

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS

**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y
BIOQUÍMICAS**

**MAESTRÍA EN BIOQUÍMICA CLÍNICA Y GERENCIA
DE
SERVICIOS EN LABORATORIO PRIMERA VERSION**



**GLUCOSA Y pH PARA LA DETECCIÓN RAPIDA DE
CONTAMINACION BACTERIANA EN CONCENTRADO
DE PLAQUETAS. SERVICIO DE TRANSFUSIÓN
HOSPITAL PETROLERO. AÑO 2021-2022.**

**Tesis para optar al Título de Master en Bioquímica Clínica y Gerencia de Servicios
en Laboratorio**

POR: DANIELA ELENA TAVERA RIVAS

TUTOR: McS. TEREZA VASQUEZ MURILLO

**LA PAZ – BOLIVIA
2024**



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICAS
UNIDAD DE POSTGRADO

La Paz - Bolivia



MAESTRÍA EN BIOQUÍMICA CLÍNICA Y GERENCIA DE SERVICIOS EN
LABORATORIO

ACTA DE CALIFICACIÓN DEL DOCUMENTO DE TESIS
EQUIVALENTE AL 80%

Fecha: La Paz, 30 de noviembre de 2023
Programa: Maestría en Bioquímica Clínica y Gerencia de Servicios en Laboratorio
Título del Tema: "GLUCOSA Y PH PARA LA DETECCIÓN RAPIDA DE CONTAMIANCIÓN BACTERIANA EN CONCENTRADO DE PLAQUETAS. SERVICIO DE TRANSFUSIÓN HOSPITAL PETROLERO. AÑO 2021-2022"
Postulante: Lic. Daniela Elena Tavera Rivas
Tutor: M.Sc. Tereza Vasquez Murillo
Tribunal: M.Sc. Mario Chavez Ramos

Nº	CALIFICACIÓN SOBRE EL 100% EN BASE A:	PORCENTAJE	CALIFICACIÓN
1	<ul style="list-style-type: none">• Valoración de la discusión de los resultados.• Rigor científico• Correspondencia de las conclusiones con los objetivos planteados	30%	25%
2	Valoración del cumplimiento de requisitos metodológicos	20%	20%
3	Valoración de la importancia, interés y actualidad de la temática estudiada en el plano nacional e internacional y el impacto social que produce este estudio	20%	18%
4	Bibliografía	20%	20%
5	Claridad del documento presentado	10%	10%
TOTAL		100%	93%

Comentarios:
• Revisar algunos conceptos que no son claros, en general es un muy buen trabajo.

NOTA.- La calificación mínima de aprobación es de 71%


FIRMA REVISOR

Dr. Mario Aldo Chavez Ramos
DOCENTE HEMATOLOGIA Y
BANCO DE SANGRE FCB - UMISA
M.P. CH - 360 C.B.F.L.P. - 2318



MAESTRÍA EN BIOQUÍMICA CLÍNICA Y GERENCIA DE SERVICIOS EN LABORATORIO

ACTA DE CALIFICACIÓN DEL DOCUMENTO DE TESIS EQUIVALENTE AL 80%

Fecha: La Paz, 4 de diciembre de 2023
Programa: Maestría en Bioquímica Clínica y Gerencia de Servicios en Laboratorio
Título del Tema: "GLUCOSA Y PH PARA LA DETECCIÓN RAPIDA DE CONTAMINACIÓN BACTERIANA EN CONCENTRADO DE PLAQUETAS. SERVICIO DE TRANSFUSIÓN HOSPITAL PETROLERO. AÑO 2022-2023"
Postulante: Lic. Daniela Elena Tavera Rivas
Tutor: M.Sc. Tereza Vasquez Murillo
Tribunal: M.Sc. Wendy Lizzeth Pérez Gorrity

Nº	CALIFICACIÓN SOBRE EL 100% EN BASE A:	PORCENTAJE	CALIFICACIÓN
1	<ul style="list-style-type: none"> • Valoración de la discusión de los resultados. • Rigor científico • Correspondencia de las conclusiones con los objetivos planteados 	30%	22
2	Valoración del cumplimiento de requisitos metodológicos	20%	15
3	Valoración de la importancia, interés y actualidad de la temática estudiada en el plano nacional e internacional y el impacto social que produce este estudio	20%	20
4	Bibliografía	20%	15
5	Claridad del documento presentado	10%	8
TOTAL		100%	80

Comentarios:
 Favor revisar conclusiones.

NOTA.- La calificación mínima de aprobación es de 71%

FIRMA REVISOR

M.Sc. Dra. Wendy L. Perez Gorrity
 Mat. P-449
 Parasitología y Medicina Transfusional



**MAESTRÍA EN BIOQUÍMICA CLÍNICA Y GERENCIA EN SERVICIOS DE
LABORATORIO (1RA. VERSION)
ACTA DE CALIFICACIÓN DEL DOCUMENTO DE TESIS
EQUIVALENTE AL 80%**

Fecha: La Paz, 22 de ABRIL de 2024
Programa: Maestría en Bioquímica Clínica y Gerencia de Servicios en Laboratorio (1ra Versión)
Título del Tema: "GLUCOSA Y pH PARA LA DETECCIÓN RÁPIDA DE CONTAMINACIÓN BACTERIANA EN CONCENTRADO DE PLAQUETAS SERVICIO DE TRANSFUSIÓN HOSPITAL PETROLERO. AÑO 2021-2022"
Postulante: Lic. Daniela Elena Tavera Rivas
Tutor: M.Sc. Tereza Vasquez Murillo
Tribunal: M.Sc. GABY VANESSA TELLERÍA ZAGREDO

Nº	CALIFICACIÓN SOBRE EL 100% EN BASE A:	PORCENTAJE	CALIFICACIÓN
1	<ul style="list-style-type: none">• Valoración de la discusión de los resultados.• Rigor científico• Correspondencia de las conclusiones con los objetivos planteados	30%	20%
2	Valoración del cumplimiento de requisitos metodológicos	20%	15%
3	Valoración de la importancia, interés y actualidad de la temática estudiada en el plano nacional e internacional y el impacto social que produce este estudio	20%	18%
4	Bibliografía	20%	15%
5	Claridad del documento presentado	10%	7%
TOTAL		100%	75%

Comentarios: REVISAR LOS PUNTOS OBSERVADOS Y CORREGIRLOS DEBIDO A QUE LA TESIS SE CONVERTIRÁ EN BIBLIOGRAFIA DE REFERENCIA Y DEBE EXISTIR COHERENCIA EN LA TERMINOLOGIA Y REDACCION.
- LA REDACCION DE LOS RESULTADOS Y CONCLUSIONES DEBE ESTAR ACORDE A LOS OBJETIVOS.

NOTA. - La calificación mínima de aprobación es de 71%


FIRMA REVISOR

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a mi mamá Gaby que me ayudo a llegar aquí y a mi papá Andrés el cual fue el padre que siempre quise.

AGRADECIMIENTO

A mi familia por estar ahí siempre a lo largo de todos estos años.

Al Dr. Sergio Ergueta por toda la enseñanza otorgada.

A la Dra. Yvonne Molina por ayudarme en el área de Bacteriología.

A mis amigas que siempre me apoyaron en todas las locuras.

A todos los docentes que tuve a lo largo de mi formación, quienes fueron pilares importantes en mi vida.

INDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
INDICE DE TABLAS	vi
INDICE DE GRAFICOS	vii
ACRONIMOS	viii
RESUMEN	x
ABSTRACT.....	xi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEORICO	4
2.1 Plaquetas.....	4
2.1.1. Función plaquetaria en la hemostasia.....	5
2.1.1.1. Agregación plaquetaria	5
2.2. Concentrado de plaquetas.....	7
2.2.1 Técnica de obtención	8
2.3. Indicaciones terapéuticas del concentrado de plaquetas	10
2.3.1. Transfusión terapéutica de concentrado de plaqueta en adultos.....	10
2.3.2. Transfusión profiláctica de concentrado de plaquetas en adultos ...	12
2.3.3. Contraindicaciones en la administración de CP	14
2.3.4. Transfusión de CP en menores de 4 meses de edad.....	15
2.3.5. Concentrado plaquetario leucorreducido.....	16
2.3.6. Refratariedad plaquetaria.....	17
2.4. Estrategias de control microbiológico para componentes plaquetarios	18
2.4.1. Mitigación de riesgos a través de la limitación del almacenamiento de plaquetas	18
2.4.2. Detección microbiológica obligatoria mediante métodos basados en cultivos	20
2.4.3. Cuarentena del concentrado de plaquetas	25
2.4.4. Seguridad mejorada del CP a través de un mayor volumen de muestra para la detección de contaminación bacteriana	26
2.4.5. Detección de anaerobios	27

2.4.6. Métodos directos como medidas de seguridad	29
2.4.7. Resultados falsos negativos	31
2.4.8. Inspección visual de los CP	31
2.4.9. Eliminación de contaminaciones bacterianas utilizando técnicas de reducción de patógenos	32
2.4.10. Identificación de falsos positivos y verdaderos positivos (U.S, 2019- CDC, 2022 – CDC,2021).....	34
2.4.11. Criterios de definición de sepsis por transfusión de CP contaminados con bacterias (U.S, 2019- CDC, 2022 – CDC,2021).	35
2.4.11.1. Acciones inmediatas ante transfusión séptica.	36
3. ANTECEDENTES.....	37
3.1. Antecedentes internacionales.....	37
3.2. Antecedentes nacionales	44
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	47
5. JUSTIFICACIÓN.....	54
6. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	57
7. HIPOTESIS.....	57
8. OBJETIVOS	58
8.1. OBJETIVO GENERAL	58
8.2. OBJETIVO ESPECÍFICO	58
9. DISEÑO METODOLÓGICO	60
9.1. TIPO O DISEÑO DE ESTUDIO.....	60
9.2. SITIO O CONTEXTO DEL ESTUDIO	60
9.3. UNIVERSO O POBLACIÓN	61
9.4. TAMAÑO DE MUESTRA.....	62
9.4.1. Operacionalización de variables.....	64
9.5. TECNICAS Y PROCEDIMIENTOS	67
9.5.1. Recolección de muestra	67
9.5.2. Ensayo de la tira reactiva.....	68
9.5.3. Cultivo.....	68
9.5.4. Identificación de <i>Staphylococcus</i>	69
9.6. ANALISIS ESTADÍSTICO	72
9.7. APECTOS BIOETICOS	76

10. RESULTADOS	77
11. DISCUSIÓN	94
12. CONCLUSIONES	98
13. RECOMENDACIONES	100
BIBLIOGRAFÍA	102
ANEXOS	

INDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Prevalencia de contaminación bacteriana según los microorganismos identificados. Servicio de Transfusiones. Hospital Petrolero. Septiembre del 2021 a mayo del año 2022.....	77
Tabla 2. Medidas de tendencia central y dispersión de los métodos rápidos de diagnóstico de contaminación bacteriana. Servicio de Transfusiones. Septiembre del 2021 a mayo del año 2022.....	78
Tabla 3. Tasas de eficacia individuales de los métodos. Servicio de Transfusiones. Hospital Petrolero. Septiembre del 2021 a mayo del año 2022.....	84
Tabla 4. Tasas de eficacia de los métodos cuando se ensayan en paralelo. Servicio de Transfusiones. Hospital Petrolero. Septiembre del 2021 a mayo del año 2022.....	88
Tabla 5. Grado de asociación entre el tiempo de almacenamiento y el riesgo de contaminación bacteriana en el CP. Servicio de Transfusiones. Hospital Petrolero. Septiembre del 2021 a mayo del año 2022.....	91

INDICE DE GRAFICOS

Pág.

Gráfico 1. Prevalencia de contaminación bacteriana según los microorganismos identificados. Servicio de Transfusiones. Hospital Petrolero. Septiembre del 2021 a mayo del año 2022.....	77
Gráfico 2. Puntos de corte donde los métodos alcanzan su máxima sensibilidad y especificidad para predecir contaminación bacteriana. Servicio de Transfusiones. Septiembre del 2021 a mayo del año 2022.....	82
Gráfico 3. Valores predictivos positivos de los factores predictores de contaminación bacteriana. Servicio de Transfusiones. Hospital Petrolero. Septiembre del 2021 a mayo del año 2022.....	85
Gráfico 4. Tasas de eficacia de los métodos cuando se ensayan en paralelo. Servicio de Transfusiones. Hospital Petrolero. Septiembre del 2021 a mayo del año 2022.....	88
Gráfico 5. Grado de asociación entre el tiempo de almacenamiento y el riesgo de contaminación bacteriana en el CP. Servicio de Transfusiones. Hospital Petrolero. Septiembre del 2021 a mayo del año 2022.....	92

ACRONIMOS

ABO: Grupo sanguíneo ABO
ADP: Adenosina di fosfato
AMPc: Adenosina monofosfato cíclico
BC: Componentes sanguíneos
BC: Contaminación por bacterias
CBS: Canadian Blood Services
CMV: Citomegalovirus
CP: Concentrado de plaquetas
CPAF Pediátrico
CPAF: Plasma fresco congelado
ELISA: Ensayo Inmuno Enzimático
EV: Endovenosa
GR: Glóbulos Rojos
HLA: Complejo mayor de histocompatibilidad
HQ: Héma-Québec
LBP: Productos sanguíneos lábiles
OMS: Organización Mundial de la Salud
PC Pediátrico
PCR: Reacción en cadena de la polimerasa
PFC: Plasma fresco congelados
PG: Paquete globular
PLT: Plaquetas
PPP: Plasma Pobre en Plaquetas
PR: Reducción de patógenos
PSP: Plaquetas derivadas de sangre entera
PTI: Purpura trombocitopenica idiopática autoinmune
PTT: Púrpura trombocitopénica trombótica.
QC: Control de calidad
RMM: Métodos microbiológicos rápidos
RN: Recién nacidos
RPM: revoluciones por minuto (rpm)

SDP: Un solo donante

SPTR: Tasa de reacciones transfusionales sépticas de PLT

ST Pediátrico,

TABC: Contaminación bacteriana asociada a transfusiones

TABCD: Determinantes de la contaminación bacteriana asociada a transfusiones

TABI: Infección bacteriana asociada a la transfusión

TRBC: reacciones transfusionales relacionadas con la contaminación bacteriana.

