, foi alterando a sua metodologia na busca de melhores resultados. Apesar das diferenças, a técnica consiste em colocar o tecido cutâneo em diferentes concentrações e temperaturas. A seguir, um resumo das etapas de um processamento de pele. Essa metodologia é usada pelo Banco de Pele da Santa Casa de Porto Alegre e será utilizada pelo Banco de Pele do Centro de Tecidos Biológicos de Minas Gerais.

- Imediatamente após a coleta

Realizar teste do *swab* e colocar o tecido em Glicerol 50% com os antimicrobianos Penicilina e Estreptomicina.

Armazenar em refrigerador 4°C. Duração: até 72 horas.

- Fase I

Retirar o tecido do Glicerol 50%;

Lavar o tecido com Cloreto de Sódio;

Massagear o tecido com as mãos usando luvas estéreis ou com o auxílio de gaze estéril;

Retirar pequenos pedaços do tecido para análise microbiológica;

Colocar o tecido em Glicerol 85%;

Aquecer o tecido em banho-maria a 37°C por 3h e armazenar em refrigerador 4°C.

Duração: 21 dias

- Fase II (após liberação das análises microbiológicas)

Retirar o Glicerol 85%;

Massagear o tecido;

Retirar pequenos pedaços do tecido para análise microbiológica;

Colocar o tecido em Glicerol 85% (novo);

Aquecer o tecido em banho-maria a 37°C por 3h e armazenar em refrigerador 4°C.

Duração: 21 dias

- Fase III

Retirar o Glicerol 85%;

Secar o tecido com gaze estéril;

Retirar pequenos pedaços do tecido para análise microbiológica;

Medir o tecido;

Colocar na embalagem final e armazenar em refrigerador 4°C.

Duração: após os resultados das análises microbiológicas, os tecidos estão liberados para transplante.

O que, geralmente, difere uma técnica da outra é o tempo de exposição ao Glicerol e o número de etapas do procedimento. O Glicerol na concentração 85% foi utilizado em todos os experimentos apresentados nos artigos estudados.

Essa técnica permite o armazenamento por um período de até dois anos. As células da pele alógena preservadas em solução de Glicerol 85% mantêm as propriedades estruturais e mecânicas importantes para constituição de uma cobertura biológica ideal (SAEGEMAN et al 2008). A preservação da pele em Glicerol tem como principal atividade a imobilização das moléculas de água, não permitindo assim, atividades como crescimento microbiano, reações hidrolíticas e de oxidação, entre outras (KEARNEY, 2005).

As propriedades antimicrobianas do Glicerol são pesquisadas há muitos anos. Estudos feitos por Baare *et al* (1998) e Saegeman *et al* (2008) comprovaram a eficiência deste composto contra bactérias e vírus. O Glicerol penetra nas células das bactérias por difusão fazendo com que a pressão osmótica aumente. Isso causa enfraquecimento da membrana e conseqüentemente lise da parede da célula. Como o modo de ação é através das paredes das bactérias, as Gram positivas apresentam maior resistência.

Fatores como a concentração do Glicerol e a temperatura em que os tecidos são expostos quando estão no Glicerol interferem na atividade antimicrobiana. Após os estudos, os autores concluíram que o Glicerol possui efeito inibitório para microrganismos, mas não pode ser considerado como uma fonte de esterilização. Vale ressaltar que os esporos das bactérias são resistentes a essa metodologia.

Contaminações em lotes de tecidos cutâneos ocorrem rotineiramente em Bancos de Pele, tanto nacionais (FAURI *et al*, 2009) quanto internacionais (BAARE *et al*, 1998; LINDFORD *et al.*, 2010). Conforme dados do Banco de Pele do Complexo da Santa Casa de Porto Alegre, 14,51% dos lotes de tecidos coletados são descartados por contaminação microbiana. Baare e colaboradores (1998), resumindo dados do Euro Skin Bank, localizado na Holanda, de 1987 até 1995, relataram 10,1% de contaminação anual no primeiro teste microbiológico (logo após a coleta) e 0% de descarte. Lindford e colaboradores (2010) relataram 25% de contaminação no primeiro teste microbiológico e 0% de descarte no Helsinki Skin Bank, localizado na Finlândia. Esses resultados mostram a eficiência das metodologias de processamento adotadas pelos Bancos de Pele localizados na Holanda e Finlândia.

O processamento dos tecidos musculoesqueléticos é mais simples e o tecido não precisa passar por diversas fases, como acontece com a pele. Após a coleta, o tecido é armazenado em temperatura de -80°C e permanece em quarentena até a liberação de todos os resultados microbiológicos. Se os resultados forem negativos para os microrganismos, os tecidos são limpos e congelados a -80°C até a sua utilização. Alguns tecidos como os ossos podem ser cortados ou moídos antes do congelamento. A decisão de como armazenar

esses tecidos varia de acordo com a demanda do Banco (ALENCAR *et al*, 2007; PEGG, 2006).

