



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**CONTAMINACIÓN BACTERIANA DE HEMOCOMPONENTES EN  
EL SERVICIO DE BANCO DE SANGRE Y HEMOTERAPIA DEL  
HOSPITAL REGIONAL MANUEL NÚÑEZ BUTRÓN DE PUNO –  
2019**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**Bach. EDWIN HERFESON CUTIMBO QUISPE**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

**PUNO – PERÚ**

**2021**



## DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres que siempre me han guiado y apoyado, a mis hermanos y cuñados que nunca dejaron de preocuparse por mí y siempre me han demostrado su apoyo, a todos los docentes de la facultad de Ciencias Biológicas y a un amigo especial que ahora está en el cielo.

*Edwin Cutimbo*



## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios ante todo.

A todos los docentes de la Facultad de Ciencias Biológicas por compartir sus conocimientos y haberme formado correctamente en toda mi carrera profesional, sobre todo a la Dra. Vicky Gonzales por haberme asesorado correctamente en todo el proceso de esta investigación.

A todo el personal que labora en el Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica del Hospital Manuel Núñez Butrón, por brindarme su apoyo y sabiduría en el transcurso de la investigación.

A mi familia por su apoyo incondicional y la motivación que siempre me han brindado.

A mis amigos de estudio y trabajo que estuvieron en las buenas y en las malas y me brindaron su apoyo y motivación constante.

*Edwin Cutimbo*



## ÍNDICE GENERAL

**DEDICATORIA**

**AGRADECIMIENTOS**

**ÍNDICE GENERAL**

**ÍNDICE DE FIGURAS**

**ÍNDICE DE TABLAS**

**ÍNDICE DE ACRÓNIMOS**

**RESUMEN ..... 9**

**ABSTRACT..... 10**

### **CAPÍTULO I**

#### **INTRODUCCIÓN**

**1.1 OBJETIVO GENERAL:..... 13**

**1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:..... 13**

### **CAPÍTULO II**

#### **REVISIÓN DE LITERATURA**

**2.1 ANTECEDENTES..... 14**

**2.2 MARCO TEÓRICO. .... 19**

2.2.1. Sangre y Hemocomponentes. .... 19

2.2.2. Aféresis ..... 25

2.2.3. Contaminación bacteriana de hemocomponentes:..... 31

### **CAPÍTULO III**

#### **MATERIALES Y MÉTODOS**

**3.1. TIPO DE ESTUDIO ..... 40**

**3.2. ÁMBITO DE ESTUDIO ..... 40**

**3.3. METODOLOGÍA..... 40**

3.3.1. Población y muestra..... 40



3.3.2 Método ..... 42

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**4.1 CONTAMINACIÓN BACTERIANA (GRAM POSITIVOS Y GRAM NEGATIVOS) EN PAQUETES GLOBULARES DEL SERVICIO DE BANCO DE SANGRE Y HEMOTERAPIA DEL HOSPITAL REGIONAL MANUEL NUÑEZ BUTRON- PUNO..... 50**

**4.2 CONTAMINACIÓN BACTERIANA (GRAM POSITIVOS Y GRAM NEGATIVOS) EN PLASMA FRESCO CONGELADO DEL SERVICIO DE BANCO DE SANGRE Y HEMOTERAPIA DEL HOSPITAL REGIONAL MANUEL NUÑEZ BUTRON- PUNO..... 54**

**4.3 TIEMPO DE ALMACENAMIENTO COMO FACTOR PREDISPONENTE A LA CONTAMINACIÓN BACTERIANA DE PAQUETES GLOBULARES Y PLASMA FRESCO CONGELADO ..... 59**

**V. CONCLUSIONES..... 64**

**VI. RECOMENDACIONES ..... 65**

**V. REFERENCIAS ..... 66**

**ANEXOS..... 72**

**FECHA DE SUSTENTACIÓN: 10 de Diciembre del 2021**

**ÁREA:** Ciencias Biomédicas.

**LÍNEA:** Diagnostico y Epidemiología.



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Paquete globular .....	27
<b>Figura 2.</b>	Plasma fresco congelado.....	28
<b>Figura 3.</b>	Aféresis .....	30



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b>	Contaminación bacteriana (Gram positivos y Gram negativos) en paquetes globulares del Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del Hospital Regional Manuel Nuñez Butrón.....	50
<b>Tabla 2.</b>	Contaminación bacteriana (Gram positivos y Gram negativos) de plasma fresco congelado del Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del Hospital Regional Manuel Nuñez Butrón .....	55
<b>Tabla 3.</b>	Tiempo de almacenamiento como factor predisponente a la contaminación bacteriana de paquetes globulares .....	59
<b>Tabla 4.</b>	Tiempo de almacenamiento como factor predisponente a la contaminación bacteriana de plasma fresco congelado .....	60



## ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

**HRMNB:** Hospital Regional Manuel Nuñez Butron

**MINSA:** Ministerio de Salud

**PRONAHEBAS:** Programa Nacional de Hemoterapia y Banco de Sangre

**INS:** Instituto Nacional de Salud

**ST:** Sangre total

**PG:** Paquete globular

**CP:** Concentrado de plaquetas

**PFC:** Plasma fresco congelado

**TSA:** Agar Soya Tripticaseina

**AMC:** Agar Mac Conkey

**AMS:** Agar Manitol Salado

**AS:** Agar Sangre





## RESUMEN

Desde hace más de 60 años se identificó la contaminación bacteriana en productos sanguíneos, la cual escapa de la acción bacteriológica de los antisépticos y trae como consecuencia, transfusiones contaminadas y en algunos casos desenlaces fatales. Es por ello que esta investigación fue ejecutada con el objetivo de: Determinar la contaminación bacteriana de hemocomponentes en el Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del Hospital Regional Manuel Núñez Butrón de Puno – 2019; La muestra estuvo conformada por 120 paquetes globulares y 120 plasmas frescos congelados, la metodología utilizada para Identificar la contaminación bacteriana de paquetes globulares y plasma fresco congelado (Gram positivos y Gram negativos) del Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia fueron mediante cultivos *in vitro* y confirmación bioquímica según el Manual de Procedimientos para Hemocultivos del Instituto Nacional de Salud (INS), finalmente para determinar si el tiempo de almacenamiento constituye un factor predisponente a la contaminación bacteriana de paquetes globulares y plasma fresco congelado se realizó mediante la revisión del libro de extracciones sanguíneas y fraccionamiento sanguíneo del Programa Nacional de Hemoterapia y Banco de sangre (PRONAHEBAS) Norma Técnica N°16, LEY 26454; los resultados obtenidos fueron: en paquete globular no se aisló contaminantes bacterianos, mientras que en plasma fresco congelado se reportó la presencia de *S. epidermidis* con 3.3%, *S. aureus* en un 0,85% y *S. saprophyticus* en un 0.85%, también se determinó que el tiempo de almacenamiento no constituye un factor predisponente en paquetes globulares por resultar cultivos negativos, en cambio en el plasma fresco congelado se observa que hay contaminantes bacterianos, pero estadísticamente el tiempo de almacenamiento no constituye un factor predisponente  $P=0.807$ ; concluyendo que los paquetes globulares no presentan contaminación bacteriana, a diferencia de plasma fresco congelado, que presentó 5% de contaminación bacteriana; finalmente, se determinó que el tiempo de almacenamiento no constituye un factor predisponente en la contaminación bacteriana de paquetes globulares y plasma fresco congelado. Los resultados de esta investigación ayudarán a mejorar los servicios de procesamiento de hemocomponentes y elevar los criterios de atención de calidad con hemocomponentes seguros y oportunos.

**Palabras clave:** Antiséptico, contaminación bacteriana, factor predisponente, Hemocomponente, transfusión sanguínea.



## ABSTRACT

For more than 60 years, bacterial contamination in blood products has been identified, which escapes the bacteriological action of antiseptics and results in contaminated transfusions and, in some cases, fatal outcomes. That is why this research was carried out with the objective of: Determining the bacterial contamination of blood components in the Blood Bank and Hemotherapy Service of the Manuel Núñez Butrón Regional Hospital in Puno - 2019; The sample consisted of 120 globular packages and 120 fresh frozen plasmas, the methodology used to identify the bacterial contamination of globular packages and fresh frozen plasma (Gram positive and Gram negative) of the Blood Bank Service and Hemotherapy were through in vitro cultures and Biochemical confirmation according to the Manual of Procedures for Blood cultures of the National Institute of Health (INS), finally to determine if the storage time constitutes a predisposing factor to bacterial contamination of globular packages and fresh frozen plasma was carried out by reviewing the extraction book blood and blood fractionation of the National Program of Hemotherapy and Blood Bank (PRONAHEBAS) Technical Standard N ° 16, LAW 26454; The results obtained were: in globular packages, no bacterial contaminants were isolated, while in fresh frozen plasma the presence of *S. epidermidis* was reported with 3.3%, *S. aureus* in 0.85% and *S. saprophyticus* in 0.85%. It was also determined that the storage time does not constitute a predisposing factor in globular packages as negative cultures result, on the other hand, in the fresh frozen plasma it is observed that there are bacterial contaminants, but statistically the storage time does not constitute a predisposing factor  $P = 0.807$ ; concluding that globular packages do not present bacterial contamination, unlike fresh frozen plasma, which presented 5% bacterial contamination; finally, it was determined that storage time is not a predisposing factor in bacterial contamination of blood cells and fresh frozen plasma. The results of this research will help improve blood component processing services and raise the criteria for quality care with safe and timely blood components.

**Keywords:** Antiseptic, bacterial contamination, predisposing factor, Hemocomponent, blood transfusion.



# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

La medicina transfusional tiene como propósito servir como opción terapéutica para mejorar las condiciones de salud de una persona brindando un servicio de calidad, para ello se debe minimizar los riesgos de transmisión de enfermedades infecciosas y maximizar la compatibilidad entre donante y receptor, por ello los servicios de Banco de Sangre y los servicios transfusionales están obligados a cumplir con unas series de requerimientos contenidos en la norma vigente que garanticen la calidad de los componentes sanguíneos y así disminuir la cantidad de riesgos que trae consigo una transfusión sanguínea (Bruneau *et al.*, 2001).

No obstante, actualmente, el factor de riesgo infeccioso asociado a muerte más importante de la transfusión es la contaminación bacteriana en los componentes sanguíneos (Magariños *et al.*, 2003) que está clasificada como una reacción inmediata no inmunológica que ocasiona sepsis bacteriana y puede causar complicaciones graves que pueden llegar hasta la muerte del paciente (Lee *et al.*, 2002).

Una de las formas de determinar el riesgo de contaminación bacteriana en los hemocomponentes es mantener una rutina en la que se haga muestreo y siembra para identificar crecimiento de bacterias Gram negativas, Gram positivas u hongos, (Magariños *et al.*, 2003 ); teniendo en cuenta que uno de los factores predisponentes para el desarrollo de las mismas es la temperatura de almacenamiento, equipos de colecta contaminados y no hacer una buena desinfección del brazo del donante (Lee *et al.*, 2002).

Una labor que lamentablemente no realizan en muchos Servicios de Banco de Sangre a nivel nacional, es que no se realiza la hemo vigilancia ni control de agentes contaminantes en los hemocomponentes preparados, por lo que no se podría afirmar que



las unidades sean transfundidas libres de cualquier agente patógeno, las cuales son muy importantes tenerlos en cuenta para asegurar la integridad de los hemocomponentes y una transfusión sanguínea de calidad para que el paciente no presente reacción transfusional.

La identificación de bacterias contaminantes se presenta como una buena alternativa de control para los hemocomponentes que se transfundirán a pacientes que lo necesitan, los cuales ayudarán a mejorar los servicios de procesamiento de hemocomponentes y como consecuencia elevar los criterios de oportunidad y atención de calidad con hemocomponentes seguros como lo indica la ley N° 26454 del Programa Nacional de Banco de sangre (PRONAHEBAS) hacia los pacientes, sin producir reacciones transfusionales post transfusión sanguínea.

En la investigación realizada en el Hospital Regional Manuel Nuñez Butrón se reporta contaminación bacteriana en el hemocomponente plasma fresco congelado; en un 5%; identificándose a *Staphylococcus epidermidis* en un 3.3%, *Staphylococcus aureus* en un 0.85% y *Staphylococcus saprophyticus* en un 0.85%, siendo significativo en el paciente y la salud pública; así mismo, la relación del tiempo de almacenamiento no es significativo estadísticamente, lo cual demuestra una contaminación exógena que debe ser controlada en la fase de procesamiento pre transfusional.

La difusión de los resultados de esta investigación, contribuirán a diseñar estrategias de control para el mejoramiento del procedimiento de los hemocomponentes y elevar los criterios de calidad, los cuales ayudarán a mejorar el manejo pre transfusional en el Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia para beneficio de los pacientes. Los objetivos planteados son:



### **1.1 OBJETIVO GENERAL:**

- Determinar la contaminación bacteriana de hemocomponentes en el Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del Hospital Regional Manuel Núñez Butrón de Puno – 2019.

### **1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Identificar la contaminación bacteriana (Gram positivos y Gram negativos) en paquetes globulares del Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del Hospital Regional Manuel Núñez Butrón- Puno.
- Identificar la contaminación bacteriana (Gram positivos y Gram negativos) en plasma fresco congelado del Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del Hospital Regional Manuel Núñez Butrón- Puno.
- Determinar si el tiempo de almacenamiento, constituye un factor predisponente a la contaminación bacteriana de los paquetes globulares y plasma fresco congelado.

### **HIPOTESIS GENERAL**

- El hemocomponente plasma fresco congelado debidamente procesado en el Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del Hospital Regional Manuel Núñez Butrón están contaminadas en un 20 % con bacterias Gram positivas.



## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1 ANTECEDENTES.

Cruz (2014); realizó un estudio en el Hospital Provincial General Docente de Riobamba se estudió las complicaciones transfusionales inmediatas y tardías mediante la aplicación de sistemas de hemovigilancia a pacientes atendidos donde concluye que toda reacción transfusional sea inmediata o tardía se puede reducir mediante la aplicación del sistema de hemovigilancia que abarca la formación de guías, protocolos y la realización de pruebas de laboratorio que van antes, durante y posterior a una transfusión y culmina con un registro documental de toda la cadena transfusional.

Magariños *et al.* (2013); el comité de Infecciones Transmisibles por Transfusión determinó que existen dos vías principales de contaminación bacteriana: endógena y exógena. Estas bacteriemias pueden deberse a alteraciones gastrointestinales acaecidas en el mes anterior a la donación, provocadas por *Yersinia* o *Salmonella*, la vía de contaminación exógena más corriente es la flora normal de la piel con *S. epidermidis*, *S. aureus*, *Diphtheroides sp*, *Micrococcus sp*, *Sarcina sp*, *Pseudomonas sp*, *Bacillus sp*, también está descrita la existencia de otros contaminantes principales, siendo así los concentrados plaquetarios los componentes que poseen la mayor incidencia de contaminación bacteriana debido a que se almacenan hasta 5 días a  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$  observando crecimiento exponencial, alcanzándose niveles mayores a  $10^7$  UFC/ml.

Frenes *et al.* (2012); realizó un estudio en el Servicio de Banco de Sangre de la Universidad de Ciencias Médicas en Cuba, donde comentó que la infusión de componentes sanguíneos contaminados por bacterias puede causar una reacción séptica devastadora, con tasas de letalidad hasta 26%, aclarando que dentro de las principales



manifestaciones clínicas están enrojecimiento facial, fiebre alta, dolores abdominales, vómitos, diarreas, choque, hemoglobinuria, insuficiencia renal y coagulación intravascular diseminado; situando el riesgo de fallecimiento por bacteriemia en 1/500,000 de transfusiones de plaquetas y 1/8000,000 de unidades de concentrados de hematíes, mencionando que la prevalencia real del problema no se conoce con exactitud.

Oknaian (2012); ejecutó una investigación en el Servicio Clínico Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS, México, D.F. donde detectó contaminación bacteriana en todos los concentrados plaquetarios obteniendo resultados en el tamizaje positivo a *Staphylococcus coagulasa negativa* además de otros microorganismos, destacando que 50 % de todos los componentes que presentaron un cultivo positivo con un microorganismo identificado ya habían sido transfundidos y que la mediana del tiempo de detección fue de 25.7 horas.

Lee *et al.* (2012); ejecutó en su investigación en la clínica Chiapas de la ciudad de México D.F. analizando la prueba de citometría de flujo en detección rápida de contaminación bacteriana de concentrados de plaquetas ricas derivados de plasma, estudiando 5 cepas bacterianas que fueron detectadas dentro de las 24 horas con poco desperdicio de plaquetas para pruebas de esterilidad, además concluyo que el rápido crecimiento de bacterias más resaltante se detectó en 16 horas o menos identificando especies como *B. cereus*, *K pneumoniae* y *E.coli*.