UFC: Unidades formadoras de colonias

VHB: Virus de la hepatitis B

VHC: Virus de la hepatitis C

VIH: Virus de inmunodeficiencia humana

VST: Volumen de sangre total

WBP: Plaquetas derivadas de sangre total

RESUMEN

Objetivo. Determinar la eficacia de la determinación de glucosa y pH en tira reactiva de orina para la detección rápida de contaminación bacteriana en concentrados de plaquetas del Servicio de Transfusiones del Hospital Petrolero de Obrajes durante el periodo de septiembre del 2021 a mayo del año 2022. **Tipo de investigación.** Descriptivo, transversal y analítico. Muestra de 208 CP. **Resultados.** La prevalencia de contaminación fue de 6%. Los microorganismos fueron: *Staphylococcus epidermidis* (3,4%), *Staphylococcus aureus* (1,9%) y *Staphylococcus saprophyticus* (1,0%). Los valores de referencia en los cultivos negativos fue pH (6,6-6,8); glucosa (220,7-316,8 mg/dl) y el tiempo de almacenamiento \leq a 5 días. Los puntos de corte óptimos del pH y glucosa fueron de \leq a 6,3 y \leq a 75 mg/dl respectivamente. La sensibilidad y especificidad para el pH fue de 84,6% y 51,3% respectivamente. El valor predictivo positivo y negativo fue de 10,2% y 98%. La razón de verosimilitud positiva y negativa fue de 1,7 y 0,3. Para la glucosa, la sensibilidad y especificidad fue de 46,2% y 45,6%. El valor predictivo positivo y negativo fue de 5,4% y 92,7%. La razón de verosimilitud positiva y negativa fue de 0,9 y 1,2. La razón de verosimilitud positiva y negativa fue de 1,7 y 1,2. Analizando en paralelo el pH, la glucosa y el tiempo se mejoró en la especificidad (86,8%), el valor predictivo negativo (99,9%) y la razón de verosimilitud positiva (2,7) y razón de verosimilitud negativa (0,7). Hubo asociación estadísticamente significativa entre el tiempo y la contaminación bacteriana (OR: 6,1-12,6). **Conclusiones.** La prevalencia de contaminación bacteriana fue elevada. El pH y glucemia analizadas en paralelo con la variable tiempo tienen elevado valor predictivo para descartar contaminación bacteriana.

Palabras clave: Concentrado de plaquetas, contaminación bacteriana, glucosa, pH y tiempo de almacenaje.

ABSTRACT

Objective. To determine the effectiveness of the determination of glucose and pH in a urine test strip for the rapid detection of bacterial contamination in platelet concentrates of the Transfusion Service of the Hospital Petrolero de Obrajes during the period from September 2021 to May 2022. **Methodological design.** Descriptive, transversal and analytical. Sample of 208 CP. **Results.** The prevalence of contamination was 6%. The microorganisms were: *Staphylococcus epidermidis* (3.4%), *Staphylococcus aureus* (1.9%) and *Staphylococcus saprophyticus* (1.0%). The reference values in the negative cultures were pH (6.6-6.8); glucose (220.7-316.8 mg/dl) and storage time ≤ 5 days. The optimal cut-off points for pH and glucose were ≤ 6.3 and ≤ 75 mg/dl, respectively. The sensitivity and specificity for pH was 84.6% and 51.3%, respectively. The positive and negative predictive value was 10.2% and 98%. The positive and negative likelihood ratios were 1.7 and 0.3. For glucose, the sensitivity and specificity was 46.2% and 45.6%. The positive and negative predictive value was 5.4% and 92.7%. The positive and negative likelihood ratios were 0.9 and 1.2. The positive and negative likelihood ratios were 1.7 and 1.2. Analyzing pH, glucose and time in parallel improved specificity (86.8%), negative predictive value (99.9%) and positive likelihood ratio (2.7) and negative likelihood ratio (0.7). There was a statistically significant association between time and bacterial contamination (OR: 6.1-12.6). **Conclusions.** The prevalence of bacterial contamination was high. The pH and glycemia analyzed in parallel with the time variable have a high predictive value to rule out bacterial contamination.

Keywords: Platelet concentrate, bacterial contamination, glucose, pH and storage time.

1. INTRODUCCIÓN

La hemoterapia más conocida como medicina transfusional tiene el propósito fundamental de ser una opción terapéutica para ayudar a los problemas de salud de los pacientes con sus diferentes componentes (hemocomponentes) según la clínica y patología del paciente. Involucra no solo la transfusión de hemocomponentes (concentrado de plaquetas, paquete globular, plasma) y hemoderivados (albúmina, factor de coagulación, gamma globulina), sino también la hemoterapia celular, de tejidos y la inmunoterapia. Según la complejidad de la preparación de hemoderivados y su control de calidad, depende de la organización de laboratorios con equipos cada vez más sofisticados para minimizar los riesgos de transmisión de enfermedades infecciosas (por bacterias, virus y parásitos) y a la vez optimizar las pruebas de compatibilidad y minimizar los riesgos de incompatibilidad donante-receptor. Por lo que la hemovigilancia y el control de calidad en los servicios transfusionales y bancos de sangre son elementos indispensables para garantizar la inocuidad y beneficio de los hemoderivados (Escamilla, 2003).

Tanto los bancos de sangre como las unidades transfusionales, están en la obligatoriedad de cumplir con las normativas del ministerio de salud que garanticen la calidad de los hemoderivados y de esta manera minimizar la cantidad de riesgo que trae consigo una transfusión sanguínea (Ministerio de Salud, 2018).

Sin embargo, en la actualidad, el factor de riesgo infeccioso asociado a sepsis y muerte motivado por la transfusión es la contaminación bacteriana en los componentes sanguíneos. Tal como lo refieren varios autores, los factores que predisponen para el desarrollo de esta incluyen: la temperatura de almacenamiento, equipos de colecta contaminados y no hacer una buena desinfección del brazo del donante (WHO, 2017- B BRD, 2014).

Desde la primera administración exitosa de plaquetas para tratar trastornos hemorrágicos en 1910, los concentrados de plaquetas (CP) se han convertido en uno de los medicamentos más efectivos e indispensables. Esto es corroborado por su inclusión en la “Lista de Medicamentos Esenciales” de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (British Committee, 2003). La transfusión de plaquetas generalmente se aplica en casos de trombocitopenia con recuentos de plaquetas inferiores a 10×10^9 plaquetas/L causados por hemorragia grave, terapia con células madre o neoplasias malignas (B BRD, 2014).

El foco de atención actual va dirigido a los concentrados plaquetarios, por lo que podemos decir que la transfusión que está más asociada a sepsis bacteriana, es causada por plaquetas debido a que estas requieren estar a una temperatura ambiente de ($22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), lo que genera condiciones favorables para el crecimiento y multiplicación bacteriana (B BRD, 2014).

Se considera que el índice de contaminación en el momento de la recolección del concentrado de plaquetas es bajo, aproximadamente igual o menos de 1-10 Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFC/ml). Debemos considerar que las bacterias se multiplican por fisión binaria y cuando el CP está contaminado, la bacteria inoculada puede proliferar en horas hasta alcanzar un nivel de 10^6 UFC/mL mayor (B BRD, 2014). Esta cantidad de bacterias en el componente sanguíneo en un corto periodo de tiempo puede producir bacteriemia (bacterias en el torrente sanguíneo) que puede progresar a coagulación intravascular diseminada, shock séptico y muerte esto debido principalmente a una endotoxina que tienen las bacterias como es el lipolisacárido de la membrana citoplasmática de las bacterias gramnegativas y el peptidoglicano de las grampositivas. Las consecuencias que trae una transfusión plaquetaria contaminada se basan principalmente en la cantidad de bacterias que se transfunden, el estado clínico del paciente y el tipo de bacteria que esté implicada en este procedimiento (JC, 2011- Duke, 1983).