A técnica de congelamento é considerada eficaz para esse tipo de tecido, pois preserva as propriedades mecânicas e bioquímicas. As mecânicas são fundamentais para manter o tecido resistente e as bioquímicas são responsáveis pela regeneração e agregação do tecido no corpo do receptor. O tempo máximo de congelamento varia entre os Bancos existentes, mas, geralmente, é de um ano (ALENCAR *et al*, 2007; PEGG, 2006; HOU, YANG & HOU, 2005) .

Além do teste do *swab* feito no momento da coleta, outro teste de cultura bacteriana é feito logo após o descongelamento. Esse acontece antes do tecido ser transplantado e os resultados só são obtidos após a realização do transplante. Alguns médicos, imediatamente antes da cirurgia, banham o tecido com algum antimicrobiano (HOU, YANG & HOU, 2005).

Hou e colaboradores (2005) analisaram a atividade dos 10 anos do Banco de Ossos do Departamento Ortopédico do Hospital Nacional Universitário de Taiwan. Entre os 1674 tecidos coletados, 309 (18,5%) foram descartados. O principal responsável pelo descarte foi a sorologia positiva seguida de resultado positivo no teste de cultura feito imediatamente após a coleta. Dos tecidos processados (1365), 22 (1,6%) apresentaram resultado positivo nas análises microbiológicas feitas após o descongelamento. Entre os 22, quatro (4) pacientes que receberam o transplante desenvolveram alguma infecção. Alencar e colaboradores (2007) também analisaram as atividades de um Banco de Tecidos Musculoesqueléticos no período de 1999 e 2006. Foram realizadas 139 coletas de tecidos e, destes, 32 foram descartados antes do processamento; 11 tecidos (34%) devido à sorologia positiva e 15 (47%) devido ao resultado positivo no teste de cultura.

Como descrito no item 4.1.3 pouco se sabe sobre os Bancos de Válvulas Cardíacas. A técnica mais utilizada e considerada padrão ouro é a criopreservação. Essa metodologia preserva as características do tecido,

principalmente da matriz extracelular e mantém as células viáveis (COSTA *et al*, 2005).

Após a coleta, o coração é enviado para o Banco e as válvulas são dissecadas e analisadas macroscopicamente em condições ideais de antissepsia. Neste momento são feitas as análises microbiológicas de acordo com metodologia específica de cada Banco. Após as análises iniciais, as válvulas são congeladas com solução crioprotetora que protege o tecido da baixa temperatura. A composição dessa solução varia entre os Bancos e para esse processamento são utilizados equipamentos específicos que congelam o tecido gradualmente. O armazenamento é feito em temperatura de -152°C. No momento do transplante, as válvulas são descongeladas e o tecido é lavado para a remoção da solução crioprotetora (COSTA *et al*, 2005).

Em um estudo feito sobre as atividades dos oito anos iniciais do Banco de Valvas Cardíacas da Santa Casa de Curitiba, foram analisadas válvulas de 1059 corações provenientes de 218 diferentes instituições de saúde. Das 2105 válvulas processadas, 433 (20,6%) apresentaram contaminação microbiana na solução de transporte. Todos os tecidos foram submetidos a tratamento para desinfecção e, destes, 103 (23,8%) foram descartados devido à contaminação persistente. Os microrganismos mais encontrados foram *Staphylococcus spp*, *Serratia sp* e *Escherichia coli*. Além da contaminação verificada na solução de transporte, foi detectada contaminação microbiana em outra etapa do processamento em 56 casos (COSTA *et al*, 2005).

A metodologia de processamento de três tipos de tecidos biológicos foi descrita resumidamente neste tópico. Para todas as metodologias existem procedimentos validados de desinfecção do tecido. Esses procedimentos variam de Banco para Banco e também entre os tecidos.

Outro ponto importante é a embalagem final dos tecidos. É fundamental a utilização de embalagens validadas e que mantenham a segurança do tecido. A legislação brasileira exige que seja uma embalagem tripla para evitar possíveis contaminações. As condições de transporte para a distribuição também devem ser monitoradas.

Em todas as etapas, é imprescindível a manutenção preventiva e monitoramento dos equipamentos e salas utilizadas. Alterações nas condições de temperatura e umidade dos Bancos podem favorecer o desenvolvimento de microrganismos.

4.3.3 Casos de infecções após transplantes de tecidos

Ao longo dos anos, com a descoberta de novas metodologias, criação de novas legislações e o aprimoramento das atividades de pesquisa, o número de casos de infecções após o transplante diminuiu muito. Apesar dessa diminuição ainda existem casos e estes devem ser estudados para que se possa compreender a causa das infecções e traçar metas para esse número diminuir ainda mais.

Wang e colaboradores (2007) pesquisaram diversos casos de infecção que poderiam estar associados a transplantes de tecidos, no período de 2001 – 2004, em todo os Estados Unidos. Dos casos estudados, 83 estavam associados à contaminação do tecido transplantado, sendo que destes 41 (50%) ocorreram em 2002. Dentre os tecidos identificados, 42% eram válvulas cardíacas, 34% tendões e ligamentos, 8% ossos, 5% córnea e 4% tecido cutâneo. Onze casos evoluíram para morte, sendo dez em 2002. Em 78% dos casos, a infecção era causada por bactérias e muitas vezes associada a fungos. A maioria (90%) das bactérias era aeróbia e Gram positiva (63%), sendo que 79% foram identificadas como pertencentes aos gêneros *Staphylococcus* ou *Enterococcus*.