Rivera *et al.* (2011); realizó un estudio en el Banco Central de Sangre, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social. México, D. F. sobre contaminación bacteriana de hemocomponentes, para identificar la prevalencia de contaminación bacteriana. Se estudiaron 2,154 aféresis de plaquetas de los cuales dos casos fueron positivos (riesgo: 1 en 1,077); en ambos casos se reportó *Staphylococcus spp.* coagulasa negativa. Se estudiaron 67 unidades de células progenitoras



hematopoyéticas con 1 caso positivo (riesgo 1 en 67); en el que se reportó crecimiento de *Stenotrophomonas maltophilia*; Entre los 422 concentrados eritrocitarios analizados no se registró ningún caso positivo.

Martini *et al.* (2010); en su estudio publicado en la Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical realizado en Hemocentro do Estado do Rio Grande do Sul (HEMORGS) de Santa Maria, donde detectó a *S. epidermidis* como una de las bacterias más comunes se realizó un perfil de sensibilidad a los antimicrobianos en donde 5 de las muestras de concentrados plaquetarios hubo crecimiento bacteriano y todas con la misma especie *Staphylococcus epidermidis* mediante la difusión del disco y automatización, esta bacteria mostró sensibilidad frente a sulfametoxazol- trimetropina, oxacilina, cefotixina, tetraciclina, vancomicina, rifampicina, penicilina y clindamicina, mientras que en otro método de detección para concentrados plaquetarios utilizando análisis bacteriológico cuantitativo y reducción de la concentración de glicolisis y del pH obtiene como resultados en 1 de 79 muestras crecimiento bacteriano de incontables UFC/ml, identificándolo como *Staphylococcus epidermidis* mediante métodos fenotípicos convencionales y automatizados.

Rivero (2008); realizó una investigación sobre “Transmisión de infecciones bacterianas y parasitarias por transfusiones de sangre y sus componentes”, realizado y publicado por Revista Cubana Hematol Inmunol Hemoter y ejecutado en la Habana Cuba, cuyos resultados fueron el aislamiento de *Staphylococcus*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Klebsiella*, resultando como principal factor predisponente la presencia de bacterias en la piel del brazo del donante y un segundo factor, donantes aparentemente sanos con bacteriemia transitoria.

Acevedo (2004); en su estudio por la Fundación Hemocentro en la Ciudad de Buenos Aires concluye que la transmisión bacteriana en plaquetas continúa siendo un





problema significativo generando un riesgo de 1: 2000 a 1:3000, Sepsis 1:20.000 transfusiones y casos fatales 1:60.000 transfusiones, generando un riesgo de fatalidad 1: 500000; a su vez menciona una prevalencia más baja de bacteriemia en plasma fresco congelado (PFC) por la temperatura en que estas son almacenadas.

Padilla (2004); en su investigación publicada en Medigraph asociado con la Academia Nacional de medicina de México. Demuestra una seria deficiencia en el debido proceso de donación, ya que, que la contaminación bacteriana afecta hasta en el 0.4% de los glóbulos rojos y 1-2% de los concentrados de plaquetas. Así mismo aduce que la sangre puede contaminarse por bacterias de la piel “estafilococo”, bacteriemia presente en la sangre como *Pseudomona* que puede crecer de 2°C a 6°C y estafilococo creciendo de 20°C a 24°C (plaquetas).

Quintana (2004); demostró en su investigación contaminación bacteriana de hemocomponentes realizado en el Servicio Clínico Banco Central de Sangre, Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS, México, D.F, que la contaminación bacteriana en su mayoría es causada por *Yersinia enterocolitica*, seguido del organismo más prevalente *Pseudomona spp.* (25%), *Serratia spp.* (11%) y otros organismos (18%) pudiéndose demostrar que aproximadamente el 80% de la sepsis bacteriana ocurre por organismos capaces de crecer a bajas temperaturas.

Lin y Liu (2002); en su investigación sobre “sistema automatizado de detección de bacterias en plaquetas, realizada en el Servicio de Transfusión de Sangre de la Cruz Roja de Hong Kong, logró aislar *Bacillus spp.* *Staphylococcus spp.* *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella*, *Streptococcus bovis* y *Propionibacterium acnés*, detectados en períodos de 25, 26 y 28 horas y en 2 casos de contaminación por *Propionibacterium* detectados después de las 48 horas, todos los demás contaminantes se detectaron dentro de las 48 horas de incubación, concluyó que se reconoce que la mayoría



de los organismos aislados que contiene la sangre donada provienen de la flora normal de la piel o del medio ambiente y que se introducen en las unidades de sangre en el momento de la venopunción.

Vázquez *et al.* (2002); en su estudio realizado en el Hospital Victorino Santaella de los Teques, Escuela Luis Razetti, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, sobre reacciones pos transfusionales, determinó que los microorganismos contaminantes son en ese orden *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, y *Staphylococcus epidermidis*, y concluye que la contaminación bacteriana de las unidades de sangre está directamente relacionada con el tiempo de almacenamiento, aunque la sepsis por *Yersinia* ha sido reportada después de la transfusión de eritrocitos que habían sido almacenados por solo 7 a 14 días.

Bruneau *et al.* (2001); en su investigación del Centro Atlántico de Sangre en Francia específica que durante la extracción, se informó que tomar la primera alícuota de sangre redujo el riesgo de contaminación bacteriana, lo que *in vitro* demostró que el desarrollo de un sistema que desviaba la sangre completa hacia los tubos antes de llenar la bolsa principal aumentaba la incidencia de sepsis por microorganismos de la piel. Se utilizó un sistema donde recolectaron dos alícuotas consecutivas de 15 ml antes de llenar la bolsa principal y observaron una diferencia en la prevalencia de contaminación bacteriana de 0.6%. La primera alícuota mostró una prevalencia del 2,2% y la segunda del 1,6%.

Bolarinwa *et al.* (1996); realizó un estudio en el Hospital terciario en Nigeria donde se demuestra que no solo *Staphylococcus epidermidis* es la única especie posible a encontrar, ya que estudio 162 unidades de sangre donde 14 se encontraron contaminados, todas ellas con bacterias Gram positivas como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus sp.* y *Listeria sp.* por tal motivo, se presagio un riesgo potencial de infección



asociada a la atención hospitalaria a los pacientes y con importancia para la salud pública recomendando protocolos de prevención y control de contaminación de la sangre del donante.

## **2.2 MARCO TEÓRICO.**

### **2.2.1. Sangre y Hemocomponentes.**

La sangre es una forma especial de tejido conectivo compuesto por una sustancia intercelular líquida llamada plasma, en la que se suspende elementos simbólicos: glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas. La sangre circula a través de un sistema de tubos cerrados llamados vasos sanguíneos. El volumen de sangre de un adulto sano es de 5 L, lo que representa aproximadamente el 8% del peso corporal. La sangre funciona manteniendo una composición suficiente y casi constante de fluidos corporales para proporcionar nutrición, crecimiento y función de las células del cuerpo. Participa en el intercambio entre el medio externo y los tejidos corporales, también es portador de hormonas y otras sustancias biológicamente activas, y regula las funciones de órganos como el hígado, la médula ósea y las glándulas endocrinas.

La función principal de los glóbulos rojos es mantener una alta concentración de hemoglobina en la circulación, que es esencial para el transporte de oxígeno y dióxido de carbono. Los leucocitos participan en el sistema de defensa del cuerpo a través de respuestas celulares inespecíficas o respuestas inmunes específicas. Por otro lado, los estudios han demostrado que los virus son potentes inductores del interferón leucocitario humano (alfa), posee propiedades antivirales y antitumorales, por lo que también actúan sobre el sistema de defensa del organismo. Las plaquetas son elementos formes de la sangre y participan en la prevención del sangrado y el mantenimiento de la integridad del endotelio vascular a través del mecanismo de coagulación (Martini *et al.*, 2010).



## **Hemocomponente**

Se refiere a cualquier componente de la sangre: glóbulos rojos, glóbulos blancos, plaquetas y plasma, utilizados con fines terapéuticos (Martini *et al.*, 2010).

### **Elementos constituyentes de la sangre**

Los principales componentes de la sangre son:

- Plasma
- Glóbulos rojos (eritrocitos)
- Glóbulos blancos (leucocitos)
- Plaquetas (trombocitos)

### **Plasma**

El plasma es el componente líquido de la sangre en el que se suspenden los glóbulos rojos (eritrocitos), los glóbulos blancos (leucocitos) y las plaquetas. Ocupa más de la mitad de su volumen y está compuesto principalmente por agua, que contiene sales (electrólitos) y proteínas disueltas. La proteína más abundante en el plasma es la albúmina, que ayuda a evitar que los fluidos corporales se escapen de los vasos sanguíneos y entren en los tejidos. También realiza funciones de transporte al combinarse con hormonas y ciertos medicamentos y otras sustancias (MINSa, 2008).

El plasma contiene otras proteínas, como anticuerpos (inmunoglobulinas), que pueden proteger activamente el cuerpo de virus, bacterias, hongos y células cancerosas. También existen factores de coagulación que pueden prevenir el sangrado (MINSa, 2008).

El plasma tiene otras funciones. Como depósito, no solo puede reponer agua cuando el cuerpo es insuficiente, sino que también puede absorber el exceso de agua en



los tejidos. Cuando los tejidos del cuerpo necesitan más líquidos, el agua del plasma es el primer recurso que se utiliza para satisfacer esta necesidad. El plasma también puede evitar que los vasos sanguíneos se colapsen u obstruyan, y ayuda a mantener la presión arterial y la circulación por todo el cuerpo. Esto hace que circule constantemente por los vasos sanguíneos (MINSA, 2008).

La circulación del plasma también logra la regulación de la temperatura al transportar el calor generado en los tejidos más internos del cuerpo a áreas donde el calor es más fácil de disipar (como extremidades y cabeza). (MINSA, 2008).

### **Elementos formes**

Según Magariños *et al.*, 2003 "La investigación de los elementos formes de la sangre es de gran importancia clínica, ya que la morfología, el número y las proporciones de los diferentes tipos celulares" son indicadores del estado de salud. Por esta razón, la hematología citológica permanece actualizada y representa una parte esencial del examen sistemático de cada individuo. La cantidad de datos cuantitativos y cualitativos se denomina hemograma; sus valores normales varían con el sexo, la edad, el estado fisiológico, la ubicación geográfica del individuo, etc. La cantidad de elementos circulantes se determina mediante técnicas hemocitométricas que permiten contarlos y relacionarlos con la unidad de volumen ( $\text{mm}^3$ ). Las características cualitativas se determinan mediante la observación microscópica de muestras (frotis) teñidas con la técnica de MayGrünwald-Giemsa, que permite ver la mayoría de los detalles morfológicos de glóbulos rojos, leucocitos y plaquetas. La concentración de glóbulos rojos es de 5 millones por  $\text{mm}^3$  de sangre en los hombres y de 4,5 millones por  $\text{mm}^3$  en las mujeres, cifras que pueden variar según el estado de la enfermedad y el lugar en el que se encuentre a gran altura (Quintana, 2004).



## Los glóbulos rojos (eritrocitos)

Los glóbulos rojos o hematíes son los tipos de células más numerosos en la sangre, ya que representan el 99% de la sangre, tienen un diámetro promedio de 8 micrones, son muy delgados y flexibles y pueden deformarse para circular a través del más estrecho de los capilares. En personas normales, su número es de aproximadamente  $5.200.000 / \text{mm}^3$  ( $5 \times 10^{12} / \text{litro}$  o 5 mil millones de glóbulos rojos por litro de sangre) y en mujeres  $4.700.000 / \text{mm}^3$  ( $4,7 \times 10^{12} / \text{litro}$ ) de sangre. Su función principal es el transporte de hemoglobina y consecuentemente el transporte de oxígeno ( $\text{O}_2$ ) de los pulmones a los tejidos y dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) de los tejidos a los pulmones (Teixeira *et al.*, 2011).

La hemoglobina (Hb) es responsable del color rojo de la sangre y es la principal proteína de los eritrocitos (aprox. 15 g / dl de sangre). Cada molécula de Hb consta de 4 subunidades y cada subunidad consta de un grupo hemo (contiene 1 átomo de hierro) unido a una globina. La fracción de hierro de la Hb se une de manera reversible al  $\text{O}_2$  para formar oxihemoglobina. El hematocrito representa el porcentaje del volumen sanguíneo total ocupado por los glóbulos rojos. En condiciones normales es del 38% ( $\pm 5$ ) en las mujeres y del 42% ( $\pm 7$ ) en los hombres. El volumen corpuscular medio (VCM) es el volumen medio de cada eritrocito. Es el resultado de dividir el hematocrito por el número de glóbulos rojos; su valor normal está entre 82-92 fl (femtolitro), si es mayor se llama macrocitosis y si es menor se llama microcitosis (Magariños *et al.*, 2003).

La hemoglobina corpuscular media (HCM) es el contenido medio de Hb en cada eritrocito. Se obtiene dividiendo la cantidad total de hemoglobina por la cantidad de glóbulos rojos. El valor normal es de alrededor de 28 pg. (picogramos). La concentración corpuscular media de hemoglobina (CCMH) proporciona un índice del contenido medio de Hb en la masa de eritrocitos circulantes, el resultado de dividir la cantidad total de hemoglobina por el hematocrito. Su valor es de unos 33 g / dl. La velocidad de



sedimentación globular (VSG) es la velocidad a la que los glóbulos rojos se depositan en un tubo de sangre descoagulada. En condiciones normales, es de 2 - 10 mm durante la primera hora. Aumenta con la infección o la inflamación y puede ser fisiológicamente alta durante el embarazo (Quintana, 2004).

### **Los glóbulos blancos (leucocitos)**

Se encuentran en menor número en la sangre que los glóbulos rojos, con una proporción aproximada de un glóbulo blanco por 600 a 700 glóbulos rojos. Son los principales responsables de las defensas del cuerpo contra las infecciones. Hay cinco tipos principales de glóbulos blancos (leucocitos).

Los neutrófilos son el tipo más numeroso y ayudan al cuerpo a protegerse de las infecciones al matar e ingerir bacterias, hongos y otros desechos externos.

Los linfocitos, con tres tipos principales: células T (linfocitos T) y células asesinas naturales, también llamadas células NK, que permiten al cuerpo defenderse de las infecciones virales, reconocen y destruyen algunas células cancerosas y células B (linfocitos B), que se convierten en células plasmáticas y producen anticuerpos.

Los monocitos ingieren células muertas o dañadas y contribuyen a la defensa contra una gran cantidad de microorganismos infecciosos (Teixeira *et al.*, 2011).

Los eosinófilos matan a los parásitos, destruyen las células cancerosas y participan en reacciones alérgicas. Los basófilos también están involucrados en reacciones alérgicas (Agur *et al.*, 2007).

Algunos glóbulos blancos circulan en el torrente sanguíneo, pero muchos otros se adhieren a las paredes de los vasos sanguíneos o incluso los penetran para atravesar otros tejidos, atrayendo más glóbulos blancos (leucocitos). Actúan como un ejército: se distribuyen por todo el cuerpo, pero siempre están listos para unirse y defenderse de los



microorganismos invasores. Los glóbulos blancos realizan esta tarea de diferentes formas: digiriendo los microorganismos y también produciendo anticuerpos que se adhieren a los patógenos para destruirlos más fácilmente (Teixeira *et al.*, 2011).

Si tiene un nivel bajo de glóbulos blancos (leucopenia), es más probable que contraiga una infección. Aunque un número por encima de lo normal (leucocitosis) puede no causar síntomas directamente, a veces es una indicación de una afección subyacente, como una infección, inflamación o leucemia.

Los linfocitos son células esféricas que pueden alcanzar los 6 - 8  $\mu\text{m}$  de diámetro en la sangre humana, aunque a veces son más grandes. Pertenecen a los 26 – 40% de leucocitos sanguíneos y generalmente aparecen como células redondas con un núcleo grande, rodeadas por un borde citoplasmático escaso. El núcleo es esférico y tiene una pequeña cavidad. La cromatina condensada hace que sea imposible visualizar el nucléolo en los vasos sanguíneos coloreados.

El citoplasma tiene una alta afinidad por los colorantes básicos, las microfotografías electrónicas muestran que los linfocitos tienen pocas mitocondrias, los centríolos a menudo se encuentran en la cavidad del núcleo celular, el retículo endoplásmico liso y rugoso es raro y el aparato de Golgi está ubicado cerca de los centríolos. Los ribosomas libres son abundantes, lo que explica la basofilia citoplasmática antes mencionada, aunque este tipo de células se clasifica como leucocitos agranulares, alrededor de 10 de estas células pueden tener gránulos azurófilos en su citoplasma que, a diferencia de los específicos de los granulocitos, no son constantes (Teixeira *et al.*, 2011).