El riesgo de presentar una reacción adversa clínicamente significativa no se conoce; sin embargo, es posible que tenga relación con el número de días de

almacenamiento, es decir, a mayor número de días de almacenamiento el riesgo de contaminación del CP aumenta (Duke,1989).

Existen diversos métodos para la detección de desarrollo bacteriano en el CP, entre los más conocidos están: el del efecto remolino, la inspección visual, el cultivo convencional, la tinción de Gram, la tinción de naranja de acridina, la quimioluminiscencia, la técnica de ELISA, cultivos en equipos automatizados y últimamente la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Duke, 1989 -Feng, 1992).

Tal como se describirá en el marco teórico, algunos de estos métodos son laboriosos y morosos, requieren de un equipamiento y reactivos especiales, otros como el PCR son caros y todavía poco accesibles desde el punto de vista económico y otros tienen baja sensibilidad y especificidad.

Por lo descrito, se realizó una investigación con el objetivo de determinar la eficacia de la determinación de glucosa y pH para la detección rápida de contaminación bacteriana mediante la tira reactiva (Burstain, 1997), utilizando como método de referencia al cultivo en los concentrados de plaquetas el cual se desarrolló con CP del Servicio de Transfusiones del Hospital Petrolero de Obrajés durante septiembre del 2021 a mayo del 2022.

2. MARCO TEORICO

2.1 Plaquetas

Las plaquetas son pequeños fragmentos de citoplasma derivados de los megacariocitos. Miden entre 1,5 y 3,5 μ m de diámetro como media, pero pueden ser más grandes en algunos estados patológicos. No contienen núcleo y están rodeadas por una membrana bicapa lipídica típica. Junto a la membrana externa yace la banda marginal de microtúbulos, que mantiene la forma de la plaqueta y se despolimeriza cuando comienza la agregación. El citoplasma central está poblado de tres tipos de gránulos plaquetarios: los gránulos δ , α y lisosomales. Finalmente, existe el sistema tubular denso y el sistema canalicular de membrana, que se comunica con el exterior. No queda claro cómo todos estos elementos actúan conjuntamente para realizar funciones como la contracción y la secreción, que son características de la activación plaquetaria.

La membrana de la plaqueta es el sitio de interacción entre el ambiente plasmático y la pared del vaso dañado. Consta de colesterol, fosfolípidos, glucolípidos y al menos nueve glucoproteínas, designadas GpI-GpIX. Los fosfolípidos de membrana presentan una distribución asimétrica, predominando la esfingomiélin y la fosfatidilcolina en la capa externa, y la fosfatidil etanolamina, el fosfatidil inositol y la fosfatidil serina en la capa interna. Después de la activación plaquetaria la membrana también expresa sitios de unión para las proteínas de coagulación como el factor XI y el factor VIII.

El sistema contráctil de la plaqueta comprende el sistema microtubular denso y los microfilamentos circunferenciales, que mantienen la forma de disco. La actina es el principal constituyente del sistema contráctil, pero la miosina y una proteína de unión al calcio, la calmodulina, también están presentes (George, 2000).

2.1.1. Función plaquetaria en la hemostasia

Los principales pasos en la función plaquetaria son los de adhesión, activación con cambio de forma y agregación. Cuando la pared vascular ha sido dañada, las estructuras subendoteliales, incluida la membrana basal, el colágeno y las microfibrillas, quedan expuestas. El FVW unido a la superficie se liga a la GpIb de las plaquetas circulantes, lo que conduce a que se produzca una monocapa inicial de plaquetas adheridas. La unión a través de la GpIb inicia la activación de la plaqueta a través de un mecanismo de proteínas G. Una vez activadas, las plaquetas cambian inmediatamente de forma y dejan de constituir un disco para convertirse en una diminuta esfera con la proyección de numerosos pseudópodos.

Después de la adhesión de una única capa de plaquetas al subendotelio expuesto, las plaquetas se unen entre sí para formar agregados. El fibrinógeno, la fibronectina y los complejos de glucoproteína Ib-IX y IIbIIIa son esenciales en este estadio para incrementar el contacto célula a célula y facilitar la agregación. Ciertas sustancias (agonistas) reaccionan con receptores plaquetarios específicos de membrana para promover la agregación plaquetaria y la posterior activación. Los agonistas incluyen fibras de colágeno expuestas, ADP, trombina, adrenalina, serotonina y ciertos metabolitos del ácido araquidónico incluyendo el TXA₂. En áreas de flujo sanguíneo no lineal, como puede ocurrir en el lugar de una lesión, los hematíes localmente dañados liberan ADP, lo que posteriormente activa las plaquetas (Mann, 1999).

2.1.1.1. Agregación plaquetaria

La agregación plaquetaria puede ocurrir por al menos dos vías independientes, pero íntimamente ligadas. La primera vía incluye el metabolismo del ácido araquidónico. La activación de la enzima fosfolipasa (PLA₂) libera ácido araquidónico de los fosfolípidos de membrana (fosfatidilcolina).

Aproximadamente el 50% del ácido araquidónico libre es convertido por la enzima lipooxigenasa en una serie de productos entre los que se incluyen los

leucotrienos, que son importantes agentes quimiotácticos para los leucocitos. El 50% del ácido araquidónico restante es convertido por la enzima ciclooxigenasa en endoperóxidos cíclicos lábiles, la mayoría de los cuales son a su vez convertidos por la tromboxano sintetasa en TXA2. El TXA2 tiene intensos efectos biológicos, causa la liberación secundaria de gránulos plaquetarios y vasoconstricción local, así como una posterior agregación plaquetaria local mediante la segunda vía descrita más abajo. Ejerce estos efectos elevando la concentración de calcio libre intracelular citoplasmático y la unión a receptores granulares específicos. El TXA2 es muy lábil; tiene una semivida menor de 1 min antes de degradarse en el inactivo tromboxano B2 (TXB2) y malonildialdehído.

La segunda vía de activación y agregación puede darse de forma completamente independiente con respecto a la primera: varios agonistas plaquetarios, incluidos la trombina, el TXA2 y el colágeno, se unen a receptores y, a través de un mecanismo mediado por proteína G, activan la fosfolipasa C. Esto genera diacilglicerol e inositol trifosfato, lo que a su vez activa la proteincinasa C y eleva el calcio intracelular, respectivamente. El calcio es liberado desde el sistema tubular denso para formar complejos con calmodulina. Este complejo y el calcio libre actúan como coenzimas en la reacción de liberación, en la activación de diferentes proteínas reguladoras, de actina y miosina y del sistema contráctil, y también en la liberación de ácido araquidónico de los fosfolípidos de membrana y la generación de TXA2.

Las plaquetas forman primero agregados reversibles y poco cohesionados, pero después de la reacción de liberación de los gránulos plaquetarios se forma un agregado más firme y extenso. Los cambios en la configuración de la membrana plaquetaria tienen lugar en ese momento; un reordenamiento «de vaivén» de la superficie trae la fosfatidil serina y el fosfatidil inositol cargados negativamente a la capa externa, generando así actividad (procoagulante) del factor plaquetario 3. Al mismo tiempo, se exponen en la superficie plaquetaria receptores específicos para diversos factores de coagulación y ayudan a coordinar el ensamblado de los complejos enzimáticos

del sistema de coagulación. La generación local de trombina activará en adelante las plaquetas.