Eastlund (2006) publicou um artigo relatando diversos casos de infecção relacionados a transplantes de tecidos. Alguns deles, como o que aconteceu em 2001 após o transplante de um côndilo femoral, mostram a falta de cuidado de alguns Bancos de Tecidos. Um paciente de 23 anos foi a óbito devido à infecção por *Clostridium sordelli*. Ao investigar o caso, foi observado que o tecido foi coletado após o período permitido pela legislação e que não foram feitas análises microbiológicas antes do processamento. Além disso, as etapas

do processamento não eram validadas e nenhuma metodologia de esterilização foi utilizada.

Após o caso citado por Eastlund (2006), o Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos fez uma investigação nos processos desenvolvidos por Bancos de Tecidos e buscou associações entre infecções por bactérias do gênero *Clostridium* com transplantes de tecidos. Foram encontrados 14 casos no período de 1998 e 2003. Destes 14 casos, 12 (86%) estavam associados a *Clostridium speticum*. Somente um caso evoluiu para óbito e em 10 pacientes (71%) o tecido foi removido. Os tecidos utilizados nos transplantes foram retirados de 9 doadores diferentes e disponibilizados por 7 diferentes Bancos. Apesar de serem distribuídos por 7 diferentes Bancos, todos foram processados pelo mesmo Banco e enviados aos demais (KAINER *et al*, 2004).

Independente do motivo da contaminação e do microrganismo envolvido, é de responsabilidade do Banco de Tecido zelar pelas atividades desenvolvidas por seus profissionais e pela segurança das metodologias utilizadas. Os órgãos competentes também precisam fiscalizar as atividades e só autorizar o funcionamento de Bancos com metodologias validadas, minimizando assim, o risco de infecções causadas por tecidos transplantados.

4.3.4 Métodos de desinfecção e antissepsia dos tecidos e insumos

Os Bancos de Tecidos podem utilizar técnicas de esterilização complementar por métodos físicos e químicos. Essas técnicas devem ser baseadas em experiência nacional e internacional e devem estar validadas. Existem várias metodologias descritas na literatura que podem ser utilizadas (CORNU *et al*, 2000; MITCHELL *et al*, 2004; AKKUS & BELANEY, 2005; EAGLE *et al*, 2005; NGUYEN *et al*, 2007; Ministério da Saúde - Portaria 482, 2009):

- **Irradiação**

A esterilização pode ser feita por irradiação por raios gama ou por feixe de elétrons. Nos dois casos, todos os parâmetros devem ser documentados e o laudo de esterilização deve ser anexado à ficha do doador. Durante a irradiação, os tecidos devem manter a temperatura de armazenamento.

- **Óxido de Etileno**

Na esterilização por óxido de etileno, é importante o cuidado com os níveis de resíduos que podem ficar nos tecidos. A aeração após a esterilização é fundamental para que os resíduos de óxido de etileno e seus produtos sejam eliminados.

- **Agentes químicos**

Etanol, iodo e outros solventes podem ser usados para a desinfecção de alguns tecidos como os ossos. É preciso que seja evidenciado na embalagem do produto final o tipo de agente químico utilizado. Isto para que possíveis presenças de resíduos sejam consideradas, quando pertinente.

Não devem ser utilizados formaldeído, clorofórmio, mercúrio, gluteraldeído, composto quaternários e beta-propiolactona na esterilização complementar de tecidos biológicos.

- **Outras metodologias**

Outras metodologias de esterilização e desinfecção podem ser utilizadas, desde que sejam validadas e estejam de acordo com os manuais e legislações vigentes.

Um fator importante a ser considerado no momento da esterilização complementar é o transporte. As condições de transporte devem ser estabelecidas pelo banco para que não ocorram alterações na viabilidade e integridade do tecido.

5 A EXPERIÊNCIA DA CRIAÇÃO DE UM BANCO DE MULTITECIDOS NO BRASIL

5.1 O PROJETO CETEBIO

O Centro de Tecidos Biológicos de Minas Gerais (Cetebio) será o maior centro público integrado de tecidos biológicos da América Latina. Isso significa que a população usuária do Sistema Único de Saúde receberá uma oferta de produtos capazes de atuar na prevenção e cura de doenças graves, bem como facilitar a realização de transplantes de órgãos e tratamentos hemoterápicos.

Criado no âmbito da Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais - Hemominas, o Cetebio conta com os serviços de excelência e qualidade desenvolvidos por essa Fundação, reconhecidos internacionalmente. Dessa forma, o Cetebio nasce através das iniciativas de inovação tecnológica e pesquisa desse importante hemocentro do país.

O conjunto de produtos que será ofertado é composto de hemácias fenotipadas raras, células-tronco hematopoéticas, pele alógena, peças ósseas, tecidos musculares e válvulas cardíacas.