Todas las características mencionadas corresponden a los llamados linfocitos pequeños, que suelen encontrarse en mayor medida en la sangre periférica, pero también existen otros linfocitos de mayor tamaño (10 - 12  $\mu\text{m}$  de diámetro), medianos y grandes,





que tienen abundante citoplasma, núcleos de cromatina más sueltos y nucléolos prominentes ubicados en tejidos y órganos linfoides (Quintana, 2004).

#### Las Plaquetas (trombocitos)

Son partículas parecidas a células, más pequeñas que los glóbulos rojos y blancos. La cantidad de plaquetas es menor que la de glóbulos rojos, en una proporción de una plaqueta por 20 glóbulos rojos. Están involucrados en el proceso de coagulación, ya que se unen en los puntos de sangrado y se agrupan en un tapón que estimula el sangrado, ocluyen el vaso sanguíneo. Al mismo tiempo, liberan sustancias que ayudan a la coagulación de la sangre. Si tiene un recuento de plaquetas muy bajo (trombocitopenia), es más probable que se formen hematomas y sangrado anormal; un recuento de plaquetas muy alto (trombocitemia) conduce a una coagulación sanguínea excesiva, lo que puede desencadenar un ataque isquémico transitorio; si el recuento de plaquetas es extremadamente alto, pueden absorber las proteínas de la coagulación y, paradójicamente, causar sangrado (Quintana, 2004).

#### 2.2.2. Aféresis

La sangre se ha transfundido con éxito durante unos 60 años. Durante este tiempo, la práctica de las transfusiones ha cambiado radicalmente debido a la mejora en los métodos de recolección y almacenamiento de sangre. La extracción, preparación, almacenamiento y transporte de sangre y sus componentes son:

- Mantener la vitalidad y función de los componentes más importantes.
- Evitar cambios físicos que puedan dañar los componentes.
- Minimizar el crecimiento bacteriano.



## **Procesamiento de la unidad de sangre según ley n° 26454 – Decreto Supremo**

### **N° 03-95-SA – PRONAHEBAS.**

Todas las unidades de sangre recolectadas de donaciones pasan por una serie de procesos y pruebas analíticas antes de ser clasificadas como aptas para transfusión, como se describe a continuación:

#### **Fraccionamiento:**

La unidad de sangre se separa en sus componentes por medios físicos (centrifugación) tales como: concentrado de glóbulos rojos (paquete de sangre), concentrado de plaquetas y componentes del plasma (plasma fresco congelado y / o crioprecipitado).

Este procedimiento debe realizarse dentro de las 6 horas posteriores a la extracción de sangre para aprovechar al máximo sus componentes, obteniendo:

**Sangre total (ST).** Es la unidad de sangre, ya que se recoge en bolsas cuádruples sin fraccionamiento con un volumen total de aproximadamente 500 cc. (430 cc de sangre + 70 cc de anticoagulante); Se conserva a temperatura refrigerada (2 a 6 °C) y se puede almacenar hasta ser usado 42 días después de la extracción (cuando se utiliza el anticoagulante CPDA<sub>sol</sub>) y se puede obtener 01 unidad de cada uno de los hemocomponentes descritos a continuación (PG, CP, PFC y Crioprecipitados.).

**Sangre total reconstituida.** Es una unidad de sangre con un volumen de aproximadamente 450 cc de volumen, que resulta de la combinación de una unidad de paquete esférico y un volumen correspondiente de plasma fresco congelado, que no necesariamente proviene del mismo donante. 24 horas de su Fabricación utilizadas; de lo contrario, debe eliminarse.

**Paquete globular (PG).** Es el concentrado de glóbulos rojos que resulta de la eliminación de la mayor parte del plasma de la sangre completa, dando un volumen resultante de 200 a 250 cc; Por tanto, tiene un valor de Hto más alto que la sangre total, que está entre el 60 y el 70%, contiene entre 50 y 60 g de Hb y 250 mg de hierro, y tiene la misma capacidad de transporte de oxígeno que la sangre total, pero en un menor volumen de mantenimiento y duración (PRONAHEBAS, 2007).

**Paquete globular leucorreducido.** También se llama "concentrado de leucocitos". Se realiza mediante procesos físicos (centrifugación y eliminación de la capa leucocitaria, lavado, filtros especiales, etc.) que no desencadenan reacciones indeseables en el recipiente.



**Figura 1.** Paquete globular

**Fuente:** Higgins (2016)

**Paquete globular lavado.** Es el concentrado de hematíes, cuyo sistema cerrado se abre para "lavarlo" y luego re suspenderlo con solución salina al 0,9% (NaCl al 0,9%), con un volumen de aproximadamente 180 cc. Con este procedimiento Plasma, plaquetas, restos celulares son prácticamente eliminados y leucocitos reducidos, debe ser utilizado dentro de las 24 horas siguientes a su preparación, en caso contrario debe ser eliminado.

**Concentrado de plaquetas (CP).** Es el hemocomponente que resulta de la extracción de la masa eritrocitaria, la mayor parte del plasma y los leucocitos de la unidad de sangre total; Contiene  $5.5 \times 10^{10}$  plaquetas en un volumen de 30 a 50cc aprox y es el único componente sanguíneo que se puede conservar por un máximo de 5 días a temperatura ambiente y con movimiento constante (PRONAHEBAS, 2007).

**Plasma fresco congelado (PFC).** Este es plasma obtenido de sangre completa que se congela y almacena a  $-18^{\circ}\text{C}$  (idealmente  $-30^{\circ}\text{C}$ ); Tiene un volumen de 200 a 250cc aprox y una duración máxima de 06 meses (hasta un año cuando se almacena a  $-30^{\circ}\text{C}$ ) Este componente sanguíneo contiene agua, carbohidratos, grasas, minerales, proteínas y todos los factores de coagulación (inestable y estable) si se obtiene dentro de las 6 horas posteriores a la extracción.



**Figura 2.** Plasma fresco congelado

**Fuente:** Higgins (2016)

### **Estudio Inmunohematológico**

El objetivo es confirmar el grupo sanguíneo de la unidad y detectar en ella anticuerpos irregulares, anticuerpos que normalmente no se encuentran en la sangre de una persona a menos que estén presentes en el embarazo o transfusiones previas estimuladas por exposición a antígenos de glóbulos rojos "extraños". Estos anticuerpos irregulares pueden ser la causa de reacciones transfusionales en el paciente que recibe



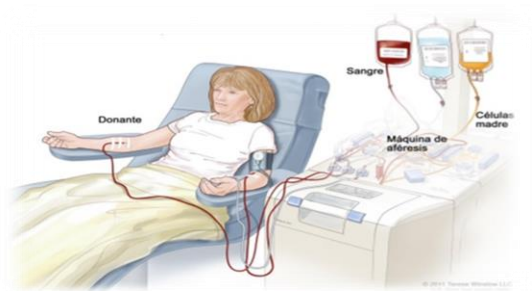
esta unidad de sangre, por lo que es recomendable no utilizar componentes sanguíneos que demuestren su presencia (PRONAHEBAS, 2007).

### **Estudio Inmunoserológico**

También llamado "tamizaje"; El objetivo de estas pruebas es detectar la presencia de antígenos o anticuerpos (marcadores infecciosos) relacionados con infecciones hemotransmisibles causadas por VIH 1 y 2, hepatitis B (Ag. de superficie Y Total Core), hepatitis C, HTLV 1 y 2, *Trypanosoma cruzi* (enfermedad de Chagas) y *Treponema pallidum* (Sífilis), todos estudios obligatorios a nivel nacional. Cualquier hemocomponente que muestre reactividad o respuesta indeterminadas a un marcador se considera NO APTO (MINSAL, 2008)

Finalmente, si no presenta reactividad a marcadores infecciosos así como ausencia de anticuerpos irregulares, la unidad de sangre y sus componentes califican como APTA para uso clínico por estar debidamente registrada, etiquetada y almacenada. Por el contrario, si se encuentra NO APTO, se eliminará de acuerdo con las normas de bioseguridad (MINSAL, 2008).

Las transfusiones de sangre pueden salvar la vida de un paciente. Se deben considerar tanto los beneficios como los efectos secundarios al decidir si notificar una transfusión de sangre. Una complicación que supone un desafío y una preocupación constante para el paciente. La comunidad científica es la transmisión de infecciones por virus, protozoos, espiroquetas, bacterias y priones. Aunque se han utilizado varias estrategias de prevención en los países desarrollados, este no es el caso en los países en desarrollo. Por lo tanto, la investigación debe continuar para encontrar estrategias más efectivas, eficientes y ampliamente disponibles para una sangre segura.



**Figura 3.** Aféresis

**Fuente:** Higgins (2016)

### Reacciones Post-transfusionales

La reacción a la transfusión se define como cualquier evento que ocurre durante o después de la infusión de productos sanguíneos (Pedrosa *et al.*, 2013). A pesar de todas las medidas de control, las transfusiones de sangre todavía presentan riesgos en muchos aspectos, aunque tales reacciones no pueden estimarse con precisión debido a varios problemas. Primero, muchas reacciones se han atribuido incorrectamente a la enfermedad subyacente del paciente y nunca se han informado. En segundo lugar, casi el 50% de las transfusiones de sangre se administran a pacientes anestesiados en el quirófano y las reacciones de estos pacientes son más difíciles de identificar. Por último, muchas reacciones a las transfusiones de sangre no se informan e ignoran, aunque la mayoría de los centros médicos carecen de un sistema estricto de notificación de reacciones a las transfusiones de sangre y son reconocidas (Refaai *et al.*, 2013).

Hay muchas causas de reacciones adversas, que pueden ocurrir durante, inmediatamente o después de la transfusión de sangre, por lo que pueden dividirse en agudas y retardadas, y luego subdividirse en inmunes y no inmunes (Contreras y Martínez, 2015). Las complicaciones a corto y largo plazo de la transfusión de sangre se muestran en la (Anexo 6), incluidas las reacciones alérgicas a diferentes tipos de células



o moléculas, reacciones febriles, la propagación de enfermedades infecciosas como el SIDA, la malaria, la hepatitis B y C, Enfermedad de Chagas y sífilis Además de la infusión de productos incompatibles, el resultado puede ser fatal (Sanchez *et al.*, 2015).

La reacción no inmune es causada por las propiedades físicas o químicas del producto sanguíneo transfundido y los patógenos infecciosos presentes en la unidad. Dentro de esta clasificación de reacciones agudas postransfusionales se encuentran la sobrecarga circulatoria y ciertos efectos adversos provocados por la administración de varias unidades de sangre en un período corto de tiempo, así como la aparición de enfermedades infecciosas por la presencia de agentes microbianos en la transfusión sanguínea.(Galel *et al.*, 2013). En el pasado, las complicaciones más aterradoras eran la propagación de enfermedades infecciosas y reacciones hemolíticas causadas por la incompatibilidad del grupo sanguíneo ABO. Con el desarrollo de la tecnología de laboratorio y el diseño de programas de administración y donación de sangre para transfusiones, la frecuencia de estas complicaciones se ha reducido significativamente dando mayor seguridad al paciente (Delgado, 2012).

En la actualidad, se estima que al menos el 20% de las transfusiones de sangre tendrán algún tipo de reacción adversa, de las cuales el 0.5% son graves, y se ha determinado que el error humano en la transfusión de sangre en realidad representa el 50% de los accidentes graves después de la transfusión de sangre (González *et al.*, 2017)

### 2.2.3. Contaminación bacteriana de hemocomponentes:

En contraste con las infecciones transmitidas por transfusión, la contaminación bacteriana de los componentes para transfusión, posee una incidencia muy alta, estimándose entre 1/2000 y 1/3000 unidades de plaquetas y 1/30.000 unidades de concentrados globulares. La prevalencia de episodios severos de sepsis bacteriana



asociada a la transfusión se estima aproximadamente en 1/6 de las unidades contaminadas transfundidas. En la actualidad es evidente, que el evento de contaminación bacteriana excede ampliamente la incidencia de los agentes virales de detección obligatoria en donantes de sangre (Yomtovian *et al.*, 2002).

Durante más de 20 años, la literatura de medicina transfusional ha estado recopilando datos que evalúan la morbilidad y mortalidad de los componentes contaminados con bacterias. Por otro lado, muchos casos de sepsis postransfusional no son reconocidos y muchos de ellos, si lo hacen, no se reconocen, por lo que se subestima el aumento del riesgo de contaminación bacteriana de las unidades de transfusión.

Hay dos rutas principales de contaminación bacteriana: endógena y exógena. La bacteriemia aguda o crónica en donantes de sangre, generalmente en un nivel bajo, puede ser responsable de la contaminación de los componentes donados. Esta bacteriemia puede deberse a trastornos gastrointestinales ocurridos el mes anterior a la donación, provocados por *Yersinia* o *Salmonella*, o en este caso tras un tratamiento dental, provocados por *Staphylococcus spp*, *Streptococcus viridans* o *Serratia liquefaciens* (Sazama, 1990).

La ruta más común de contaminación exógena es la flora cutánea normal con *S. epidermidis*, *S. aureus*, *Diphtheroides sp*, *Micrococcus sp*, *Sarcina sp*, *Pseudomonas sp*, *Bacillus sp*. la presencia de otros contaminantes importantes que pueden entrar en la bolsa de extracción si el lugar de la punción venosa no se ha sometido a un procedimiento aséptico adecuado o es causada por factores ajenos al proceso aséptico dérmico. (Puckett *et al.*, 1992).

Los concentrados de plaquetas son los componentes con mayor contaminación bacteriana, ya que se almacenan hasta 5 días a  $22 \pm 2$  ° C, por lo que esta temperatura favorece la multiplicación de estos microorganismos.





La mayoría de las especies bacterianas encontradas como contaminantes tienen una fase de inactividad (log phase) que puede durar entre 24 y 48 horas. Posteriormente se observa crecimiento exponencial alcanzando niveles superiores a  $10^7$  UFC / ml. (Yomtovian *et al.*, 2002).

Específicamente durante la extracción, se informó que tomar la primera alícuota de sangre redujo el riesgo de contaminación bacteriana, lo que *in vitro* demostró que el desarrollo de un sistema que desviaba la sangre completa hacia los tubos antes de llenar la bolsa principal aumentaba la incidencia de sepsis por microorganismos de la piel. Se utilizó un sistema donde recolectaron dos alícuotas consecutivas de 15 ml antes de llenar la bolsa principal y observaron una diferencia en la prevalencia de contaminación bacteriana de 0.6%. La primera alícuota mostró una prevalencia del 2,2% y la segunda del 1,6%. (Bruneau *et al.*, 2001).

Con base en estos datos, muchas instituciones nacionales han integrado de manera rutinaria el uso de bolsas de recolección de sangre o máquinas de aféresis con dispositivos para drenar los primeros mililitros para reducir el riesgo de contaminación bacteriana. Las Normas Técnicas y Administrativas de la Especialidad Hemoterapia, promulgadas por Resolución 797/2013 del Ministerio de Salud de la Nación, incluyen este requisito con el mismo objetivo, dado que la ANMAT aprobó la comercialización de bolsas de extracción de sangre con sistema de derivación (MINSa, 2013).

### **Factores predisponentes de contaminación bacteriana en hemocomponentes**

La contaminación bacteriana, en la mayoría de los casos, resulta de la presencia de bacterias en la piel del brazo donante (Stainsby *et al.*, 2003).

La desinfección del brazo donante reduce significativamente la carga de gérmenes a este nivel, pero no "esteriliza" el brazo donante. Aunque se ha demostrado que se puede



reducir utilizando las mejores prácticas para desinfectar el brazo donante, se pueden reducir las concentraciones de contaminantes en la parte superior de la piel (Lee *et al.*, 2002).

La extracción de sangre es un momento crítico ya que la contaminación con bacterias cutáneas es muy común. Se evaluaron varias medidas de intervención para minimizar la contaminación, que van desde mejorar la desinfección del brazo donante hasta separar o drenar parte del contenido de la bolsa con mayor "probabilidad de estar contaminado" hasta que se introduzcan métodos o sistemas de detección de bacterias (McDonald *et al.*, 2006).

Desinfectar la piel antes de la venopunción sigue siendo la primera línea de defensa para prevenir la contaminación bacteriana por *Staphylococcus* coagulasa negativo, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus*. Estudios separados realizados por diferentes servicios de donación de sangre recomiendan la mejor técnica de desinfección de la piel del brazo donante. El uso de alcohol isopropílico al 70% seguido de la aplicación de tintura de yodo (Jones *et al.*, 1993).

En el ámbito internacional, la atención se centra en la limpieza profunda del antebrazo con agua y jabón, la desinfección con alcohol etílico al 70% y el uso de una solución de yodo a base de povidona yodada, que cumple con las expectativas si se usa de manera constante.