Las plaquetas no se activan si están en contacto con células endoteliales sanas. La «no trombogenicidad» del endotelio es resultado de una combinación de los mecanismos de control ejercidos por las células endoteliales: síntesis de prostaciclina, capacidad para unirse a la trombina y activar el sistema PC, capacidad para inactivar sustancias vasoactivas y otras diversas. La prostaciclina liberada localmente se une a receptores específicos de membrana plaquetaria y a continuación activa la adenilato ciclasa unida a la membrana (produciendo adenosina monofosfato cíclico o AMPc). El AMPc inhibe la agregación plaquetaria logrando impedir el metabolismo del ácido araquidónico y la liberación de los iones de calcio citoplasmático libre. Las plaquetas actúan en la hemostasia primaria y tienen cinco funciones principales: adhesión, agregación, secreción, proveer superficie procoagulante y retracción del coágulo. (Mosesson, 1998 – Matsuda, 1999).

2.2. Concentrado de plaquetas

Es un componente derivado de la Sangre Total obtenido antes de las 8 horas de extraída esta y mantenida a temperatura ambiente hasta el procesamiento. Este hemocomponente contiene la mayor parte del contenido plaquetario original, de forma terapéuticamente efectiva. Es obtenido directamente a partir de un Plasma Rico en Plaquetas o a partir de Buffy-Coat. (Tejerina,2004).

La unidad de CP obtenida por aféresis (plaquetoféresis) es de un solo donante, contiene 1,5 a 5 x 10¹¹ plaquetas en un volumen de 250 a 300 ml (1 U de CP obtenido por aféresis equivale a 6 CP estándar), su concentración de glóbulos rojos y leucocitos depende del sistema de separación y máquina utilizada, las nuevas tecnologías producen leucorreducción óptima con cuenta de leucocitos menor de 1 x 10⁶.

El CP se conserva a 22°C+/- 2 y en agitación constante a 20 rpm, tiene una duración máxima de 5 días. Asimismo, 4 a 5 U de CP estándar o 1 U de CP obtenida por aféresis proporciona una cantidad de factores de coagulación similar a la contenida en 1 U de Plasma fresco congelados (PFC) estándar.

Como los paquetes globulares (PG), las plaquetas también pueden ser “lavadas” si es necesario, sobre todo en pacientes con historia repetida de reacción febril no hemolítica. El CP también puede ser leucorreducido, sea por aféresis o por filtración prealmacenamiento o previos a su transfusión (Wroblewski, 2010).

2.2.1 Técnica de obtención

Requiere de venopunción que consiste en la extracción de sangre periférica y luego la centrifugación (separación celular). En esta fase, existen diferentes métodos:

La aféresis, requiere de maquinaria específica y sofisticada de gran coste. Es un proceso cerrado completamente. Solo se realiza este proceso en ambiente hospitalario, bancos de sangre y centros de transfusión. Existen máquinas específicas de centrifugación que usan menos cantidad de sangre (unos 50ml). Se consideran sistemas cerrados. Algunos de ellos son: Curasan System®, Friadent-Schützer®, PDGF 90-1, PRGF System II. BTI®, Vivostat PRF preparation kit®, PCCS plateler concentrate collection system®, Haverst® Smart Prep 2APC 60 Process Sistemas abiertos que utilizan tubos de ensayo con anticoagulante. Se necesita poco volumen de sangre (Moreno, 2015).

En el método de obtención por “técnica cerrada”

Se deben seguir las instrucciones descritas por el fabricante de cada sistema comercial. Son equipos desechables cerrados que permiten recolectar una cantidad programada de plaquetas leucorreducidas concentradas resuspendidas en plasma leucorreducido. En la mayoría de los sistemas comerciales de aféresis se utiliza la fuerza centrífuga como método de separación, la cual se basa en las diferencias de

densidad entre cada componente. Las máquinas destinadas a aféresis son separadores celulares que basan su funcionamiento básico en la circulación extracorpórea, combinando fuerzas de centrifugación y flujo sanguíneo para separar la fracción deseada basada en las diferentes densidades de cada uno de los componentes sanguíneos. El volumen extracorpóreo que pueden procesar los separadores celulares va a oscilar entre los 150- 450 ml. Dichos separadores, se pueden programar para alcanzar una eficacia óptima (Alves, 2018).

El proceso de aféresis consiste en extraer sangre total a una persona, se separan los diferentes componentes, se recolectan los elementos deseados en sus bolsas de plástico diseñadas para ello y se retorna a la persona, el resto de los componentes sanguíneos que no necesitamos, al torrente circulatorio de la persona.

Con los sistemas de aféresis se obtienen mayores concentraciones de plaquetas que partiendo de la sangre total. Esta técnica suele realizarse en los Centros de Transfusión o Bancos de Sangre, donde estará supervisado tanto el paciente como la técnica por un hematólogo. Toda la manipulación de los dispositivos debe hacerse bajo técnicas de asepsia, siguiendo los protocolos de operación aséptica de cada centro de trabajo, para poder minimizar las posibilidades de contaminación de las fracciones de plasma obtenidas. Se debe utilizar una cabina de flujo laminar adecuada en los procesos de fraccionamiento y activación, ya que disminuye el riesgo de contaminación microbiológica. Los métodos automáticos son más precisos que los manuales, pero incrementan notablemente los costes del proceso. Con respecto a los residuos, éstos deben desecharse según las directivas generales sobre higiene y la normativa legal que regula la eliminación apropiada de material infeccioso.

En el método de obtención de “técnica abierta”, se obtiene una mayor concentración de CP, a partir de volúmenes más pequeños de sangre y con un equipamiento sencillo. En esta técnica, el producto está expuesto al entorno de la zona de trabajo y entra en contacto con diferentes materiales que deben utilizarse para su elaboración, como pipetas o tubos de recolección de la muestra. En este

proceso, se debe garantizar que, durante la manipulación del producto, éste no sufra contaminación alguna (Alves, 2018).

2.3. Indicaciones terapéuticas del concentrado de plaquetas

Las transfusiones plaquetarias son de indicación controvertida. Algunos autores las consideran hasta inútiles en los siguientes casos, si no se está dando tratamiento al origen del problema: situaciones de rápida destrucción plaquetaria como la purpura trombocitopenica autoinmune (PTI/autoinmune) PTI (salvo exista hemorragia mayor), síndrome hemolítico urémico, trombopenia por heparina, síndrome antifosfolipídico, púrpura neonatal isoimmune/aloinmune (para tratar la trombocitopenia grave, se usaría plaquetas negativas para HLA, según las plaquetas de la madre, más aún si se desconoce la especificidad del anticuerpo responsable), púrpura postransfusional (aun sean plaquetas compatibles, el tratamiento óptimo es la combinación de esteroides e inmunoglobulinas endovenosa a altas dosis) e hiperesplenismo.

En la coagulación intravascular diseminada (CID) aguda si está indicado el CP; en caso de CID crónica o en ausencia de sangrado, la transfusión de CP no tiene ningún beneficio.

2.3.1. Transfusión terapéutica de concentrado de plaqueta en adultos

- Hemorragia activa debida a trombocitopenia (recuento menor de 40000 a 50000/mm³). Por falla de la médula ósea, causada por terapia citotóxica o irradiación, como en el caso de leucemias y otras neoplasias.