Dos materiais distribuídos pelo Centro, destacam-se a utilização do concentrado de hemácias em transfusão de sangue para pacientes politransfundidos ou que apresentem fenótipos raros, o emprego das células progenitoras hematopoéticas no tratamento de doenças como leucemias e anemias, a aplicação de pele alógena na recuperação de queimaduras de alto grau e outros traumas, a realização de enxertos de peças ósseas e tecidos musculares em pacientes com doenças degenerativas ou vítimas de politraumatismo e a utilização de válvulas cardíacas no tratamento de doenças cardiovasculares congênitas.

5.2 VALIDAÇÃO DO BANCO DE PELE DO CETEBIO E ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

De acordo com a *American Association of Tissue Banks*, a *Food and Drug Administration* e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, validação é

um ato documentado que referenda com um alto grau de confiança que um procedimento, processo, equipamento, material, operação ou sistema irá gerar de forma consistente um produto que esteja de acordo com especificações pré-determinadas e atributos de qualidade, conduzindo assim aos resultados esperados.

O objeto de validação, neste caso, é a metodologia de processamento e preservação do tecido cutâneo selecionada pelo Banco de Pele do Centro de Tecidos Biológicos de Minas Gerais.

Dentre a seleção de produtos a serem ofertados pelo Cetebio, o tecido cutâneo foi o primeiro a entrar na fase de validação. A pele alógena é utilizada como curativo biológico em vítimas de queimaduras de alto grau ou acidentados com grande perda do tecido, permitindo melhora da sua condição clínica. Dentre as principais propriedades, está evidenciado que esse tecido restaura a barreira física, reduz a perda de água, eletrólitos e proteínas, diminui a probabilidade de infecções, atenua a dor, promove a cicatrização da ferida e/ou queimadura e protege as estruturas subjacentes. Desta forma, o uso de pele alógena reduz o tempo de internação e proporciona maior sobrevida ao paciente (DRUECKE et al., 2002).

Visitas técnicas foram realizadas para conhecimento dos Bancos de Pele já existentes em busca da metodologia de processamento e preservação mais adequada. Membros da Fundação Hemominas visitaram o Northwest Tissue Services (Seattle/EUA), o Héma-Québec (Québec/Canadá) e o Banco de Pele do Complexo Hospitalar da Santa Casa de Porto Alegre (RS/ Brasil).

A metodologia de preservação do tecido cutâneo escolhida para o Banco de Pele do Cetebio é baseada na utilização de altas concentrações de Glicerol (SAEGEMAN et al 2008). Esta metodologia foi detalhada no 4.3.2.4.

Durante o período de validação do BP, foram realizadas três coletas em doadores diagnosticados com morte encefálica no Hospital João XXIII – Belo Horizonte/MG. A notificação do potencial doador foi realizada pela CNCDO - MG Transplantes, sendo este órgão responsável pela captação e recebimento da autorização da doação do tecido cutâneo. Os resultados dos testes

sorológicos foram entregues pelo MG Transplantes ao BP. Apenas tecidos cutâneos de doadores com sorologia negativa para os testes de Sífilis, Chagas, Hepatites (HBsAg, Anti-HBc, Anti-HCV), HIV 1/2 e HTLV 1/2 foram coletados.

Para realizar análise individualizada das regiões selecionadas para coleta do tecido cutâneo, cada coleta foi dividida em dois lotes. O critério de seleção do lote para participação na validação se deteve à sua análise microbiológica inicial, realizada através do teste do *swab* imediatamente após a coleta, antes do início do processamento.

As coletas e os lotes receberam uma identificação específica que permitiu seu rastreamento, conforme:

B000210000001: coleta realizada no dia 16 de setembro de 2010 no bloco cirúrgico do Hospital João XXIII – Belo Horizonte/MG. Esta coleta gerou dois lotes: 1100901 (região do dorso) e 2100901 (região posterior da coxa). Os dois lotes apresentaram resultados negativos para a presença de microrganismos no teste do *swab* e, dessa forma, foram encaminhados para processamento.

B000210000002: coleta realizada no dia 21 de setembro de 2010 no bloco cirúrgico do Hospital João XXIII – Belo Horizonte/MG. Esta coleta gerou dois lotes: 1100902 (região do dorso) e 2100902 (região posterior da coxa). O lote 1100902 foi descartado, pois não cumpriu o critério de aceitação. O lote 2100902 cumpriu com os critérios de aceitação e foi encaminhado para processamento.

B000210000003: coleta realizada no dia 30 de outubro de 2010 no bloco cirúrgico do Hospital João XXIII – Belo Horizonte/MG. Esta coleta gerou dois lotes: 1101001 (região do dorso) e 2101001 (região posterior da coxa). Os dois lotes apresentaram resultado negativo para a presença de microrganismo no teste do *swab* e com isso foram encaminhados para processamento.

Os cinco lotes que passaram pelo critério de aceitação foram processados e analisados quanto à qualidade. Uma primeira análise microbiológica foi realizada após a coleta do tecido, para verificar sua

esterilidade. Apenas tecidos nos quais não foram encontrados microrganismos foram selecionados para participarem do processo de validação.

Dois tipos de análises foram executadas nos lotes de tecido cutâneo processados durante a validação do processo: análise microbiológica e histopatológica.