La separación o drenaje de los primeros mililitros de sangre recolectada se basa en el principio de que en el flujo sanguíneo inicial habría contaminación bacteriana de la piel del brazo donante, y si se desviara a una bolsa satélite o tubo de recolección diferente a la bolsa de sangre, estaría protegida de la contaminación y no habría necesidad de perder o desechar esta sangre, ya que este tubo o bolsa satélite se puede utilizar para pruebas



serológicas o de grupo sanguíneo. Los estudios han demostrado que este procedimiento simple puede reducir contaminación bacteriana en un 40-88% y cualquier contaminación residual, la introducción de una combinación de procedimientos que incluyan la desviación y una mejor desinfección de la piel del brazo podría ser del orden del 30 al 40%, por lo tanto, tiene sentido desviar los primeros 15 ml de la donación, que suele estar más contaminada con bacterias de la piel: en algunos países, en último lugar recientemente se han introducido controles de esterilidad de rutina de concentrados de plaquetas (Jones *et al.*, 1993).

En contraste con la detección de infecciones virales, el cribado bacteriano plantea un desafío especial por las siguientes razones: A diferencia de los virus, las bacterias pueden multiplicarse o morir durante el almacenamiento de componentes sanguíneos; el inóculo inicial podría ser extremadamente pequeño e indetectable en sus primeras etapas; una amplia gama de bacterias, a diferencia de los virus, pueden contaminar la sangre; en la mayoría de los casos no se encuentra una respuesta de anticuerpos relevante, ya que la contaminación no siempre ocurre como resultado de la propia infección del donante; No existen métodos rápidos, sensibles y específicos como se conocen hasta ahora para los principales virus transmitidos por la sangre; las pruebas no deben realizarse "inmediatamente" después de la toma de la muestra de sangre, ya que esto no tendría sentido, como es el caso de los virus; todos los componentes de una subvención deben evaluarse por separado; la selección de donantes juega un papel menor cuando se trata de contaminación bacteriana de procesos que no pueden atribuirse al donante (McDonald *et al.*, 2006)

La segunda causa se debe a donantes aparentemente sanos con bacteriemia transitoria. *Yersinia enterocolitica* es la bacteria más comúnmente involucrada en la transmisión de células sanguíneas contaminadas. Los estudios prospectivos han



demostrado que la prevalencia de bacterias en los componentes sanguíneos depende del componente (Bruneau *et al.*, 2001).

Para los receptores de glóbulos rojos, el riesgo es bajo porque se almacenan refrigerados y se estima en 1 en 1, 000,000 en los Estados Unidos, alrededor de la mitad de los casos el agente es *Yersinia enterocolitica* que normalmente crece desde 25 °C, pero también puede crecer a 4 °C y provocar reacciones graves y en ocasiones mortales. Muchos de los casos restantes se deben a *Pseudomonas spp.* El primero estaría en el torrente sanguíneo del donante y el segundo sería un contaminante ambiental (NIH, 1995).

Otros agentes biológicos que se han asociado con donantes con bacteriemia asintomática son *Campylobacter jejuni*, *Salmonella heidelberg*, *Escherichia coli* y *Salmonella enterica* (Tipple *et al.*, 1990). También se han dado casos de transmisión bacteriana a través de donantes con enfermedad crónica de bajo grado. Se informó que las infecciones son causadas por *Salmonella choleraesuis* y *Serratia liquifaciens*, así como por bacteriemia transitoria después del tratamiento dental por *Staphylococcus aureus* (McDonald *et al.*, 2006).

La atención internacional se centra ahora en los concentrados de plaquetas, ya que son el producto sanguíneo más susceptible a las infecciones bacterianas, ya que se almacenan a una temperatura que fomenta el crecimiento de diversas bacterias contaminantes entre 1 en 20 000 y 1 en 100 000 transfusiones y debido al mayor riesgo con el tiempo de almacenamiento, estos componentes deben desecharse 5 días después de la recolección. Están involucrados varios microorganismos, de los géneros *Staphylococcus*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Klebsiella* y otros (NIH, 1995). Para prevenir la contaminación bacteriana, el enfoque más lógico es evitar la entrada de



bacterias en los componentes sanguíneos en todas las etapas de la fabricación de las bolsas.

### **Hemovigilancia.**

El Programa de Hemovigilancia en los centros asistenciales que realizan transfusión de sangre y de derivados tiene como objetivo recoger la información acerca de todos los incidentes presentados relacionados y/o a consecuencia de las transfusiones, con la finalidad de tomar conocimiento de las mismas y con ello implementar las medidas correctivas necesarias (Pedrosa, 2013). Según reportes hospitalarios, las reacciones adversas a la transfusión sanguínea se presentan en el 0,3 % de las transfusiones realizadas. Las reacciones observadas por su frecuencia, aproximadamente el 50 % corresponden a reacciones febriles no hemolíticas y el 30 %, a reacciones alérgicas leves, seguido en menor frecuencia por reacciones alérgicas graves, sobrecarga de volumen, inmunológicas, entre otras. (Sanchez *et al.*, 2015)

### **Metodologías y contaminación bacteriana en hemocomponentes**

Además de los métodos microbiológicos convencionales (como la tinción de Gram) o el uso de marcadores alternativos (como las tiras reactivas para determinar el pH o el nivel de glucosa), existen varios métodos eficientes disponibles en el mercado internacional para la detección de contaminación bacteriana, especialmente en concentrados de plaquetas.

Estos se dividen en 2 principios metodológicamente diferentes: El primero utiliza métodos basados en la inoculación y cultivo de bacterias contaminantes, es altamente sensible (teóricamente podría detectar hasta una bacteria por muestra), pero requiere tiempo de incubación para que genere señales (al menos 24 horas). Teniendo en cuenta la pequeña cantidad de bacterias que podrían pasar durante la donación de sangre



(generalmente solo de 10 a 100 bacterias por bolsa, lo que corresponde a 0,03 a 0,3 bacterias por ml). El principio no proporciona resultados rápidos y los concentrados de plaquetas deberían almacenarse en el banco de sangre durante al menos un día después de la producción. Durante este tiempo, la primera multiplicación de bacterias contaminantes tiene lugar en la bolsa, lo que conduce a un aumento en el número de bacterias y, por lo tanto, una mayor probabilidad de diagnóstico del método (De Korte *et al.*, 2006).

Se adquirió más experiencia con el uso de métodos de cultivo microbiológicos automatizados, como BacT/Alert (BioMerieux, Francia); quienes monitorean permanentemente los niveles de CO<sub>2</sub> producidos por bacterias. Se pueden detectar bacterias tanto aeróbicas como anaeróbicas. Muchos autores recomiendan continuar con el monitoreo después de usar la bolsa de concentrado y advertir al hospital receptor si existe alguna evidencia de contaminación para discontinuar el producto o, si ya se usó, administrar al paciente un tratamiento antibiótico antes de su uso. (De Korte *et al.*, 2006).

Otro sistema de cultivo desarrollado por la empresa estadounidense Pall Corporation, el denominado Enhanced Bacteria Detection System, que utiliza el consumo de O<sub>2</sub> como marcador, se coloca una muestra del concentrado de plaquetas en una bolsa satélite y se añade durante 18 - 24 horas, incubado a 35°C, pero tiene la desventaja de que no se reconocen las bacterias estrictamente anaeróbicas o los consumidores bajos de O<sub>2</sub> (McDonald *et al.*, 2005).

El segundo principio se basa en métodos rápidos de detección de bacterias sin incubación. Los ácidos nucleicos bacterianos se marcan con tintes fluorescentes y luego se miden mediante varios métodos. Otros autores han informado del uso de NAT - PCR midiendo secuencias codificadas por ADN ribosómico de genes bacterianos que se han conservado en gran medida durante la evolución, pero que aún no están disponibles



comercialmente. Los métodos rápidos toman menos tiempo, minutos o algunas horas, pero su sensibilidad general es menor y depende del método analítico utilizado y del volumen de muestra tomado (Mohammadi *et al.*, 2003).

La Comisión de Infecciones Transfusionales advierte que el uso rutinario de bolsas de extracción con drenaje de los primeros mililitros debe ser obligatorio, junto con una mejora en los procesos asépticos del sitio de la venopunción, procedimientos que reducen el riesgo de sepsis por transfusiones y aumentan la seguridad de las transfusiones (Magariños *et al.*, 2013) para reducir las infecciones por transmisiones de transfusiones, que involucran microorganismos psicrófilos y, a menudo, Gram negativos que pueden causar shock séptico, con tasas de mortalidad de hasta 26 % que informa reacciones relacionadas con la transfusión debido a *Pseudomonas*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli* y *Yersinia enterocolitica*, especies de *Bartonella* y *Brucella* (Treasure *et al.*, 2010), aunque la tasa de mortalidad por reacciones transfusionales debido a contaminación bacteriana es de 1 / 500.000 - 1/ 7500 unidades para plaquetas concentradas y 1/8 millones para eritrocitos concentrados transfundidos, lo que indica bacterias con un perfil de resistencia a múltiples fármacos como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Acinetobacter* y otras especies que a menudo se encuentran debido a negligencia en la bioseguridad (Teixeira *et al.*, 2011) y ocurren muchas veces en el momento de la donación debido a una desinfección insuficiente de la piel, encontrando así los patógenos cutáneos más comunes, incluidos *S. epidermidis* y *Propionibacterium acnes* (Ribault *et al.*, 2004).



## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. TIPO DE ESTUDIO

El trabajo de investigación es un estudio de tipo prospectivo, descriptivo analítico y transversal, porque se trabajó con hechos que se dieron en la realidad, describiendo la presencia de la contaminación bacteriana en hemocomponentes, en una población, espacio y tiempo determinado. (Anderson, 2019).

#### 3.2. ÁMBITO DE ESTUDIO

El presente estudio se realizó en el Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia con el apoyo del Servicio de Laboratorio Clínico, ambos pertenecientes al Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica del Hospital Regional Manuel Núñez Butrón – Puno, ubicada en la región Puno, situada en la sierra del Perú, en la meseta del Collao a:  $13^{\circ}00'66''00''$  y  $17^{\circ}17'30''$  de latitud sur y los  $71^{\circ}06'57''$  y  $68^{\circ}48'46''$  de longitud oeste del meridiano de Greenwich.

#### 3.3. METODOLOGÍA.

##### 3.3.1. Población y muestra.

La población en estudio estuvo conformado por 175 muestras de paquetes globulares extraídas durante los meses de Octubre, Noviembre y Diciembre y plasma fresco congelado, seleccionados para transfusión en los meses de Octubre, Noviembre y Diciembre en el Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia; aplicando la fórmula de la población finita se procesó 120 hemocomponentes (paquete globular y plasma fresco congelado), que se encontraban seleccionados para ser transfundidas a los pacientes que lo necesiten.





**Diseño del muestreo.** - Es de tipo probabilístico estratificado donde se tomó muestras de forma aleatoria proporcional.

$$n = \frac{N \times Z_a^2 \times p \times q}{d^2 \times (N-1) + Z_a^2 \times p \times q}$$

$$n = \frac{175 \times (1.96)^2 \times 0.5 \times 0.5}{0.05^2 \times (175-1) + (1.96)^2 \times 0.5 \times 0.5}$$

$$n = 120.4 = 120$$

Donde:

N = Total de la población

$Z_a = 1.96$

p = proporción esperada

q = 1 - p

d = precisión (5%)

Se tuvo una población N=175, con un índice de confianza del 95%, por lo tanto  $Z_a=1.96$  y con un error mínimo de d=5% y para mayor seguridad p=q=0.5, teniendo un tamaño muestral de 120.

### **Criterios de inclusión y exclusión**

#### **Criterios de inclusión. –**

Paquetes globulares con un tiempo de almacenamiento no mayor a un mes y plasma fresco congelado seleccionados para transfusión no mayor a un año de almacenamiento, selladas con registro de calidad según las normas del Programa Nacional de Hemoterapia y Banco de Sangre (PRONAHEBAS).



### **Criterios de exclusión. –**

- Paquetes globulares y plasma fresco congelado que fueron almacenados mayor a un mes y un año respectivamente.
- Paquetes globulares y plasma fresco congelado que resultaron reactivo a algún agente de enfermedades hemo transmisibles.

### 3.3.2 Método

#### **A) Contaminación bacteriana (Gram positivos y Gram negativos) en paquetes globulares del Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del Hospital Regional Manuel Nuñez Butron- Puno.**

La metodología para cumplir este objetivo se realizó en tres fases:

#### **Fase Preanalítica**

#### **Recolección de muestras para identificación de contaminantes bacterianos:**

#### **Inoculación en caldo de enriquecimiento Cerebro corazón**

#### **Fundamento**

Su alto valor nutritivo está dado por la infusión de cerebro de ternera, la infusión de corazón vacuno y la peptona que constituyen la fuente de carbono, nitrógeno, aminoácidos, péptidos y vitaminas necesarias para el desarrollo de microorganismos. En el medio de cultivo, la glucosa es el hidrato de carbono fermentable, el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico y el fosfato disódico otorga capacidad buffer (Brooks *et al.*, 2010)

#### **Procedimiento**

Se extrajo 2 ml de muestra directamente de las cánulas de la unidad de paquete globular y con ayuda de un mechero se inoculo directamente al frasco que contenía 20 ml



del medio de enriquecimiento caldo cerebro corazón, lo cual se llevó a incubación a 37°C hasta por 7 días (Yapo, 2018). ANEXO (01)

### **Fase Analítica**

Pasada las 24 horas de incubación se realizó cultivo ciego en los medios de cultivo selectivos: agar Mac conkey y agar Manitol salado para la identificación de Gram negativos y Gram positivos respectivamente; a su vez, se utilizó agar Sangre como medio de enriquecimiento para el crecimiento de bacterias microaerofilas. (Yapo, 2018). (ANEXO 01). El medio caldo cerebro corazón se ha monitorizado en incubación hasta 7 días para observar cambios en la turbidez.

#### **• Cultivo en agar Mac conkey para aislamiento de bacterias Gram negativas**

##### **Fundamento. -**

Este es un medio de cultivo sólido, selectivo, que permite el aislamiento exclusivo de bacilos Gram negativos, las peptonas, añaden los nutrientes necesarios para el desarrollo bacteriano, la lactosa es el hidrato de carbono fermentable y la mezcla de sales biliares con el cristal violeta, agentes selectivos que inhiben el desarrollo de bacterias Gram positivas. (Yapo, 2018).

##### **Procedimiento:**

- A partir del caldo cerebro corazón se realizó siembra por estrías con asa de Kolle.
- Se incubó a 37°C por 24 horas.
- La observación de resultados se efectuó a partir de 24 horas y se realizó controles diarios hasta 72 horas.



## • Cultivo en agar Manitol salado para aislamiento de bacterias Gram positivas

### **Fundamento. -**

Este es un medio de cultivo sólido, selectivo, y diferencial que permite el aislamiento exclusivo de Gram positivos (Brooks *et al.*, 2010). Los estafilococos se desarrolla en altas concentraciones de sal, tenemos coagulasa positiva que fermentan el manitol observándose colonias amarillas rodeadas de una zona del mismo color y los coagulasa negativa que no fermentan el manitol y se observan colonias rojas, rodeadas de una zona del mismo color o púrpura, debido a su alta concentración de sal actúa como sustancia inhibitoria y evita el crecimiento de bacterias Gram negativas (Yapo, 2018).

### **Procedimiento:**

- Se realizó siembra por estrías con asa de kolle.
- Se incubó a 37°C por 24 horas.
- La observación de resultados se efectuó a partir de 24 horas y se realizó controles diarios hasta 72 horas

## **Cultivo en agar Sangre para bacterias microaerofilas**

Este medio se usó para crecimiento de bacterias microaerófilas, ya que se incubó en una jarra de vela con un nivel de oxígeno alrededor del 5% y 5 – 10% de dióxido de carbono (Grainger *et al.*, 2001)

### **Fundamento. -**

El agar sangre es un medio enriquecido porque lleva como aditivo principal 5-10% de sangre sobre una base de agar; en el agar base, la infusión de músculo de corazón y la peptona, otorgan al medio un alto valor nutritivo, que permite el crecimiento de una gran variedad de microorganismos y la adición de la sangre promueve el desarrollo de



bacterias exigentes en sus requerimientos nutricionales y la adecuada observación de las reacciones de hemólisis; (Yapo, 2018).

#### **Procedimiento:**

- Se realizó siembra por estrías con asa de kolle estéril.
- Se incubó a 37°C por 24 horas en una jarra de vela.
- La observación de resultados se efectuó a partir de 24 horas y se realizó controles diarios hasta 72 horas.

**Cultivo negativo.** - Una vez cumplido el protocolo de incubación se extrajo los viales negativos y se eliminaron siguiendo el protocolo de eliminación de desechos biológicos.