-Trombocitopenias crónicas. Causadas por insuficiencia de la médula ósea con conteo de plaquetas menor de 50000/mm³ con sangrado activo y recurrente. En caso de hemorragia del sistema nervioso que pone en riesgo la vida, el conteo de plaquetas se debe mantener mayor de 50000/mm³.

-Hemorragia microvascular difusa por trombocitopenias por consumo (CID aguda o crónica). En el caso de CID aguda, la transfusión de plaquetas deberá acompañarse con la transfusión de factores de coagulación. En la CID crónica o en ausencia de sangrado, se dice que las plaquetas no aportarían mayor beneficio.

-Transfusión masiva con sangrado microvascular difuso y conteo de plaquetas menor de $50000/\text{mm}^3$. Esta trombocitopenia dilucional se presenta con transfusiones de más de 1,5 veces el VST del paciente.

-Trombocitopenias por secuestro (hiperesplenismo). Con hemorragia microvascular difusa y conteo de plaquetas menor de $50000/\text{mm}^3$.

-Trombocitopenias inmunes. Solo en pacientes con sangrado activo que ponga en riesgo la vida. Siempre asociado a otro tipo de terapia como corticoesteroides o inmunoglobulina por vía EV.

-Hemorragia microvascular difusa en cirugía cardiotorácica. Pacientes sometidos a cirugía cardíaca con bomba de circulación extracorpórea, o poscirugía cardiopulmonar como baipás, con conteo de plaquetas menor de $100\ 000/\text{mm}^3$. Algunos autores la sostienen independiente del conteo.

-Trasplante hepático. Durante la fase anhepática del acto quirúrgico debe elevarse el conteo de plaquetas de 50000 a $75000/\text{mm}^3$, con conteo a la hora de la transfusión.

-Hemorragia microvascular por disfunción plaquetaria congénita o adquirida. Con o sin prolongación del tiempo de sangría (más de 1,5 veces el valor límite normal) e independiente del conteo plaquetario. Rara vez requiere transfusión plaquetaria profiláctica, a menos de que se trate de procedimientos quirúrgicos.

-Púrpura trombocitopénica idiopática (PTI). Indicada solo en caso de sospecha de hemorragia del SNC. En la púrpura postransfusional, la transfusión de plaquetas es inefectiva.

Estudios realizados sugieren que es muy difícil que el descenso del recuento de plaquetas sea menor de 50 000/mm³ en pacientes con médula normal.

La trombocitopenia dilucional se presenta con transfusiones masivas (más de 1,5 veces el volumen sanguíneo del receptor). En ellos, el conteo de plaquetas debe mantenerse por encima de 50 000/mm³, y la transfusión estaría indicada si existe sangrado microvascular difuso que reúna esas condiciones.

Los pacientes quirúrgicos y obstétricos con sangrado microvascular usualmente requieren transfusión de plaquetas si el conteo es menor de 50 000/mm³.

Las plaquetas obtenidas por aféresis, que son HLA cruzadas o compatibles con el receptor, están indicadas para pacientes que no responden a la transfusión de plaquetas al azar debido a la aloinmunización HLA, también están indicadas para limitar la exposición a múltiples donantes y evitar el problema anterior (Instituto Nacional Materno - Liumbruno, 2012 – Llau, 2010).

2.3.2. Transfusión profiláctica de concentrado de plaquetas en adultos

Las recomendaciones para la transfusión de plaquetas de manera profiláctica están indicadas en pacientes con trombocitopenia, para reducir el riesgo de hemorragia cuando la cuenta de plaquetas es menor de los niveles predefinidos.

Los niveles para transfundir varían de acuerdo al diagnóstico del paciente y a la modalidad del tratamiento (Media, 2019).

En la quimioterapia o la mielosupresión.

Se recomienda considerar la transfusión profiláctica en pacientes estables, con conteos de plaquetas entre 10 000 y 20 000/mm³, asociados con hipoplasia medular, resultante de quimioterapia o irradiación, trasplante de células progenitoras hematopoyéticas y en los trasplantes de órganos sólidos, invasión tumoral o aplasia primaria.

Pacientes con fiebre, infección, hiperleucocitosis con conteo de plaquetas menor de 20 000/mm³ y que tengan otras anormalidades de la coagulación, como en el caso de la leucemia promielocítica aguda.

Pacientes que van a ser sometidos a procedimientos invasivos o cirugía con cuenta de plaquetas menor de 50000/mm³, en el caso de punción lumbar para la aplicación de quimioterapia la cuenta de plaquetas no debe ser menor de 20000/mm³ (Media, 2019 – OMS, 2001).

En los procedimientos invasivos previos a cirugía mayor o en traumatismos graves.

Entre los procedimientos invasivos previos a cirugía mayor están la colocación de catéter central o intraventricular y las endoscopias con toma de biopsia. Es suficiente elevar la cuenta de plaquetas entre 40000 y 50000/mm³; excepto en neurocirugías y cirugía de vista en donde las plaquetas deben estar por encima de 100000/mm³. En general, la transfusión de plaquetas debe efectuarse inmediatamente antes del procedimiento invasivo.

Situaciones especiales

-Púrpura trombocitopénica inmune, en la que, a pesar de haber recibido el tratamiento específico, no se tiene recuperación de la cifra plaquetaria.

-Trombocitopatías hereditarias o adquiridas, independiente de la cifra de plaquetas.

-Disfunción plaquetaria y cirugía inminente.

-Recuento plaquetario menor de 10000/mm³, sin hemorragia ni presencia de factores de hiperconsumo asociados (fiebre, infecciones, hipertensión arterial, drogas, esplenomegalia / hepatopatías, coagulopatías, etc).

-Recuento plaquetario menor de 20000/mm³, con factores de hiperconsumo asociados. En estos casos, se deben seguir las siguientes recomendaciones:

-Los pacientes con trombocitopenia crónica debido a fallas de médula ósea sin sangrados significativos no requieren transfusiones profilácticas.

-Estas se deben reservar para períodos de hemorragias o cuando reciben tratamientos específicos como globulina antilinfocito.

-Los pacientes con falla de médula ósea y factores de hiperconsumo asociados requieren profilaxis siempre y cuando el recuento de plaquetas es menor de 10000/mm³.

En síntesis, según el recuento de plaquetas:

-Mayor de 100000/mm³, por lo general, no requiere CP.

-Menor de 50000/mm³, por lo general, requiere CP.

-De 50000 a 100000/mm³, de acuerdo al riesgo de sangrado del paciente en particular (Media, 2019 – Rodak, 2015).

2.3.3. Contraindicaciones en la administración de CP

En general, la transfusión de plaquetas profiláctica a largo plazo no está indicada.

-Falla crónica de la producción de plaquetas, debida a anemia aplásica o mielodisplasia. Salvo para prevenir la recurrencia de hemorragias en períodos inestables asociados con infección.

-Trombocitopenia inducida por heparina.

-Púrpura trombocitopénica trombótica (PTT).

-Síndrome urémico hemolítico. Excepto si hay sangrado que pone en riesgo la vida del paciente.

-Hemorragia secundaria a trastornos de los factores de la coagulación.

-Purpura trombositopática idiopática autoinmune (PTI) sin sangrado grave (Media, 2019 – Rodak, 2015).