Os tecidos processados foram analisados microbiologicamente em três momentos distintos: após execução da fase I, após realização da fase III e 21 dias após acondicionamento do tecido em sua embalagem final. A avaliação nessas fases permite leitura da qualidade do processamento do tecido em sua totalidade.

Conforme estabelecido no Protocolo de Validação do Cetebio (baseado nas legislações internacionais e nacionais), a presença de alguns microrganismos específicos direciona o lote para o descarte. No caso das amostras apresentarem outros microrganismos, o lote correspondente deve ser tratado com antimicrobiano e continuar dentro do plano de processamento. Em caso de exames microbiológicos negativos, as amostras são aprovadas e continuam dentro do plano de processamento.

5.2.1 Controle microbiológico

Dentre as amostras coletadas para exames microbiológicos na fase de retirada do tecido, apenas um lote dos seis coletados apresentou resultado positivo. O resultado apontou a presença de bacilos Gram negativos e de diplococos Gram negativos.

Dos cinco lotes de tecido que participaram do processo de validação da metodologia do processamento (tecidos coletados que apresentaram resultado microbiológico negativo na amostra coletada com o auxílio do *swab*), quatro apresentaram resultado negativo nas amostras retiradas durante as fases I e III e na embalagem final (TABELA 6). O segundo lote do primeiro doador apresentou contaminação por bactéria Gram positiva, detectada nas amostras

de tecido coletadas na terceira fase do processamento. Esse lote foi encaminhado para o tratamento com antimicrobiano e, após a realização, foi submetido às três fases do processamento novamente.

Tabela 6 – Resultados dos testes microbiológicos realizados no tecido cutâneo durante o processo de validação

Fase do processo	Doação 1		Doação 2		Doação 3	
	Lote 1	Lote 2	Lote 1	Lote 2	Lote 1	Lote 2
Coleta (swab)	Neg ¹	Neg	Pos ²	Neg	Neg	Neg
Fase I	Neg	Neg	-	Neg	Neg	Neg
Fase III	Neg	Pos	-	Neg	Neg	Neg
Embalagem final	Neg	-	-	Neg	Neg	Neg

¹ – Negativo; ² – Positivo;

As análises microbiológicas feitas após o tratamento com os antimicrobianos Penicilina e Estreptomicina não apresentaram nenhum crescimento microbiano, o que indicou a eficiência dos antimicrobianos utilizados.

Após a fase de validação, o Cetebio comprovou a eficácia da metodologia escolhida, porém identificou pontos que precisam ser melhorados. O relatório de validação está sendo desenvolvido e abordará todos os tópicos referentes ao processo.

6 ASPECTOS ÉTICOS

Segundo Beauchamp e Childress, citado por Castilho e Kalil (2005) a ética é uma denominação genérica utilizada para compreender e ponderar a vida moral das pessoas. É um termo utilizado nas mais variadas ciências, inclusive na saúde, e pode ser subdividido em algumas abordagens, como a normativa, a descritiva e a prática.

Existem diversos documentos da época antiga e medieval que retratam os cuidados na saúde. Apesar de Hipócrates, em sua época, mostrar o cuidado com essas questões, somente no meio do século XX, em 1947, surgiu o primeiro documento internacional sobre o assunto - o Código de Nuremberg. Esse código abrangia normas para pesquisas médicas com seres humanos e foi desenvolvido por médicos que buscavam dar fundamentos ao Tribunal de Nuremberg, que estava julgando crimes cometidos contra a população em pesquisas médicas realizadas em campos de concentração (CASTILHO & KALIL, 2005).

O Código de Nuremberg foi base para diversos documentos e a partir dele outros documentos foram desenvolvidos. A Declaração de Helsinque, aprovada pela primeira vez em 1964, já teve diversas atualizações e é um documento com diretrizes e normas para pesquisas médicas com seres humanos reconhecido internacionalmente (CASTILHO & KALIL, 2005).

São diversos os casos que incentivaram, ao longo dos anos, a criação de normas e diretrizes para o desenvolvimento de pesquisas médicas com seres humanos. O mais conhecido deles é o *Tuskegee Study*, que aconteceu no estado de Alabama nos Estados Unidos no período de 1940 a 1972. No estudo, cerca de 400 negros com sífilis foram acompanhados com o objetivo de conhecer a história natural da doença. Os pacientes continuaram sem tratamento mesmo depois da descoberta da penicilina em 1945. Outro caso é o que aconteceu em 1963 quando médicos de Nova Iorque injetaram células cancerosas em pacientes debilitados para poderem estudar a capacidade de o organismo rejeitar células estranhas. Em ambos os casos a família ou o estudado não foram avisados (CASTILHO & KALIL, 2005).

No Brasil, o primeiro documento que fazia referência às pesquisas com seres humanos foi a Resolução nº 01/88 do Conselho Nacional de Saúde (CNS) que exigia a presença de um Comitê de ética em toda Instituição de Saúde que realizasse pesquisa. Apesar da exigência, poucas instituições criaram o comitê. Somente com a Resolução nº 196/96 que estabeleceu as diretrizes e normas para pesquisas envolvendo seres humanos a questão foi disseminada no Brasil (FREITAS, 2009).