**Cultivo positivo:** Se dio al observar desarrollo de colonias en algún medio y se procedió según en el medio en que creció:

#### **Resultados Positivos:**

##### **Identificación por pruebas bioquímicas para Gram negativos.-**

A partir de colonias positivas desarrolladas en agar Mac conkey se procedió a realizar subcultivos en medios diferenciales TSI, LIA, CITRATO, SIM y urea, pasada las 24 de incubación a 37°C se procedió a la lectura según (Anexo 03).

##### **Identificación de *Staphylococcus spp.* a partir de agar Manitol salado.-**

A partir de las colonias positivas desarrolladas en este medio compatibles para *Staphylococcus spp.* Se realizó tinción Gram, la prueba de catalasa y coagulasa.

Los resultados de pruebas coagulasa negativo se prosiguió a realizar la prueba de novobiocina y polimixina b en medio TSA, pasada las 24 horas se determinó el género y la especie de acuerdo al protocolo estándar de identificación del MINSAL. (ANEXO 04) (ANEXO 07)



### **Tinción Gram**

- Se tomó un pequeño inóculo de la muestra pura y con el asa de siembra se hizo un extendido en la lámina portaobjetos.
- Se fijó la muestra con la flama de un mechero y seguidamente se vertió Cristal violeta sobre el frotis por un minuto, transcurrido el tiempo lavar con abundante agua destilada, con mucho cuidado.
- Luego, se cubrió con lugol y se dejó actuar por un minuto, transcurrido el tiempo, lavar con abundante agua destilada.
- De inmediato, se cubrió con solución decolorante (alcohol acetona) por 30 segundos. Transcurrido el tiempo lavar con abundante agua destilada.
- Por último, se cubrió con safranina, y se dejó actuar por un minuto. Transcurrido el tiempo lavar con abundante agua y con mucho cuidado escurrir.
- La preparación teñida se dejó secar a temperatura ambiente y se llevó al microscopio para poder observar la morfología de la bacteria (Huanca, 2015).

### **Prueba de la catalasa**

- Se transfirió con un asa de kolle estéril una cepa de estafilococo sobre la superficie de un portaobjeto limpio y se colocó una gota de peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ) de 30 % encima del medio.
- Se observó la formación de burbuja (Bayley y Scott's, 2014).

### **Prueba de la Coagulasa**

- Se seleccionó colonias desarrolladas en el medio agar Manitol salado.
- Se introdujo el inóculo en un tubo que contenga 0,5 cc de brain heart infusion broth (caldo cerebro corazón).



- Se Incubó a 37°C por 24 horas.
- Se retiró de la incubadora y añadir 0,5 ml de plasma estéril de conejo.
- Se introdujo los tubos en un recipiente que contenga agua hirviendo.
- Se observó la coagulación del plasma oxalatado por acción de la enzima coagulasa de *Staphylococcus aureus*. (Jawets, 2010).

### **Identificación de *Estafilococos coagulasa negativa* mediante Prueba de Sensibilidad a la Novobiocina y Polimixina b.**

Prueba para determinar especie en *estafilococos coagulasa negativa*.

- En un frasco que contenga 4ml de suero fisiológico estéril, se procedió a inocular la cepa de *estafilococo*, hasta alcanzar el grado de turbidez de 0,5 según escala Mac Farland. Para la difuminación al agar se sumergió un hisopo estéril en el frasco y se eliminó el exceso rotándolo firmemente contra la pared interna.
- Se difuminó con el hisopo sobre la superficie del agar TSA, repitiéndolo por tres veces rotando la placa para obtener una dispersión uniforme.
- Se colocó los discos de sensibilidad Novobiocina y Polimixina b sobre el agar mediante pinzas estériles, oprimiéndolos suavemente, tomando en cuenta que los discos deben estar espaciados de manera que su distancia a la pared de la placa sea de 15 mm y entre ellos de 30 mm.
- Se incubó a 35 – 37 °C por 24 horas.
- Se procedió a la lectura de la medida del diámetro de la zona de inhibición.
- Los resultados se interpretan de acuerdo al ANEXO 4. (Yapo, 2018)



**Cultivo positivo en agar sangre:** A partir de este medio de cultivo se procedió a realizar una coloración Gram de colonias desarrolladas y al mismo tiempo para observar la presencia de microaerofilos y seguir según continúe.

### **Fase Postanalítica**

Los resultados se reportaron y se documentaron según anexos (2) (3) (4), reconociendo el género y la especie aislada de cada muestra estudiada de acuerdo a la tabla de enterobacterias para Gram negativos y la tabla estándar para Gram positivos. (Yapo, 2018).

### **B) Contaminación bacteriana (Gram positivas y Gram negativas) en plasma fresco congelado del Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del Hospital Regional Manuel Nuñez Butron- Puno.**

La metodología para este objetivo se realizó en tres fases, siguiendo los mismos procedimientos que el objetivo 1, con la diferencia que la muestra fue el hemocomponente plasma fresco congelado.

### **C) Tiempo de almacenamiento como factor predisponente a la contaminación bacteriana de paquetes globulares y plasma fresco congelado.**

Para determinar si el tiempo de almacenamiento constituye un factor predisponente para la contaminación bacteriana de paquetes globulares y plasma fresco congelado, se procedió a revisar el libro de registro validado por normas de PRONAHEBAS, Norma Técnica N°16, LEY 26454, se observó la fecha de ingreso y se procedió a registrar los datos sobre el tiempo que lleva almacenado.

Se realizó un estudio retrospectivo de los datos sobre días de almacenamiento para paquetes globulares y plasma fresco congelado, según NT N° 011 - MINSA / DGSP.





Sistema de Gestión de la Calidad del PRONAHEBAS (PROGRAMA NACIONAL DE HEMOTERAPIA Y BANCOS DE SANGRE) – Manual de Procesos (ANEXO 05).

**Diseño estadístico. -**

Para realizar la validación de hemocomponentes contaminados se realizó la prueba estadística de distribución de frecuencias para la tabulación de datos y para la determinación del tiempo de almacenamiento como factor predisponente se realizó ANOVA programa estadístico InfoStat.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de las bacterias aisladas en paquetes globulares y plasma fresco congelado realizados en los meses de Octubre a Diciembre del 2019 en el Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del Hospital Regional Manuel Nuñez Butrón, se presentan en las siguientes tablas:

#### 4.1 CONTAMINACIÓN BACTERIANA (GRAM POSITIVOS Y GRAM NEGATIVOS) EN PAQUETES GLOBULARES DEL SERVICIO DE BANCO DE SANGRE Y HEMOTERAPIA DEL HOSPITAL REGIONAL MANUEL NUÑEZ BUTRON- PUNO.

**Tabla 1.** Contaminación bacteriana (Gram positivos y Gram negativos) en paquetes globulares del Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del Hospital Regional Manuel Nuñez Butrón

CONTAMINACIÓN BACTERIANA	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Cultivos positivos	0	0
Cultivos negativos	120	100%
<b>TOTAL</b>	<b>120</b>	<b>100%</b>

**Fuente:** Elaborado por el investigador

En la Tabla 1, se observa que el total de las muestras procesadas fueron 120 paquetes globulares los cuales el 100% resultaron cultivos negativos a bacterias. Estos resultados son homólogos con los reportados por Rivera *et al.* quien en el 2011 realizó una investigación grupal sobre la contaminación bacteriana de hemocomponentes,



reportando en este estudio que de 422 casos en concentrados eritrocitarios analizados no se registró ningún caso positivo, empleando como método de diagnóstico el hemocultivo similar a este estudio; Así mismo aduce que la sangre puede contaminarse por bacterias de la piel “estafilococo”, bacteriemia presente en la sangre como *Pseudomona* que puede crecer de 2°C a 6°C, sin embargo estos resultados no pueden asegurarnos que no existe contaminación bacteriana en paquetes globulares puesto que para ello se tendría que ampliar el tamaño muestral en vista que aún es bajo, de igual modo que la investigación de Padilla (2004), quien refiere que existe una seria deficiencia en el debido proceso de donación, ya que, que la contaminación bacteriana afecta hasta en el 0.4% de los glóbulos rojos y 1-2% de los concentrados de plaquetas.

Por otro lado los resultados de esta investigación difieren de los reportados por Bolarinwa *et al.* quienes en el 2006 realizaron un estudio en el Hospital Terciario en Nigeria donde se demuestra que no solo *Staphylococcus epidermidis* es la única especie posible a encontrar, ya que estudio 162 unidades de sangre donde 14 se encontraron contaminados, todas ellas con bacterias Gram positivas como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus sp.* y *Listeria*, y aun cuando los resultados difieren debe recalarse que el último estudio se dio en unidades de sangre total y no específicamente en hemocomponentes sanguíneos y así mismo tenemos que tener en cuenta la región donde realizó el estudio, ya que en muchas regiones de Nigeria no cuentan con servicios sanitarios básicos por largos periodos, lo que podría ser un factor en los resultados reportados por Bolarinwa *et al.*

Los resultados pueden explicarse por el hecho de que la investigación de bacterias, a diferencia del que se emplea para detectar infecciones virales, representa un reto especial por las siguientes razones: a diferencia de los virus, las bacterias se pueden



multiplicar o morir durante el almacenamiento de los componentes de la sangre; el inóculo inicial podría

ser extremadamente pequeño y no ser detectable en sus inicios; una amplia gama de bacterias pueden contaminar la sangre a diferencia de los virus; no se encuentra una respuesta de anticuerpos relevante en la mayoría de los casos, ya que la contaminación no siempre se produce como consecuencia de la propia infección en el donante; no existen métodos rápidos, sensibles y específicos, como los que se han desarrollado para los principales virus de transmisión sanguínea; las pruebas no se deberían realizar "inmediatamente" después de la colecta de la sangre, pues no tendría sentido como en los virus; todos los componentes de una donación deberían ser evaluados por separado; la selección del donante desempeña un papel menor cuando se trata de contaminación bacterianas provocadas por procedimientos no imputables al donante según refiere McDonald *et al.* (2006).

Adicional a lo anteriormente expuesto Rivero (2008) en su estudio sobre "Transmisión de infecciones bacterianas y parasitarias por transfusiones de sangre y sus componentes refiere que la contaminación bacteriana de componentes sanguíneos es un riesgo potencial de infección asociada a la atención hospitalaria a los pacientes y con importancia para la salud pública recomendando protocolos de prevención y control de contaminación de la sangre del donante, y así asegurar un hemocomponente libre de agentes bacterianos. Según Bruneau *et al.* (2001) muchos estudios prospectivos demostraron que la prevalencia de bacterias en componentes sanguíneos varía del 0,04 al 2 %, dependiendo del componente, añadiendo a este ámbito, por otra parte Frenes *et al.* (2012), indica que la infusión de componentes sanguíneos contaminados por bacterias puede causar una reacción séptica devastadora, con tasas de letalidad de hasta 26%, situando el riesgo de fallecimiento por bacteriemia en 1/500,000 de transfusiones de



plaquetas y 1/8000,000 de unidades de concentrados de hematíes, mencionando que la prevalencia real del problema no se conoce con exactitud.

En el Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del HRMNB la demanda de paquetes globulares es alta, en muchos de los casos no exceden de las dos semanas de almacenamiento, el personal toma las muestras dentro de la bioseguridad respectiva y el almacenamiento cumple la temperatura adecuada; además evidencia que para las muestras estudiadas se realizó una correcta manipulación al momento de la toma de muestra y fraccionamiento del paquete entero, a pesar que se realiza mediante sistema abierto, como lo menciona Bruneau *et al.* (2001) afirmando que la toma de muestra juega un rol muy importante para disminuir la contaminación por bacterias de la piel, informando que tomar la primera alícuota de sangre a una bolsa receptor antes de llenar la bolsa principal redujo el riesgo de contaminación bacteriana hasta en un 0,6 %, procedimiento que es realizado por algunos profesionales encargados de la toma de muestra para donación sanguínea.

Aunque en este estudio no se haya aislado ningún contaminante bacteriano para paquetes globulares se debe considerar que el riesgo de contaminación bacteriana es baja, ya que estos se almacenan refrigeradas a 4°C, como lo menciona también el NIH (1995), donde calcula que en cuestión de los receptores de glóbulos rojos con contaminación bacteriana el riesgo es de 1/1 000 000 en EE.UU, donde alrededor de la mitad de los casos el agente implicado es la *Yersinia enterocolítica* que, aunque su temperatura óptima de crecimiento es de 25 °C, es capaz de crecer a 4 °C y da lugar a reacciones severas y a veces fatales. Muchos de los casos remanentes son debidos a *Pseudomonas spp.* El primero estaría presente en el torrente sanguíneo del donante y el segundo sería un contaminante ambiental; a diferencia de este estudio en donde no se halló contaminación bacteriana.



Por otro lado, según el Sistema de Gestión de Calidad de PRONAHEBAS (2004), para el proceso de fraccionamiento se debe de realizar bajo un sistema cerrado estéril y se debe tener mucha consideración en el momento de la venopunción para disminuir el riesgo de posibles contaminantes bacterianos, en la cual se considera como aceptable las buenas prácticas de los profesionales encargados, puesto que no se encontró crecimiento bacteriano en los cultivos de las muestras procesadas, resultado que se presumía puesto que los paquetes globulares tienen un tiempo mínimo de almacenamiento en comparación con otros hemocomponentes y que no está sujeta a mucha manipulación.

Por lo antes expuesto se concluye que según no se identificó especies bacterianas en las unidades de paquetes globulares estudiadas en el Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del HRMNB.

#### **4.2 CONTAMINACIÓN BACTERIANA (GRAM POSITIVOS Y GRAM NEGATIVOS) EN PLASMA FRESCO CONGELADO DEL SERVICIO DE BANCO DE SANGRE Y HEMOTERAPIA DEL HOSPITAL REGIONAL MANUEL NUÑEZ BUTRON- PUNO**

**Tabla 2.** Contaminación bacteriana (Gram positivos y Gram negativos) en plasma fresco congelado del Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del Hospital Regional Manuel Nuñez Butrón

CONTAMINACIÓN BACTERIANA	FRECUENCIA	PORCENTAJE	PORCENTAJE ACUMULADO	
<b>CULTIVOS POSITIVOS</b>				
• GRAM POSITIVOS	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4	3,3%	3,3%
	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	0,85%	4,15%
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1	0,85%	5%
<b>CULTIVOS NEGATIVOS</b>		114	95%	100%
<b>TOTAL</b>		120	100%	

**Fuente:** Elaborado por el investigador

En la tabla 2, se evidencia que, en plasma fresco congelado se identificó *Staphylococcus epidermidis* en un 3,3% siendo el agente bacteriológico más predominante, seguido de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus saprophyticus* cada uno con 0,85%. Y el 95% de las muestras cultivadas son negativas.

El plasma fresco congelado tiene la mayor demanda después de paquetes globulares en el Servicio de Banco de Sangre del HRMNB, se demostró que existe contaminación por bacterias Gram positivas del genero *Staphylococcus* y con mayor predominancia *S. epidermidis*, estos datos son corroborados por Martini *et al.* (2010) quienes detectaron a *S. epidermidis* una de las bacterias más comunes, donde se realizó un perfil de sensibilidad a los antimicrobianos y como resultado obtuvieron que 5 de las muestras de concentrados plaquetarios tuvo crecimiento bacteriano y todas con la misma especie *Staphylococcus epidermidis* mediante la difusión del disco y automatización, cabe destacar que a diferencia de los concentrados plaquetarios, el plasma fresco



congelado es almacenado a  $-30^{\circ}\text{C}$  hasta por un año, lo que indicaría que existe una mala manipulación en el momento de la preparación de la unidad de PFC para transfundir, así mismo la contaminación se puede deber a un ambiente poco higiénico, sirviendo de vehículo de transmisión de bacterias. Los resultados reportados en esta investigación también son homólogos con los reportados por Vázquez *et al.* (2002) quien en su estudio sobre reacciones post transfusionales, determinó que los microorganismos contaminantes son en ese orden *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, y *Staphylococcus epidermidis*, por otro lado Bolarinwa *et al.* (1996) demuestran en su estudio que no solo aisló *Staphylococcus epidermidis* sino también *Staphylococcus aureus*, *Bacillus sp.* y *Listeria sp.* por tal motivo, se presagio un riesgo potencial de infección asociada a la atención hospitalaria a los pacientes y con importancia para la salud pública recomendando protocolos de prevención y control de contaminación de la sangre del donante.