2.3.4. Transfusión de CP en menores de 4 meses de edad

En el período neonatal, y sobre todo en los prematuros, se observan alteraciones del funcionalismo plaquetario y de los factores de coagulación. Esta alteración hace que sea recomendable mantener recuentos plaquetarios superiores a los de los adultos.

Indicaciones de CP en recién nacidos pre término (menores de 37 semanas de edad gestacional).

-Profilácticamente con conteo plaquetario menor de 50 000/mm³ (para algunos autores menor de 30 000/mm³), en paciente estable, sin hemorragia activa, sin problemas cardíacos, vasculares o respiratorios.

-Profilácticamente con conteo plaquetario menor de 100 000/mm³ (para algunos autores menor de 50 000/mm³) en paciente enfermo o inestable, con hemorragia activa o riesgo de ella.

Indicaciones de CP en recién nacidos a término

- De manera profiláctica en conteo plaquetario menor de 20000/mm³, en paciente estable, con alteraciones de la producción.

- De manera profiláctica en conteo plaquetario menor de 30 000/mm³, en paciente enfermo.

-Conteo plaquetario menor de 50 000/mm³ con hemorragia activa o preprocedimiento invasivo o cirugía menor y con fallo de la producción, y en caso de precirugía mayor con conteo de plaquetas menor de 100 000/mm³.

-Recuento plaquetario menor de 100 000/mm³ con hemorragia activa o con fallo de la producción, y con CID u otras alteraciones de la coagulación o en caso de neurocirugía inminente.

-Exanguinotransfusión, si el recuento plaquetario es menor de 50 000/mm³.

- Hemorragia por disfunción plaquetaria, independiente del recuento de plaquetas.
- Cirugía mayor, con hemorragia inesperada e independiente del conteo de plaquetas.

Aspectos destacables de la transfusión de CP en menores de 4 años:

- La transfusión de plaquetas tiene poco valor en los RN de madres con púrpura trombocitopénica inmune, quienes deben recibir al inicio tratamiento con corticosteroides o inmunoglobulinas por vía EV.
- Cuando la trombocitopenia aloinmune con conteo de plaquetas menor de 20 000/mm³ es urgente la corrección con monitorización continua y a falta de respuesta usar IgG a dosis de 1 g/kpc/d, durante 2 días, e investigar posible refractariedad plaquetaria.
- En el neonato se aconseja mantener un recuento plaquetario mayor de 100 000/mm³. Así como, 1 U de CP estándar es más que suficiente para un RN de cualquier peso.
- La trombocitopenia neonatal es muy común en RN enfermos. Los prematuros fácilmente desarrollan CID o consumo de plaquetas, en asociación con asfixia perinatal, síndrome de dificultad respiratoria, sepsis, hemorragia cerebral, enterocolitis necrosante y acidosis.
- El neonato crónicamente enfermo con pobre ingreso calórico y crecimiento puede tener problemas de producción plaquetaria. Idealmente, las plaquetas administradas a neonatos deben ser CMV negativas e irradiadas, cuando la madre es CMV negativa y el neonato pesa menos de 1 200 g (Media, 2019 -Tinmouth, 2003).

2.3.5. Concentrado plaquetario leucorreducido

Las plaquetas leucorreducidas están indicadas en pacientes que esperan múltiples transfusiones de plaquetas durante el curso de su tratamiento, para reducir el riesgo de refractariedad. Asimismo, para prevenir la infección por microorganismos intraleucocitarios (CMV, virus de Epstein-Barr).

No todas las reacciones transfusionales febriles no hemolíticas se previenen con el uso de filtros leucorreductores, ya que estas pueden ser secundarias a las citocinas liberadas por los leucocitos contaminantes en el componente sanguíneo previo a la leucorreducción (ver Reacciones adversas).

Las plaquetas irradiadas tienen las mismas indicaciones terapéuticas que el PG irradiado. La radiación no acorta la vigencia de las plaquetas (Rodak, 2015 – Rodriguez, 2014).

2.3.6. Refratariedad plaquetaria

Se define así al aumento del recuento plaquetario persistente menor de $5\ 000/\text{mm}^3$ por 1 U de CP transfundido ABO compatible, fresco y preferentemente de aféresis, al menos en dos ocasiones consecutivas y en ausencia de factores clínicos concomitantes que causen ineficacia transfusional (factores de hiperconsumo asociados), la misma que deberá ser confirmada por la demostración de anticuerpos contra las plaquetas en el paciente receptor, esta situación se presenta en el 20 % a 70 % de los pacientes politransfundidos.

Se recomienda, si no existe respuesta clínica a la primera transfusión, realizar un conteo de plaquetas una hora después de la segunda transfusión y en caso no existan factores asociados agravantes del paciente, o con la calidad de las plaquetas, se recomienda hacer estudios para descartar aloinmunización en cuyo caso estará indicado el uso de plaquetas HLA compatibles.

Si no se dispone de estas se recomienda el uso de dosis óptimas de CP, así como el uso de otras alternativas como la desmopresina y/o el factor VII activado recombinante; este último caso, aún cuando no se incremente la cifra de plaquetas, es suficiente con que presente mejoría clínica al disminuir el sangrado (ver derivados plasmáticos).

Entre las causas inmunológicas de trombocitopenia se mencionan: presencia de aloanticuerpos por sensibilización plaquetaria, púrpura postransfusional y la púrpura aloinmune neonatal, en este último se transfunden plaquetas maternas las

cuales deben ser irradiadas. Hay varias enfermedades (ej. lupus) que se asocian con autoanticuerpos plaquetarios, pero la más importante de ellas es la púrpura trombocitopénica inmune en niños.

Entre sus causas no inmunológicas se mencionan: los fenómenos de activación endotelial como el síndrome hemolítico urémico, la PTT, la enterocolitis necrosante y los síndromes de coagulopatía de consumo como CID, otras situaciones como hemorragias, fiebre, sepsis, secuestro esplénico (esplenomegalia), trasplante de médula ósea, plaquetas transfundidas viejas, medicamentos (anfotericina B), almacenamiento inadecuado del hemocomponente, PTI.

Se describen como opciones de tratamiento para la refractariedad: transfusión de CP a intervalos menores de 24 horas; plaquetas HLA compatibles de un solo donante; plaquetas cruzadas compatibles; inmunoglobulina intravenosa a 400 mg/kpc/d antes de la transfusión, durante 9 días; transfusión masiva de plaquetas de donantes múltiples (para absorber los anticuerpos), si el paciente tiene un sangrado grave y todas las otras terapias han fallado; considerar y tratar otras condiciones clínicas que favorezcan la refractariedad.

Como medidas preventivas de la refractariedad: transfundir lo mínimo necesario, uso terapéutico y no profiláctico, usar filtros leucorreductores desde la primera transfusión, cuando haya indicación de múltiples transfusiones (rodriguez, 2014 – Tinmouth, 2003).