Os comitês de Ética e Pesquisa (CEP) foram criados com o objetivo de ser um mediador entre o pesquisador e o pesquisado. Eles devem ser multidisciplinares e devem funcionar com um terceiro envolvido que tem a responsabilidade de avaliar se a pesquisa pode causar algum dano ao pesquisado (FREITAS & HOSSNE, 2002). Além do CEP, com a Resolução nº 196/96 foi criada a Comissão Nacional de Ética e Pesquisa (CONEP) que tem a função de coordenar a rede de comitês institucionais e ser referência para as questões éticas de uma pesquisa (FREITAS, 2009).

Ao analisar um projeto para pesquisa com seres humanos é fundamental a avaliação de alguns tópicos (CASTILHO & KALIL, 2005):

1) Consentimento Livre e Esclarecido

O consentimento deve ser dado pelo alvo da pesquisa após receber informações e esclarecimentos sobre ela. Não é permitida a omissão de informações e atos que possam influenciar na decisão do alvo. O possível pesquisado deve ter o total direito de escolha e a participação na pesquisa deve sempre ser voluntária.

2) Manutenção da privacidade das informações do sujeito

Em todas as etapas da pesquisa, os envolvidos devem estar assegurados da confidencialidade das informações.

3) Aprovação pelos pares e pela comunidade

Essa questão avalia a relevância da pesquisa, a relação entre o benefício e o risco, e a qualidade científica da proposta para responder as questões levantadas.

Nas atividades envolvendo Bancos de Tecidos a ética deve estar presente em todos os aspectos, desde a triagem do doador à realização do transplante. Neste sentido, a ética é um ponto fundamental não só para evitar o abuso e as práticas ilegais, mas também para evitar a violação das regulações e normas específicas do assunto (PEDRAZA & HERSON, 2010).

São inúmeros os exemplos de onde a ética deve ser aplicada. O diagnóstico de morte encefálica, por exemplo, não pode ser realizado por um médico de uma equipe transplantadora, seja de órgão ou tecido. A doação deve ser sempre autorizada e a privacidade do doador deve ser mantida durante todo o processo. Em relação ao processamento e manipulação dos tecidos, deve se levar em conta que tecidos originados de um doador podem ser utilizados em várias pessoas. É imprescindível o cuidado com os tecidos de modo que comportamentos de risco, que possam levar ao descarte, são proibidos. Outro ponto importante é a liberação dos tecidos para transplante. Um tecido só pode ser liberado para transplante com toda a documentação exigida e com todos os testes de qualidade realizados, pois a vida do receptor pode estar em risco (PEDRAZA & HERSON, 2010).

Em relação a pesquisas com tecidos humanos, o processo é o mesmo. Antes da doação a família deve autorizar a utilização do tecido para pesquisa e quando for o caso, a instituição deve submeter o projeto ao CEP.

É natural de o pesquisador ser curioso e sempre desejar novas descobertas, porém essa paixão não deve ultrapassar os limites do outro. O ser humano não pode ser visto como objetivo e/ou meio para defender uma hipótese. As pesquisas que envolvem seres humanos precisam respeitar a dignidade de cada um, respeitar a autonomia e sempre defender as possíveis vulnerabilidades. A “humanização” deve sempre estar presente e jamais se pode esquecer-se do valor de cada ser humano (FREITAS & HOSSNE, 2002).

E como dizia Hipócrates: “A vida é curta e muito longo o caminho a percorrer. As oportunidades são passageiras, a experiência traiçoeira e a avaliação difícil” (CASTILHO & KALIL,2005).

7 CONCLUSÃO

Pelo exposto ao longo deste trabalho, conclui-se que é comum a contaminação de tecidos coletados para transplante. A origem da contaminação pode ser de diversas fontes, mas principalmente da microbiota normal do doador e do ambiente de coleta. Apesar da grande quantidade de descarte, medidas podem ser tomadas com o objetivo de minimizar a perda. A triagem do doador deve ser feita com bastante cuidado e todos os detalhes devem ser observados. Os testes sorológicos devem ser feitos com metodologias atualizadas verificando, sempre, o período de janela imunológica. No momento da coleta é preciso limpar e desinfetar o ambiente e o corpo do doador. A retirada deve ser iniciada o quanto antes e sempre tomar cuidado para não perfurar os órgãos, pois líquidos presentes no estômago e intestino, por exemplo, podem estar contaminados.

O controle do ambiente é fundamental tanto na coleta quanto no processamento e o uso de barreiras físicas, paramentação adequada e materiais e insumos estéreis ajudam a preservar a qualidade do tecido. Outro ponto importante é a equipe envolvida: quanto menos pessoas participarem na coleta e no processamento menor a chance de contaminação.

A metodologia de processamento não é a mesma para todos os tecidos. Algumas exigem muita manipulação, enquanto outras pouca, o que resulta em diferentes índices de contaminação. Independente da técnica escolhida é importante o cuidado da equipe em todas as fases de processamento. Os tecidos devem ser limpos para retirar todo o excesso de sangue e outras partes biológicas. Sempre que possível, deve-se esterilizar o tecido com metodologia validada e sempre realizar testes microbiológicos. São esses testes que irão comprovar a qualidade do tecido e assegurar o receptor de possíveis infecções relacionadas ao transplante.