Aunque los resultados en cuestión de prevalencia son bajos, se debe enfatizar que la presencia de estos microorganismos indica contaminación, esto se explica en los hechos de que el proceso de fraccionamiento posterior a la toma de muestra es mediante sistema abierto y de manera manual, siendo una puerta de acceso para las bacterias, así como también, la manipulación en el procedimiento para la preparación de la muestra, previa a la transfusión no sea la adecuada, sin embargo no debemos dejar de lado que, en el momento de la toma de muestra del donante la desinfección del brazo del donante reduce significativamente la carga bacteriana, más no "esteriliza" el brazo del donante por completo. Aunque se ha demostrado que, con la aplicación de las buenas prácticas de desinfección del brazo del donante, se pueden reducir los niveles de contaminantes en la parte superior de la piel, es virtualmente imposible desinfectar los niveles inferiores, confirmando lo que mencionan Lee *et al.* (2002) que la desinfección de la piel antes de la





venipuntura continúa siendo la primera línea de defensa para prevenir la contaminación bacteriana. Hay un grupo de bacterias que forman parte de la flora normal residente en la piel y que sistemáticamente se identifican en estudios de esta índole, como puesto por *Staphylococcus* coagulasa negativa, *Staphylococcus aureus*, y especies de *Bacillus*. Estudios separados llevados a cabo por varios servicios de sangre, recomiendan como la mejor técnica de desinfección de la piel del brazo del donante, el uso de alcohol isopropílico al 70 % seguido de la aplicación de tintura de yodo, tal como lo refiere Jones *et al.* (1993).

Según Yomtovian *et al.* (2002); en contraste con las infecciones transmitidas por transfusión, la contaminación bacteriana de los componentes para transfusión, posee una incidencia muy alta, estimándose entre 1/2000 y 1/3000 unidades de plaquetas y 1/30.000 unidades de concentrados globulares. La prevalencia de episodios severos de sepsis bacteriana asociada a la transfusión se estima aproximadamente en 1/6 de las unidades contaminadas transfundidas; y aunque en su estudio no mencione al plasma fresco congelado es evidente que en la actualidad, el evento de contaminación bacteriana excede ampliamente la incidencia de los agentes virales de detección obligatoria en donantes de sangre.

Además, existen dos vías principales de contaminación bacteriana: endógena y exógena. La bacteriemia aguda o crónica en los donantes de sangre, generalmente en un bajo nivel, puede ser responsable de la contaminación de los componentes donados. Estas bacteriemias pueden deberse a alteraciones gastrointestinales acaecidas en el mes anterior a la donación, provocadas por *Yersinia* o *Salmonella*, o bien posteriores a un tratamiento odontológico en este caso, causadas por *Staphylococcus spp*, *Streptococcus viridans* o *Serratia liquefaciens* todo esto según Sazama (1990), por lo que podría constituir una vía de contaminación.



Considerar también, que la Doctrina, Normas y Procedimientos del Programa Nacional de Hemoterapia y Bancos de Sangre (1998) mencionan específicamente como obligatorios las pruebas, tales como, determinación del sistema ABO, del factor Rh, detección de anticuerpos irregulares, detección de malaria y bartonellosis (según zona epidemiológica) y por último la detección de los siete agentes infecciosos en todo el país, donde apreciamos que no mencionan específicamente la realización de cultivos bacteriológicos como parte obligatoria para el control de calidad de los paquetes a transfundir, en la cual mediante esta investigación demostramos que sería óptimo la adición de este método para mejorar la adecuada atención y seguridad que se le debe brindar al paciente; por otro lado, los resultados expresan que los sistemas de esterilización y desinfección al momento de la venopunción no son óptimos hasta el momento.

De los resultados reportados sobre la contaminación de plasma fresco congelado del Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del HRMNB, se concluye que en lo concerniente a plasma fresco congelado al identificarse especies bacterianas es altamente significativo para PRONAHEBAS y la salud humana, siendo un riesgo para las reacciones transfusionales de los pacientes que reciben plasma fresco congelado del Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del Hospital Regional Manuel Núñez Butrón.

### 4.3 TIEMPO DE ALMACENAMIENTO COMO FACTOR PREDISPONENTE A LA CONTAMINACIÓN BACTERIANA DE PAQUETES GLOBULARES Y PLASMA FRESCO CONGELADO

**Tabla 3.** Tiempo de almacenamiento como factor predisponente a la contaminación bacteriana de paquetes globulares

TIEMPO DE ALMACENAMIENTO (días)	CULTIVOS NEGATIVOS	
	N°	%
[5 - 8 >	26	21,7%
[8 - 11 >	17	14,15%
[11 - 14 >	37	30.80%
[14 - 17 >	26	21,7%
[17 - 20 >	6	5%
[20 - 23 >	7	5,8%
[23 - 25]	1	0,85%
<b>TOTAL</b>	<b>120</b>	<b>100,0%</b>

**Fuente:** Elaborado por el investigador

En la tabla 3, se observa que en paquetes globulares, no presentó contaminación por bacterias durante los días de almacenamiento; podemos señalar que el resultado para la asociación entre días de almacenamiento y presencia de bacterias contaminantes en paquetes globulares en el Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del Hospital Regional Manuel Nuñez Butrón de Puno en el año 2019 no están relacionadas de manera dependiente, por lo que no constituye un factor predisponente en la contaminación bacteriana de paquetes globulares. Estos resultados son homólogos con Lin y Liu (2002)

que a pesar que encontró resultados positivos menciona que el tiempo de almacenamiento no juega un rol importante en la contaminación de hemocomponentes, ya que concluyó que todas las cepas encontradas fueron alrededor de las primeras horas, por lo que asegura que la contaminación bacteriana proviene de la flora normal de la piel o del medio ambiente y son introducidas al momento de la venopunción. A diferencia de Vasquez (2002) que concluye que la relación entre paquetes globulares y tiempo de almacenamiento es directamente significativo, ya que existió crecimiento bacteriano en las unidades con más de 14 días de almacenamiento, considerando que *S. aureus* y especies de *Citrobacter* crecen bien a 4°C; es oportuno abordar que en este estudio se trabajó con 40 unidades de paquetes globulares que excedían los 14 días de almacenamiento, sin embargo todos resultaron negativas.

**Tabla 4.** Tiempo de almacenamiento como factor predisponente a la contaminación bacteriana de plasma fresco congelado

TIEMPO DE ALMACENAMIENTO O (días)	CULTIVOS NEGATIVOS		CULTIVOS POSITIVOS		TOTAL	
	N°	%	N°	%	N°	%
[13 - 25>	18	14,95%	1	0,85%	19	15,8%
[25 - 37>	41	34,2%	2	1,7%	43	35,9
[37 - 49>	16	13,3%	0	0	16	13,3%
[49 - 61>	13	10,8%	0	0	13	10,8%
[61 - 73>	13	10,8%	2	1,7%	15	12,5%
[73 - 85>	8	6,65%	1	0,85%	9	7,5%
[85 - 95]	5	4,2%	0	0	5	4,2%
<b>TOTAL</b>	114	95%	6	5%	120	100%



$$X^2_t = 28.8693, X^2_c = 12.729, gl = 18, \text{Sig. } 0.807$$

**Fuente:** Elaborado por el investigador

En la tabla 4, se reporta los días de almacenamiento relacionado con la presencia de bacterias en plasma fresco congelado, la estadística  $X^2 = 12.729$  con  $P = 0.807 > 0.05$ , nos señala que el resultado para la asociación entre días de almacenamiento y presencia de bacterias contaminantes en plasma fresco congelado en el Servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia del Hospital Regional Manuel Nuñez Butrón de Puno en el año 2019 no es significativo, por lo tanto se determina que los días de almacenamiento no constituyen un factor predisponente para la contaminación de bacterias, aun cuando hay presencia de contaminación.

Los resultados no son homólogos con los reportados por Vázquez *et al.* (2002) quien en su estudio sobre reacciones pos transfusionales, determino que los microorganismos contaminantes son en este orden *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, y *Staphylococcus epidermidis*, y concluye que la contaminación bacteriana de las unidades de sangre está directamente relacionada con el tiempo de almacenamiento, aunque la sepsis por *Yersinia* ha sido reportada después de la transfusión de eritrocitos que habían sido almacenados por solo 7 a 14 días, en este punto se debe hacer énfasis en que esta investigación resultó con 5% de casos positivos, todas con más de 14 días de almacenamiento.

Si bien es cierto no existe relación alguna entre el tiempo de almacenamiento y la contaminación bacteriana se podría determinar que las causas de la contaminación atribuyen directamente a eventos externos, ya que entre los 61 a 85 días de almacenamiento se aisló *S. epidermidis* en un 2,55%, pudiendo atribuirse a la manipulación en el momento del descongelamiento del plasma fresco congelado o en un



ambiente no aséptico, pudiendo haberse contaminado minutos antes de la transfusión, como Magariños *et al.* (2013), menciona que existen dos vías principales de contaminación bacteriana: endógena y exógena y refiere que las bacteriemias pueden deberse a alteraciones gastrointestinales acaecidas en el mes anterior a la donación, provocadas por *Yersinia* o *Salmonella*, la vía de contaminación exógena más corriente es la flora normal de la piel con *S. epidermidis*, *S. aureus*, *Diphtheroides sp*, *Micrococcus sp*, *Sarcina sp*, *Pseudomonas sp*, *Bacillus sp*, también está descrita la existencia de otros contaminantes principales introducidas en las unidades de sangre en el momento de la venopunción., siendo así los concentrados plaquetarios los componentes que poseen la mayor incidencia de contaminación bacteriana debido a que se almacenan hasta 5 días a  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$  observando crecimiento exponencial, cabe destacar en este punto, el plasma fresco congelado es una unidad que esta almacenada a temperaturas bajo cero, teniendo en cuenta en el primer mes, se encontraron tres casos positivos, siendo *S. epidermidis*, *S. aureus* y *S. saprophyticus* se podría asumir que la contaminación se debió a factores externos al donante, atribuyendo que en un inicio la unidad estaba con una carga bacteriana muy elevada y al pasar el tiempo de almacenamiento ha ido descendiendo, aunque aun así se pudieron aislar bacterias después de un largo tiempo de almacenamiento, en lo que se concuerda con los resultados de esta investigación es la especie hallada *S. epidermidis* y que en cuestión de factores predisponentes refiere que no existe relación entre el tiempo de almacenamiento y la presencia de contaminantes bacterianos en plasma fresco congelado, más aun está relacionado con factores exógenos propios del donante, lo cual es bastante preocupante para la salud humana pudiendo ocasionar reacciones postransfusionales como sepsis bacteriana y tomando en cuenta que muchos de los pacientes tienen las defensas bajas podría ocasionar hasta la muerte, así como lo refiere Rivero R. (2008) en su investigación sobre “Transmisión de infecciones



bacterianas y parasitarias por transfusiones de sangre y sus componentes”, reportó el aislamiento de *Staphylococcus*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Klebsiella*, enfatizando y catalogando entre sus resultados como principal factor predisponente la presencia de bacterias en la piel del brazo del donante y un segundo factor, donantes aparentemente sanos con bacteriemia transitoria. Así mismo aduce que la sangre puede contaminarse por bacterias de la piel “estafilococo”, bacteriemia presente en la sangre como *Pseudomona*, de igual modo estos resultados son corroborados por Padilla (2004), quien refiere que existe una seria deficiencia en el debido proceso de donación, ya que, la contaminación bacteriana afecta hasta en el 0.4% de los glóbulos rojos y 1-2% de los concentrados de plaquetas.

Por lo antes expuesto y en referencia a los resultados reportados en esta investigación el tiempo de almacenamiento es un factor que no se relaciona directamente con la presencia de contaminación, y teniendo en cuenta que la especie con más prevalencia en plasma fresco congelado es *S. epidermidis*, según los antecedentes se asume que la contaminación se debe a causas exógenas del donante.

Por lo que se concluye que el tiempo de almacenamiento no constituye un factor predisponente de contaminación bacteriana según:  $X^2_t = 28.8693$ ,  $X^2_c = 12.729$ ,  $gl = 18$ , Sig. 0.807, sin embargo la presencia de crecimiento bacteriano en plasma fresco congelado atribuye a otro tipo de factor exógeno (falta de asepsia en la preparación del hemocomponente o contaminación del ambiente donde se realiza la preparación de las unidades).



## V. CONCLUSIONES

- No se identificó contaminación bacteriana en paquetes globulares del Servicio de Banco de Sangre del Hospital Regional Manuel Nuñez Butron.
- En el hemocomponente plasma fresco congelado (PFC) se identificaron, *Staphylococcus epidermidis* en un 3,3%, *Staphylococcus aureus* en un 0,85% y *Staphylococcus saprophyticus* en un 0,85%.
- Se determinó que el tiempo de almacenamiento constituye un factor predisponente a la contaminación bacteriana en paquetes globulares, demostrando cultivos negativos *in vitro*.
- En plasma fresco congelado se determinó que el tiempo de almacenamiento no constituye un factor predisponente a la contaminación bacteriana, teniendo que, entre los 13 a 25 días se aisló a *Staphylococcus epidermidis* en un 0,85%, 25 a 37 días se aisló a *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus saprophyticus* ambos con 0,85%, 61 a 73 días se aisló a *Staphylococcus epidermidis* en un 1,7% y entre 73 a 85 días se aisló a *Staphylococcus epidermidis* en un 0,85%, demostrando ser una contaminación exógena significativa para el paciente, pero estadísticamente no existe relación entre el tiempo de almacenamiento y contaminación bacteriana, según  $P = 0.807 > 0.05$ .





## VI. RECOMENDACIONES

- A los investigadores se recomienda ampliar la población para el estudio de contaminación bacteriana en paquetes globulares, plasma fresco congelado y plaquetas.
- Incentivar a egresados y futuros egresados del área de la salud a realizar investigaciones sobre estudios de seguimiento a donantes con tamizajes iniciales negativos.
- Se recomienda a los futuros egresados y profesionales de la salud del área de Banco de Sangre realizar el control bacteriológico de los hemocomponentes mediante cultivos *in vitro*, y los procedimientos pre transfusionales.
- Fomentar a los egresados a realizar estudios sobre factores predisponentes de contaminación al momento de la venopunción, post fraccionamiento sanguíneo y condiciones anteriores al almacenamiento de las unidades de sangre.



## VII. REFERENCIAS

- Acevedo, m. e. (2004). Contaminación bacteriana de plaquetas: mecanismos y estrategias para su disminución, 2004. 390
- Agur MR, Dalley F. Grant. Atlas de Anatomía. 11<sup>a</sup> ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2007.
- Anderson, I. (1988) Retrospective study of 1000 deaths from injury in England. Recuperado el 7 de diciembre de 2019 de [bmj.com](http://bmj.com)
- Bailey y Scott's (2014) Diagnostic Microbiology ISBN: byMosby, 13va edition
- Bolarinwa, r. a., aboderin, o. a., odetoyin, b. w., & adegunloye, a. b. (1996). bacterial 391 contamination of blood and blood components in a tertiary hospital setting in nigeria, 1–10.
- Brecher, m. e., & hay, s. n. (2005). bacterial contamination of blood components, 18(1), 195– 204. <http://doi.org/10.1128/cmr.18.1.195>.
- Brooks, G., Carrol K., Butel J., Morse S. 2010. Microbiología médica, 2<sup>o</sup> Edicion. 25 edicion. ed. Mc Graw Hill.
- Bruneau C et al. Efficacy of a new collection procedure for preventing bacterial contamination of whole-blood donations. Transfusión 2001.
- Bruneau C, Pérez P, Chassaigne M, Allouch P, Audurier A, Gulian C, et al. Efficacy of a new collection procedure for preventing bacterial contamination of whole-blood donations. Transfusion 2001; 41:74-81.
- Cerdas C. Guías para la investigación y manejo de reacciones postransfusionales. Rev Mex Med Tran. 2013; 6:26-36.
- Climent peris, c., & rosario, Román velez. (2001). transfusion medicine.
- Contreras, e., & barbolla, l. (2009). Efectos adversos de la transfusión de componentes sanguíneos. generalidades: reacciones agudas inmediatas y retardadas, (tabla i), 145– 181.
- Contreras M, Martínez M. Medicina transfusional en el siglo XXI. Rev Med Clin condes. 2015;26(6):726-43.



- Cortes Vuelvas, «ABC de la Medicina Transfusional», 1º edición, Colombia, 1994.
- Cruz, wilmer alcivar cando. (2014). reducción de las complicaciones transfusionales inmediatas y tardías mediante la aplicación del sistema de hemovigilancia a pacientes atendidos por el servicio de medicina transfusional del hospital provincial general docente de riobamba.
- De Korte D, Curvers J, de Kort WLAM, Hoekstra T, vd Poel CL, Beckers EAM, Marcelis JH. Effects of skin disinfection method, deviation bag, and bacterial screening on Clinical Safety of Platelet Transfusions in The Netherlands. *Transfusion* 2006; 46:476-85.
- Delgado M. Transfusión sanguínea. Uso racional. *Revista Colombiana de Anestesiología*. 2012;40(4):247-8.
- Frenes, p. s., jesús, m. de, bouza, s., & malpica, s. h. (2012). Las enfermedades infecciosas y la transfusión de sangre, 59, 186–193.
- Galel SA, Fontaine MJ, Viele MK, Gonzalez CL, Goodnough LT. *Transfusion medicine. Wintrobe's Clinical Hematology: Thirteenth Edition: Wolters Kluwer Health Adis (ESP)*; 2013. p. 547-86.
- González M, Hidalgo T, Álvarez R, Santana D, Méndez N. Reacciones postransfusionales. Actualización para el mejor desempeño profesional y técnico *Rev Ciencias Médicas*. 2017.
- Grainger, J., Hurst J, and Burdass D. 2001. *Basic Practical Microbiology: A Manual*. society for General Microbiology  
<http://whittsclass.com/pdf/Basic%20Practical%20Microbiology.pdf>
- Huanca N. 2015. Manual de procedimiento en microbiología.
- Interno de Pre-Grado del Hospital Victorino Santaella de los Teques, Escuela Luis Razetti, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela.
- JA Vázquez<sup>1</sup>, E Vassallo<sup>1</sup> y MA Storino<sup>2</sup>. REACCIONES POSTRANSFUSIONALES revista de la Facultad de Medicina, *versión impresa* ISSN 0798-0469, RFM v.25 n.2 Caracas dic. 2002.
- Jawetz E, Melnick J, Adelberg E. (2011). *Microbiología médica*. 25a. edición. Mexico: McGRAW-HILL Interamericana Editores



- Jones BL, Saw MH, Hanson MF, Mactine MJ, Scott J, Murphy WG. Yersinia enterocolitica septicaemia from transfusion on red cell concentrate stored for 16 days. *J Clin Pathol* 1993; 46:477-8
- Korte, d. de, marcelis, j. h., & soeterboek, a. m. (2001) determination of the degree of bacterial contamination of whole-blood collections using an automated microbe-detection system, 41(june), 2–5.
- L. Higgins (2016) Transfusiones sanguíneas en testigos de Jehova
- Lee CK, Ho PL, Chan NK, Mak A, Hong J, Lin CK. Impact of donor arm skin disinfection on the bacterial contamination rate of platelet concentrates. *Vox Sang* 2002; 83:204-8.
- Lee, h. r., seo, j., kim, m. j., song, s. h., & park, k. u. (2012). rapid detection of bacterial 409 contamination of platelet-rich plasma-derived platelet concentrates using flow cytometry, 42(2), 174–181.
- Magariños, a. c., Jorgelina, s. o., Beatriz, b. m. r., & José, l. j. r. (2013). reducción del riesgo de 4 contaminación bacteriana de hemocomponentes por la utilización de bolsas con derivación de la primera alícuota de sangre., 1–5.
- María Rebeca F Rivera-López,\* Raúl Ambriz-Fernández,\* Elisa Montes-de-Oca-Acosta,\* Rita Villegas-Martínez,\* Sandra Islas-Barrera\* \* Banco Central de Sangre, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social. México, D. F.
- Martini, r., gindri, l., barbisan, c., soares, a., roehrs, m., horner, r., & maria, d. s. (2010). evaluation of detection of bacterial contamination in platelet concentrates using the quantitative bacteriological and, 29–37.
- Martini, r., kempfer, claudia barbisan, texeira, f., rigatti, f., ratzlaff, v., & segala, z. (2010). contaminação bacteriana em concentrados plaquetarios: identificação , perfil de sensibilidade aos antimicrobianos e sepse associada à transfusão bacterial contamination on platelet concentrates : identification , antimicrobial susceptibi, 43(6), 682–685.
- McDonald CP, Pearce S, Wilkins K, Colvin J, Robbins S, Colley L, et al. Pall eBDS: An enhanced bacterial detection system for screening platelet concentrates. *Transfus Med* 2005;15: 259-68.



- McDonald CP. Bacterial risk reduction by improved donor arm disinfection, diversion and bacterial screening. *Transf Med* 2006;16(6):381-96.
- Médico Cirujano egresado de la Escuela Luis Razetti, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela.
- Ministerio de Salud – Plan Nacional de Sangre. Resolución 797/2013. Boletín oficial 32677.
- MINSA.- Manual de hemoterapia, 1ra EDICION, Lima Mayo 2008
- Mohammadi T, Reesink HW, Vandebroucke-Grauls CM, Savelkoul PH. Optimization of real-time PCR assay for rapid and sensitive detection of eubacterial 16S ribosomal DNA in platelet concentrates. *J Clin Microbiol* 2003.
- NIH. Infectious disease testing for blood transfusions. NIH Consensus Development Panel on infectious disease testing for blood transfusions. *JAMA* 1995.
- Oknaian, s. (2012). contaminación bacteriana de hemo componentes: prevención, detección y seguimiento contaminación bacteriana definición: presencia de bacterias en.
- Padilla, a. c. (2004). reacciones adversas transfusionales tempranas.
- Pedrosa A, Pinto F, Lins L, Deus G. Blood transfusion reactions in children: associated factors. *Jornal de Pediatria*. 2013;89.
- Pronahebas, «Doctrina, Normas y Procedimientos del Programa Nacional de Hemoterapia y Bancos de Sangre», MINSA, Lima – Perú, 1998.
- Pronahebas, «Sistema de Gestión de Calidad», Norma Técnica N° 012- MINSA / DGSP – V.01, Lima – Perú, 2004.
- Pronahebas, Compendio «Uso Racional de Sangre y Derivados», MINSA, Lima – Perú,
- Puckett A, Davison G, Entwistle CC, Barbara JAJ. Post-transfusion septicemia 1980-89: importance of donor arm cleansing. *J Clin Pathol* 1992; 45:155-157.
- Quintana gonzález, s. (2004). contaminación bacteriana de los componentes sanguíneos, (3), 90–94.
- Refaai MA, Blumberg N. The transfusion dilemma-weighing the known and newly proposed risks of blood transfusions against the uncertain benefits. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2013.



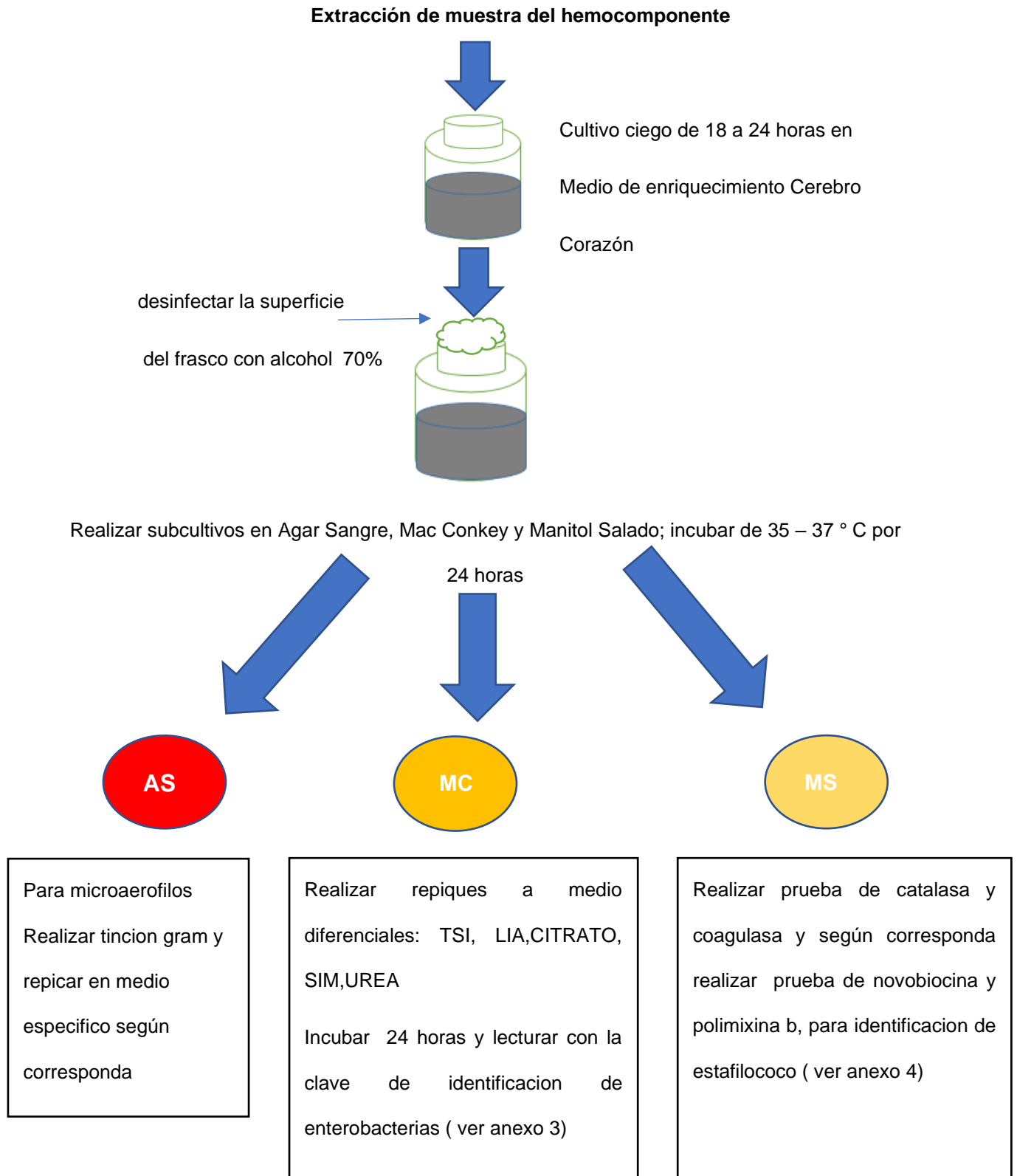
- Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia  
versión impresa ISSN 0864-0289 versión On-line ISSN 1561-2996, 2008  
Transmisión de infecciones bacterianas y parasitarias por transfusiones de sangre  
y sus componentes.
- Ribault, s., harper, k., grave, l., lafontaine, c., nannini, p., raimondo, a., & faure, i. b.  
(2004). rapid screening method for detection of bacteria in platelet concentrates,  
1903–430 1908. <http://doi.org/10.1128/jcm.42.5.1903>.
- Rivera-lópez, m. r. f., ambriz-fernández, r., montes-de-oca-acosta, e., villegas-martínez,  
r., & 432 islas-barrera, s. (2011). contaminación bacteriana de hemocomponentes,  
58, 151–155.
- Rivero Jiménez, René A. (2008). Transmisión de infecciones bacterianas y parasitarias  
por transfusiones de sangre y sus componentes. Revista Cubana de Hematología,  
Inmunología y Hemoterapia, 24(1) Recuperado en 30 de mayo de 2021, de  
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-  
2892008000100001&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-2892008000100001&lng=es&tlng=es).
- Sánchez J, Handal M, Vílchez J, Andino L, Pagoaga A, Mejía S, et al. Indicaciones,  
eficacia y complicaciones en el uso de productos sanguíneos, Hospital General  
San Felipe, Honduras. Revista de la Facultad de Ciencias Médicas. 2015;12(2):19-  
29.
- Sazama K. Bacteria in blood for transfusion. A review. Arch Pathol Lab Med 1994.
- Stainsby D, Cohen H, Jones H, Knowles S, Milkins C, Chapman C, et al. Serious hazards  
of transfusion (SHOT). SHOT Annual Report 2003;1-88.
- Standards, clsi. (2005). sugerencias para la verificación de los resultados de las pruebas  
de sensibilidad y la confirmación de la identificación de los microorganismos.
- Teixeira, m. p., lúcia, m., simões, s., cortes, v. f., meireles, l. a., agosto, l., nogueira, c.  
m. 436 (2011). prevention and control of bacterial contamination of blood  
products, 1(3), 377–437 385.
- Tipple MA, Bland LA, Murphy JJ, Arduino MJ, Panlilio AL, Farmer JJ 3rd, et al. Sepsis  
associated with transfusion of red cells contaminated with *Yersinia enterocolitica*.  
Transfusion 1990.



- Trampuz, a., salzmann, s., antheaume, j., & daniels, a. u. (2007). microcalorimetry: a novel method for detection of microbial contamination in platelet products, (september), 1643–1650. <http://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2007.01336>.
- Treasure, armando gonzales, aguilar, wendy cabrera, & valle, mario tejerina. (2010). infecciones por transmisión transfusional.
- Vázquez, JA, Vassallo, E, & Storino, MA. (2002). Reacciones Postransfusionales. Revista de la Facultad de Medicina, 25(2), 154-162. Recuperado en 30 de mayo de 2021, de [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-04692002000200004&lng=es&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04692002000200004&lng=es&tlng=es).
- Yapo, n. i. h. (2018). manual de procedimientos de microbiologia.
- Yomtovian R, Lazarus HM, Goodnough LT, et al. A prospective microbiologic surveillance program to detect and prevent the transfusion of bacterial contaminated platelets. Transfusion 1993.

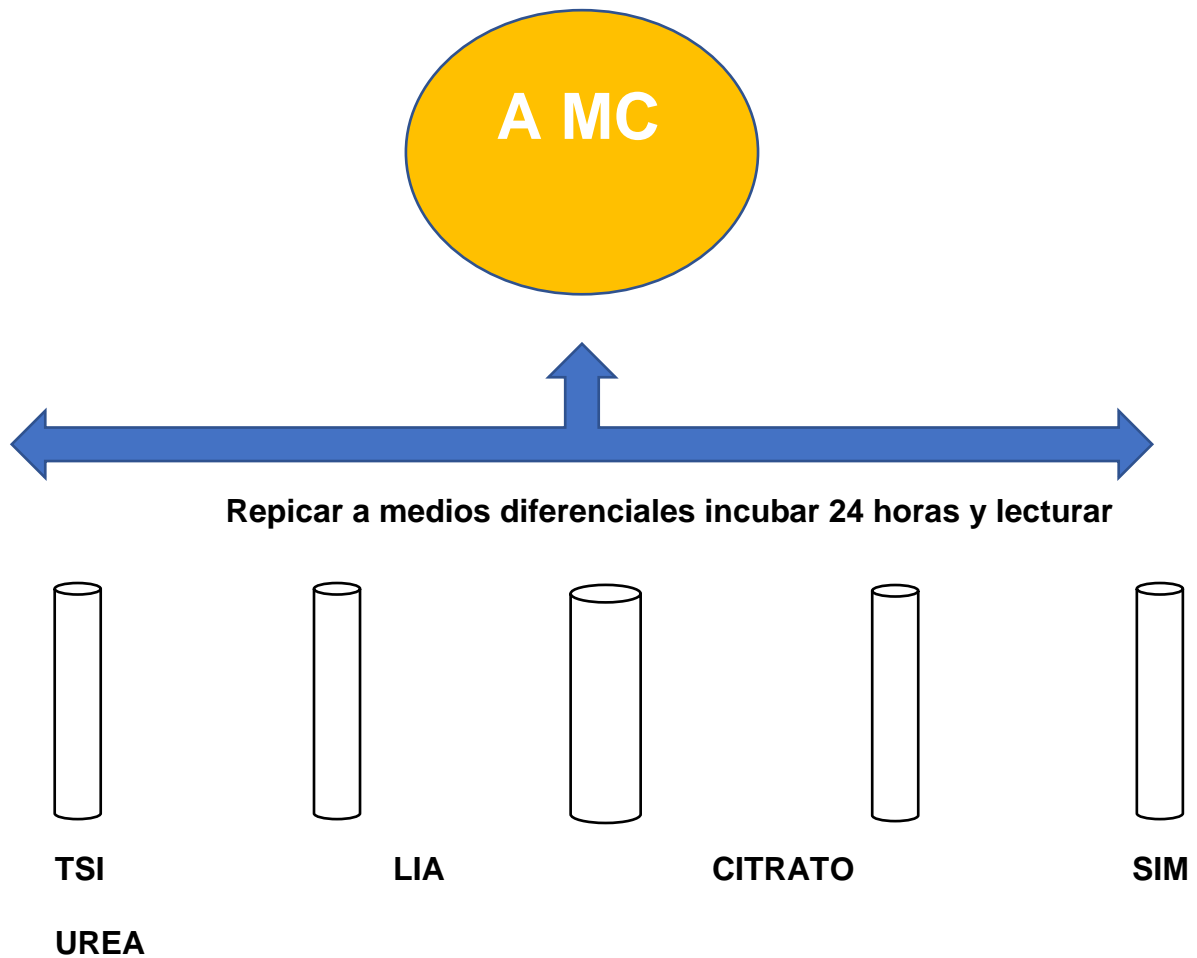
## ANEXOS

### ANEXO 01: FLUJOGRAMA DE IDENTIFICACIÓN DE CONTAMINACIÓN BACTERIANA POR CULTIVO





## ANEXO 02: FLUJOGRAMA DE IDENTIFICACION POR MEDIOS DIFERENCIALES



La lectura para la identificación de enterobacterias se realiza con la ayuda de la ficha de identificación de enterobacterias (anexo 3)