A maioria dos artigos consultados indicou que o uso de antimicrobianos tem se mostrado muito eficiente durante o processamento dos órgãos e tecidos; e que a irradiação é o melhor método de esterilização, embora os cuidados em relação à dose de irradiação sejam fundamentais para não alterar

as características biológicas. Mostraram, ainda, que é imprescindível um conhecimento prévio de microbiologia. Saber sobre as características do microrganismo pode ajudar em decisões, como se o tecido contaminado precisa ou não ser descartado.

Apesar dos cuidados e do controle de qualidade presentes nos Bancos de Tecidos, existem casos de infecções após o transplante de tecido. A dúvida que sempre ocorre nesses momentos é se a contaminação foi proveniente do doador ou se foi oriunda das técnicas de processamento e armazenamento. Seguir corretamente todos os protocolos, não agir com negligência e analisar com cuidado todos os resultados são fundamentais para garantir a qualidade do tecido. Os Bancos devem ainda incentivar a pesquisa de novas metodologias visando disponibilizar mais tecidos às pessoas.

No Brasil, a quantidade de transplantes de tecidos, principalmente musculoesqueléticos, cresceu ao longo dos anos, mas ainda é baixo se comprado aos outros países. É preciso criar medidas para incentivar a doação e a criação de Bancos, como o Cetebio, que recentemente teve a sua metodologia de processamento de pele validada e, com a autorização do Ministério da Saúde, poderá iniciar o fornecimento desse tecido à população.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, C.S.; PINTO, T.J.A.; OLIVEIRA, D.C. Incidência de microrganismos em salas limpas. Sociedade Brasileira de Controle e Contaminação. 2003.

AKKUS, O.; BELANEY, R. M. Sterilization by gamma radiation impairs the tensile fatigue life of cortical bone by two orders of magnitude. J Orthop Res. 2005. 23(5): 1054 – 1058.

ALENCAR, P.G.C. *et al.* Captação de tecidos músculo-esqueléticos em cadáver. Revista Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. 2007. 42 (6): 181 - 184.

AATB – Guidance Document – Prevention of Contamination and cross-contamination at recovery: Practices & Culture Results. 2007. No 2, version 2.

AATB – Guidance Document – Current Good Tissue Practice. 2006. No 3.

AATB – Guidance Document – Tissue Donor Physical Assessment Form. 2005. No 1, version 2.

AATB – Standards for Tissue Banking. 12th Edition.

Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos – Registro Brasileiro de Transplantes JAN/SET 2010. Disponível em ><http://www.abto.org.br/abtov02/portugues/populacao/rbt/mensagemRestrita.aspx?idCategoria=2><

BAARE, J.V. *et al.* Microbiological evaluation of glycerolized cadaveric donor skin. Transplantation. 1998. V65: 966-970.

BAMBACE, A.M.J. *et al.* Eficácia de soluções aquosas de Clorexidina para desinfecção de superfícies. Revista Biociência. 2003. V 9, N 2: 73 – 81.

CASTILHO, E.A.; KALIL, J. Ética e pesquisa médica: princípios, diretrizes e regulamentações. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2005. 38 (4): 344 – 347.

CORNU, O., *et al.* Effects of freeze-drying and gamma irradiation on the mechanical properties of human cancellous bone. *J Orthop Res.* 2000. 18:426 – 431.

COSTA, M.T.B.A. *et al.* Analysis of the inicial eight years of activities of the Human Heart Valve Bank of the Hospital de Caridade da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Curitiba. *Braz J Cardiovasc Surg.* 2005. 20 (4): 398 – 407.

DENNIS, J.A. *et al.* A comparison of two microbial detection methods used in aseptic processing of musculoskeletal allograft tissue. *Cell Tissue Bank.* 2009.

Dr Jose Osmar Medina Pestana em entrevista para a Revista Prática Hospitalar disponível em <http://www.praticahospitalar.com.br/pratica%2026/paginas/materia%201.html> Acesso em 05 de dezembro de 2010.

DRUECKE, D. *et al.* Current indications for glycerol-preserved allografts in the treatment of burn injuries. *Burns.* 2002. N 28: 26 – 30.

DRUMOND, S.N. Transplantes Ósseos. *In* Pereira, W.A. Manual de Transplantes de Órgãos e Tecidos. 2ª edição. Ed Medsi. 2000. Cap 19, p 359-380.

EAGLE, M. J., *et al.* Validation of radiation dose received by frozen unprocessed and processed bone during terminal sterilisation. *Cell Tissue Bank.* 2005. 6(3): 221 – 230.

EASTLUND, T. Bacterial infection transmitted by human tissue allograft transplantation. *Cell and Tissue Banking.* 2006. 7: 147 – 166.

FAURI, M.A. *et al.* Estatísticas do Banco de Pele do Complexo Hospitalar Santa Casa de Porto Alegre – Ano de 2008. *Arquivos Catarinenses de Medicina.* 2009. V 38.

Food and Drug Administration – Title 21 Part 1271 – “Human Cells, Tissues, and Cellular and Tissue- based Products”.

FREITAS, C.B.D. Os Comitês de Ética em Pesquisa: Evolução e Regulamentação. Revista Bioética. 2009.

FREITAS, C.B.D.; HOSSNE, W.S. O Papel dos Comitês de Ética em Pesquisa na Proteção do Ser Humano. Ver Bioética. 2002. N 5: 133 – 141.

GARCIA, F.B. *et al.* Importância dos testes sorológicos de triagem e confirmatórios na detecção de doadores de sangue infectados pelo vírus da hepatite C. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. 2008. 30 (3): 218-222.

GRANJEIRO, R. C. *et al.* Aspectos da distribuição de tecidos músculo-esqueléticos de um banco de tecidos. Acta Ortop Bras. 2009. 17(6): 336-339.

HÉMA-QUÉBEC. Annual Report 2008-2009. 2009.

HÉMA-QUÉBEC. Annual Report 2009-2010. 2010.

HOU, C.H.; YANG, R.S.; HOU, S.M. Hospital-based allogenic bone bank – 10 year experience. Journal of Hospital Infection. 2005. N 59: 41 – 45.

IBRAHIM, T. *et al.* Cadaveric allograft microbiology. International Orthopedics. 2004. 28: 315 - 318.

IRELAND, L.; SPELMAN, D. Bacterial contamination of tissue allografts – experiences of the donor tissue bank of Victoria. Cell and Tissue Banking. 2005. 6: 181 – 189.

KAINER, M.A. *et al.* Clostridium Infections Associated with Musculoskeletal-Tissue Allografts. The New England Journal of Medicine. 2004. N 350;25: 2564 – 2571.

KEARNEY, J.N. Guidelines on processing and clinical use of skin allografts. Clinics in Dermatology. 2005. V 23, Issue 4: 357-364.

LAJOLO, C.P.; JUNIOR, D.M.L.; JUNIOR, J.F.C.M. HIV – Elisa negative com NAT positive: uma realidade em Hemoterapia. Carta ao editor - Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. 2008. 30(4): 330-334.

LINDFORD, A.J. *et al.* Evolving practice of the Helsinki Skin Bank. International wound journal. 2010.

MITCHELL, E. J., *et al.* The effect of gamma radiation sterilization on the fatigue crack propagation resistance of human cortical bone. *J Bone Joint Surg Am.* 2004. 86(12): 2648 – 2657

NGUYEN, H.; *et al.* Sterilization of allograft bone: effects of gamma irradiation on allograft biology and biomechanics. *Cell Tissue Bank.* 2007. 8(2): 93 – 105.

PAZ, M.S.O. *et al.* Paramentação cirúrgica, Avaliação da sua adequação para a prevenção de riscos biológicos em cirurgias. Parte I: A utilização durante as cirurgias. *Rev. Esc. Enf.* 2000. V 34, N 1: 108 – 117.

PEDRAZA, J.M.; HERSON, M.R. The importance of ethic in the field of human tissue banking. *Cell Tissue Bank.* 2010. Versão online 15/12/2010.

PEGG, D.E. The preservation of tissue for transplantation. *Cell Tissue Banking.* 2006. N 7: 349 – 358.

PÊGO-FERNANDES, P.M.; GARCIA, V.D. Current Status of Transplantation in Brazil. *São Paulo Med J.* 2010. 128 (1): 3-4.

PEREIRA, W.A. Manual de Transplantes de Órgãos e Tecidos. 2000. 2ª edição. Ed. Medsi.

PERUZZO, A.M. *et al.* Controle microbiológico em valvas cardíacas humanas. *Arq Bras Cardiol.* 2006. 87 (6): 778 – 782.

Portaria 2600 de 21 de Outubro de 2009 - “Aprova o Regulamento Técnico do Sistema Nacional de Transplantes”.

Portaria 482 de 16 de Abril de 1999 - “Aprovar o Regulamento Técnico contendo disposições sobre os procedimentos de instalações de Unidade de Esterilização por óxido de etileno e de suas misturas e seu uso, bem como, de acordo com as suas competências, estabelecer as ações sob a responsabilidade do Ministério da Saúde e Ministério do Trabalho e Emprego”.

REASON, J. Human Error: Models and Management. *BMJ.* 2000. V 320: 768 – 770.

RONHOLDT, C.J.; BOGDANSKY, S. The appropriateness of swab cultures for the release of human allograft tissue. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 2005. 32: 349 - 354.

SAEGEMAN, V.S.M. *et al.* Short – and long-term bacterial inhibiting effect of high concentrations of glycerol used in the preservation of skin allografts. *Burns*.2008. N 34: 205 – 211.

SILVA, C.R.M. *et al.* Centros cirúrgicos e microflora ambiental nas salas de cirurgia dos hospitais de Uberlândia, Minas Gerais. *Biosci J.* 2002. V 18, N 1: 161-174.

WANG, S. *et al.* Infections and human tissue transplants: review of FDA MedWatch reports 2001-2004. *Cell Tissue Banking.* 2007. N 8: 211-219

WOLL, J.E. Tissue Banking Overview. *Clinics in Laboratory Medicine.* 2005. N 25: 473 – 486.