### ANEXO 03: TABLA DE IDENTIFICACION DE ENTEROBACTERIAS EN MEDIOS DIFERENCIALES

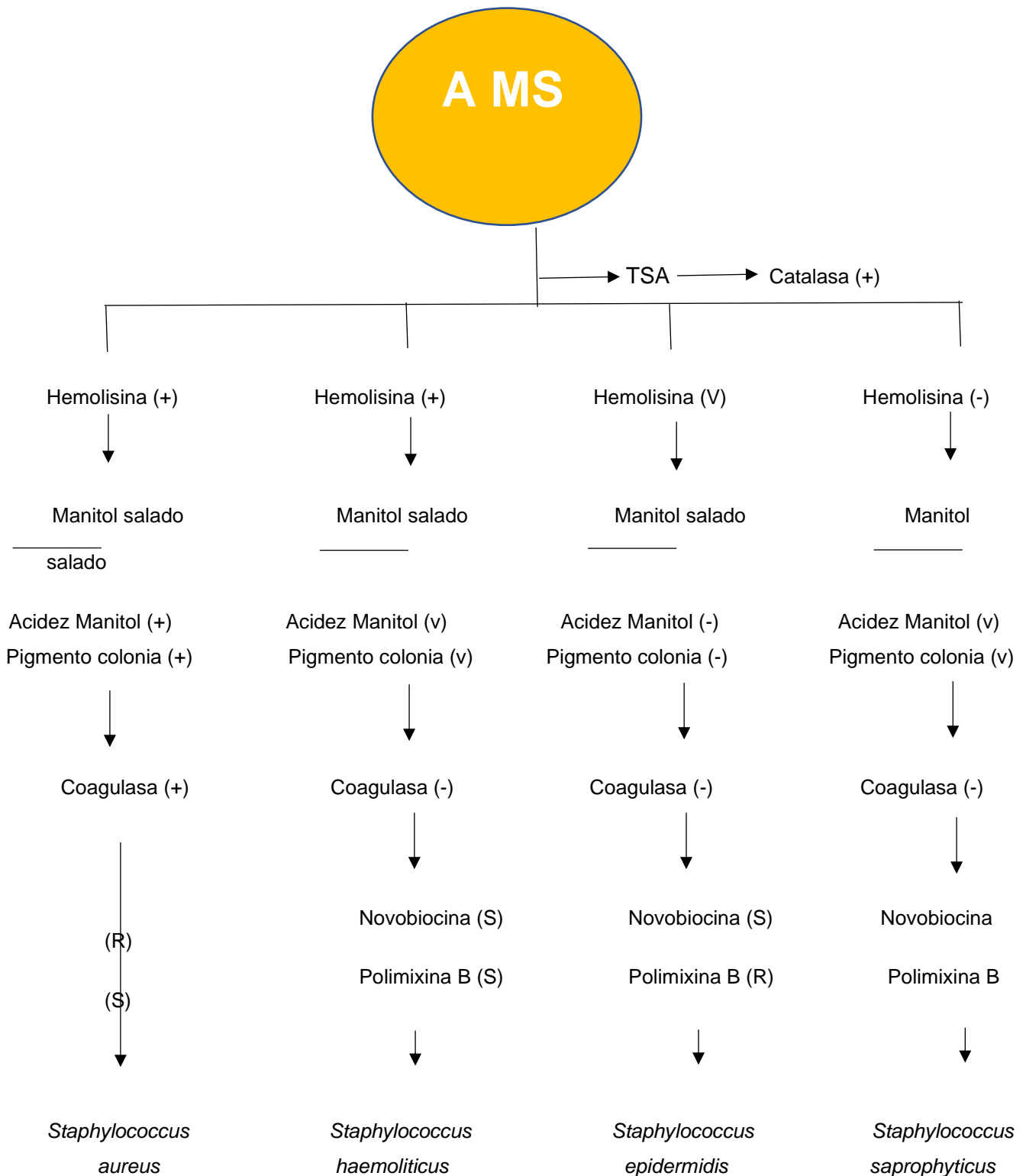
Clave de identificación de Enterobacterias

Fuente.(Standards, 2005)

Grupo I Hidrógeno Sulfurado (H <sub>2</sub> S) Positivo								
Anaerogenicos (Gas negativo)								
TSI	GAS	H <sub>2</sub> S	LIA	INDOL	CITRATO	UREA	MOV	ENTEROBACTERIA
K/A	-	+ ó -	K/K	-	-	-	-	<i>Salmonella typhi</i>
Aerogenicos (Gas positivo)								
TSI	GAS	H <sub>2</sub> S	LIA	INDOL	CITRATO	UREA	MOV	ENTEROBACTERIA
K/A	2+	4+	K/K	-	+	-	-	<i>Salmonella</i>
K/A ó A/A	2+	4+	K/K	-	+	-	+	<i>Arizona</i>
K/A ó A/A	2+	4+	K/A	-	+	-	+	<i>Citrobacter</i>
K/A ó A/A	2+	4+	R/K	+ ó -	D	+	+	<i>Proteus</i>
K/A	2+	4+	K/K	+	-	-	+	<i>Ewardsiella</i>
Grupo II Hidrógeno Sulfurado (H <sub>2</sub> S) Negativos								
Anaerogenicos (Gas negativo)								
TSI	GAS	H <sub>2</sub> S	LIA	INDOL	CITRATO	UREA	MOV	ENTEROBACTERIA
K/A	-	-	K/A	+ ó -	-	-	-	<i>Shigella</i>
A/A ó K/A	-	-	K/K ó K/N	+	-	-	V	<i>Escherichia</i>
A/A ó K/A	-	-	K/A	+ ó -	+	D	+ ó V	<i>Enterobacter</i>
A/A	-	-	K/K	-	+	-	+ ó V	<i>Serratia</i>
K/A	-	-	R/A	+	D	+	+	<i>Proteus</i>
K/A	-	-	R/A	+	+	-	+ ó -	<i>Providencia</i>
A/A	-	-	A/A ó K/A	+ ó -	-	V	V	<i>Yersinia</i>
Aerogenicos (Gas positivo)								
TSI	GAS	H <sub>2</sub> S	LIA	INDOL	CITRATO	UREA	MOV	ENTEROBACTERIA
A/A ó K/A	2+	-	K/K ó K/A	+	-	-	V	<i>Escherichia</i>
A/A	4+	-	K/K	+ ó -	+	+	-	<i>Klebsiella</i>
A/A ó K/A	3+	-	K/K ó K/A	-	+	D	+ ó V	<i>Enterobacter</i>
K/A ó A/A	2+	-	K/K	-	+	-	+ ó V	<i>Serratia</i>
K/A	+	-	K/A ó R/A	+	D	+	+	<i>Proteus</i>
K/A	+	-	K/A ó A/A	-	+	-	V	<i>Paratyphi A</i>

K= alcalino; A= ácido; R= Rojo; N= neutro; V= variable

## ANEXO 04: IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE ESTAFILOCOCOS



**NOTA: V = Variable (11 al 98 % cepas positivas)**

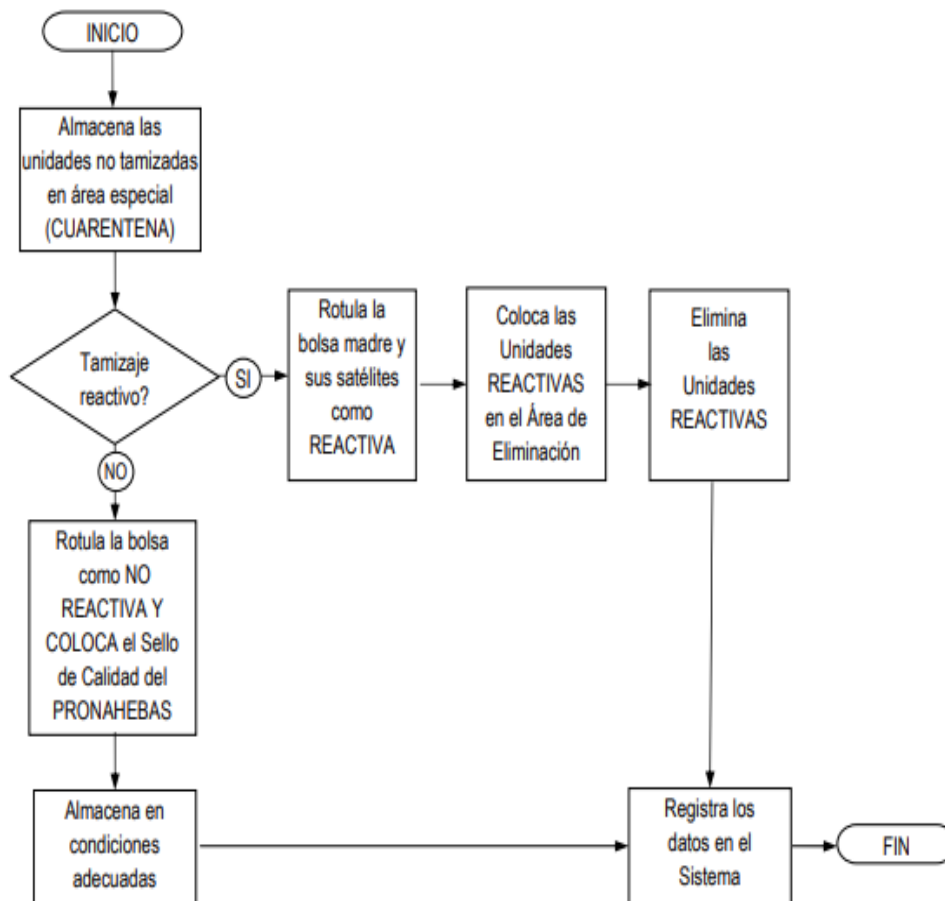
**Prueba sensibilidad Novobiocina:** Suspensión Estándar 0.5 Mac Farland R < ó = 16 mm; S= 17 - 27 mm

**Prueba sensibilidad Polimixina B:** Suspensión Estándar 0.5 Mac Farland R < ó = 10 mm; S= 11 mm

**ANEXO 05: NT N° 011 - MINSA / DGSP. Sistema de Gestión de la Calidad  
del PRONAHEBAS (PROGRAMA NACIONAL DE HEMOTERAPIA Y  
BANCOS DE SANGRE) – Manual de Procesos. DIAGRAMA DE FLUJO**

**DIAGRAMA DE FLUJO**

**EG05 - PC09: Almacenamiento**





## ANEXO 6. CLASIFICACIÓN DE REACCIONES POST- TRANSFUSIONALES

	<b>I- Agudas</b>	<b>II- Crónicas</b>
<b>A- Inmunes</b>	1- Hemolítica 2- Febril no hemolítica 3- Alérgica 4- Daño pulmonar asociado a la transfusión	1- Hemolítica retardada 2- GVHD 3- Refractariedad plaquetaria 4- Inmunomodulación
<b>B- No Inmunes</b>	1- Contaminación bacteriana 2- Hipervolemia	1- Hemosiderosis 2- Transmisión de infecciones

**Fuente:** Delgado (2012)



## ANEXO 07: PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN PARA ESTAFILOCOCOS

Agar Manitol Salado					Especie Bacteriana
CARACTERÍSTICAS CULTURALES EN EL MEDIO	Pruebas Bioquímicas				
	Catalasa	Coagulasa	Antibiograma		Resultado
			Novobiocina	Polimixina b	
<b>Fermentadores de manitol</b> .-Colonias de color amarillo rodeadas de un halo	+	+	-	-	<i>Staphylococcus aureus</i>
<b>No Fermentadores de manitol</b> .-Colonias de color del medio rojas, rodeadas o no por un halo rojizo – purpura.	+	-	Sensible	Resistente	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
	+	-	Resistente	Sensible	<i>Staphylococcus Saprofiticus</i>

**Fuente:** Elaborado por el investigador

## ANEXO 07: FOTOGRAFÍAS DEL DESARROLLO DE LA INVESTIGACIÓN

### FASE PRE ANALITICA

#### Almacenamiento de hemocomponentes



Fotografía 1



Fotografía 2

#### Preparación de medios de cultivo y control de calidad



Fotografía 3



Fotografía 4



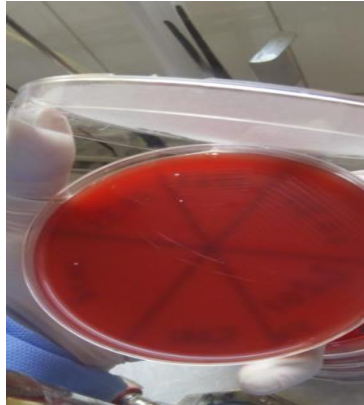
Fotografía 5

## FASE ANALITICA

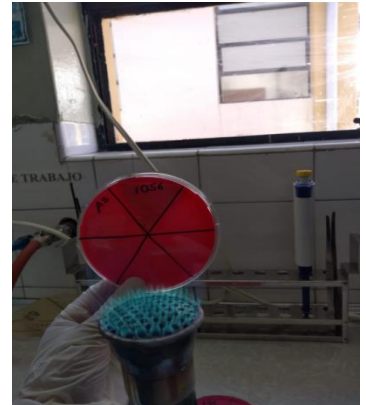
**Siembra y resultados de crecimiento bacteriano en plasma fresco congelado  
en agar Manitol salado y agar Sangre**



**Fotografía 6**



**Fotografía 7**

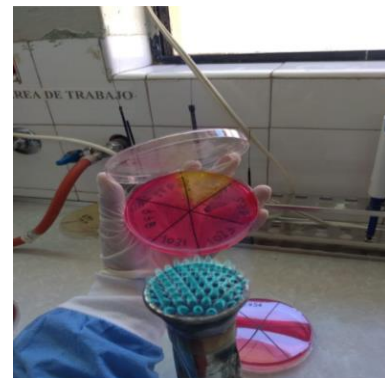


**Fotografía 8**

**Desarrollo de las bacterias positivo a estafilococos**



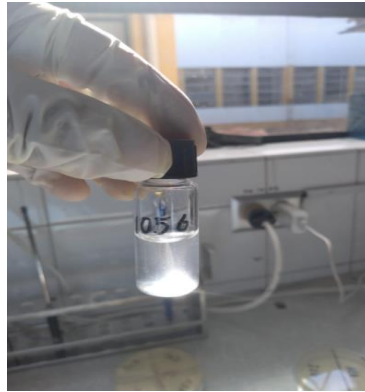
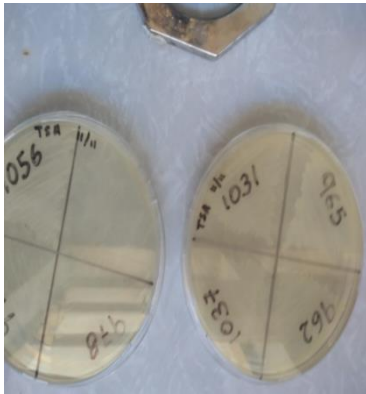
**Fotografía 9**



**Fotografía 10**



## Prueba de Novobiocina y Polimixina b



Fotografía

11



Fotografía 12

Fotografía 13

### FASE POST – ANALITICA

En esta etapa se reporta los resultados obtenidos de los cultivos realizados.

#### REPORTE EN AGAR MAC CONKEY

CULTIVO POSITIVO	CULTIVO NEGATIVO
0	120

#### REPORTE EN AGAR MANITOL SALADO

CULTIVO POSITIVO	CULTIVO NEGATIVO
6	114

#### REPORTE EN AGAR SANGRE

CULTIVO POSITIVO	CULTIVO NEGATIVO
6	114



PERÚ

Ministerio  
de Salud

HOSPITAL REGIONAL "M.N.B. PUNO  
SERVICIO DE PATOLOGÍA CLÍNICA

"Año del Bicentenario del Perú: 200 años de independencia"

### CONSTANCIA

El jefe del Servicio de Patología Clínica del Hospital Regional Manuel Nuñez Butron de Puno

#### HACE CONSTAR:

Que el Sr. Edwin Herfeson CUTIMBO QUISPE, bachiller de la Facultad de ciencias Biológicas de la Universidad nacional del Altiplano, en el programa de Microbiología y Laboratorio clínico, ha ejecutado su trabajo de investigación titulado "CONTAMINACIÓN BACTERIANA DE HEMOCOMPONENTES EN EL SERVICIO DE BANCO DE SANGRE Y HEMOTERAPIA DEL HOSPITAL REGIONAL MANUEL NUÑEZ BUTRON DE PUNO- 2019" en el Hospital Regional Manuel Nuñez Butron, según oficio de presentacion N° 230-2019-UADI-HR"MNB"-PUNO.

Se expide la presente constancia para fines que crea conveniente.

Puno, 31 de Agosto del 2021

Atentamente