2.4. Estrategias de control microbiológico para componentes plaquetarios

2.4.1. Mitigación de riesgos a través de la limitación del almacenamiento de plaquetas

La duración del almacenamiento es uno de los factores más críticos que tiene un impacto decisivo en la gravedad de las contaminaciones bacterianas en CP. A diferencia de las contaminaciones virales, las bacterias tienen la capacidad de proliferar. Por lo tanto, los recuentos bacterianos iniciales pueden aumentar enormemente con el tiempo. Esto se ejemplifica con el panel de cepas bacterianas

relevantes para la transfusión de plaquetas que fue establecido por la OMS (38, 39). Las cepas bacterianas de referencia en este panel se originan a partir de incidentes de transfusión notificados y crecen rápidamente en CP. Además, se ha demostrado que algunas de estas cepas, por ejemplo, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens* o *Pseudomonas fluorescens*, pueden crecer desde unas pocas unidades formadoras de colonias bacterianas (UFC) hasta concentraciones superiores a 10^7 UFC/ml en 2 días. En consecuencia, en todo el mundo, la duración general del almacenamiento de PC está limitada a un máximo de 7 días debido a problemas microbiológicos (Dumont, 2010).

Con respecto a la duración del almacenamiento, se aplican especificaciones bastante uniformes en los diferentes países de América y Europa. En general, el tiempo estándar de almacenamiento de las plaquetas suele estar limitado a un máximo de 5 días desde el momento de la donación. La limitación de tiempo se atribuye a la observación ocasional de que, en particular, las plaquetas más viejas tienen un riesgo creciente de transmisión bacteriana (Dumont, 2010 – Funk, 2013). Sin embargo, estos informes se contradicen con publicaciones que cuestionan la estricta correlación entre la transfusión de plaquetas más viejas y la sepsis (Kreuger, 2018 - Flint, 2017). Según Aubron et al. (Aubron, 2018) revelaron que solo 1 de 5 estudios confirmaron la suposición de un mayor riesgo de sepsis por la administración de plaquetas más viejas.

No obstante, el presunto aumento del riesgo de contaminación de CP más antiguos fue decisivo para la introducción de criterios de liberación más estrictos en países como Alemania. En 2008, el German Blood Working Party decidió disminuir la vida útil de las plaquetas de 5 a 4 días debido a una cantidad desproporcionada de plaquetas de 5 días que causan reacciones transfusionales. Para evitar desabastecimiento, se autorizó la extensión de la vida útil al día 5 al implementar la prueba bacteriana como medida de seguridad (Koch-Institut, 2009).

En países europeos con base en los datos de hemovigilancia de 1997 a 2013, se observó una reducción gradual de las infecciones bacterianas transmitidas por

transfusiones debido a la implementación de medidas preventivas como la depleción de leucocitos de los componentes celulares de la sangre y la implementación del muestreo de predonación. Desde 2008, la reducción del tiempo de almacenamiento en el CP condujo a una reducción de los incidentes transfusionales informados en aproximadamente un 50% en comparación con el período anterior a la implementación de esta medida, lo que resultó en un total de 5,3 casos por 10⁶ unidades de plaquetas (Jutzi, 2018).

Por lo tanto, la prevención del 50 % de la tasa de incidencia de la contaminación bacteriana del CP podría representar el beneficio máximo esperado de la reducción del tiempo de almacenamiento de CP a 4 días. y, a pesar de una disminución considerable en las transmisiones bacterianas, el éxito general de esta estrategia podría cuestionarse, ya que no puede garantizar la ausencia de reacciones transfusionales sépticas ni prevenir su mortalidad. En consecuencia, a pesar de su eficacia, cuando se utiliza como medida de prevención independiente, la reducción de la vida útil del CP debe limitarse a menos de 4 días, lo que, sin embargo, tendría un impacto negativo en la disponibilidad del producto.

En Estados Unidos y América Latina y el Caribe según la U.S. Department of Health and Human Services (U.S, 2019), se indica que “cada estrategia incluirá el componente plaquetario aplicable al que se le realizará el control y se detallará el período de caducidad que se deberá aplicar (5-7 días)”.

2.4.2. Detección microbiológica obligatoria mediante métodos basados en cultivos

En contraste con la estrategia de reducción de la vida útil, se sigue un enfoque bastante proactivo en diversos países. En este caso, se recomienda la obligatoriedad de un cribado bacteriano de rutina nacional de todas las preparaciones de plaquetas. En general, se toma una muestra de cada unidad de plaquetas y se inocula en un sistema automatizado basado en botellas de cultivo. Este sistema de cultivo microbiológico permite que las bacterias de muestras de plaquetas contaminadas crezcan en un medio rico a temperaturas permisivas. En Los 2 dispositivos más comunes utilizados son los sistemas de cultivo de sangre

semiautomáticos BacT/ALERT® (bioMérieux) o BacTec (Becton Dickinson). Ambas tecnologías analizan el crecimiento celular mediante la detección de CO₂ como subproducto del metabolismo de las bacterias en el medio. La liberación de CO₂ da lugar a una señal colorimétrica (BacT/Alert) o fluorescente (BacTec), que se controla continuamente. La especificación exacta de los procedimientos de muestreo e incubación difiere según las pautas nacionales y varía entre los diferentes países.

Para la estratificación y el análisis, se distingue 2 enfoques principales basados en el tiempo de muestreo, por ejemplo, "muestreo temprano" definido como el muestreo dentro de las 36 h posteriores a la donación de sangre y "muestreo tardío", cuando el cultivo se inicia después de las 36 horas. En particular, la mayoría de los países con detección obligatoria de CP han implementado el muestreo temprano. Por ejemplo, el tiempo está designado dentro de un rango de 18 a 26 horas para preparaciones de plaquetas agrupadas. Las plaquetas de aféresis se analizan dentro de las 12 horas posteriores a la recolección. En otros países, las plaquetas de aféresis se muestrean 1 día después de la donación (12-24 horas), mientras que las plaquetas combinadas se analizan siguiendo la estrategia de "muestreo tardío", 1 día después de la combinación, que corresponde al día 2 después de la recolección (36-48 h). En países europeos, pueden elegir entre 2 programas de muestreo diferentes. Las muestras se pueden tomar 18 h después de la recolección, lo que limita la duración del almacenamiento a 5 días, o el muestreo se puede realizar ≥ 36 h, lo que permite una vida útil de 7 días. Otros indican que, la prueba se debe realizar 24 h después de la recolección con restricción del tiempo de almacenamiento a 5 días. En Dinamarca, las muestras se toman 1 día después de la donación para aféresis de plaquetas y 1 día después de la donación de sangre completa el día de la combinación con una duración de almacenamiento de 7 días. El fundamento de este muestreo temprano es obtener resultados microbiológicos lo antes posible. Sin embargo, debido a la baja concentración inicial de contaminantes microbianos, la detección de patógenos dentro de las primeras 24 h conlleva el riesgo de errores de muestreo y resultados falsos negativos (Benjamin, 2007).

Según la U.S. Department of Health and Human Services (U.S., 2019) y el CDC de Atlanta (CDC, 2022 – CDC, 2021) en Estados Unidos, América Latina y el Caribe, se aplican Estrategias de dos pasos. Estas estrategias implican la realización de dos pasos sucesivos, los Pasos 1 y 2.

Paso 1. Opción A. Cultivo primario realizado no antes de las 24 horas

Aplica tanto a componentes plaquetarios obtenidos por aféresis, por capa leucoplaquetaria, o por plasma rico en plaquetas, a partir de sangre total, y consiste en:

- i. Un cultivo único con muestreo realizado no antes de 24 horas después de la recolección utilizando un volumen de muestreo de al menos 16 ml, inoculado uniformemente en medios de cultivo aeróbico y anaeróbico.
- ii. Muestreo para cultivo de cada unidad de componente plaquetario obtenidas por aféresis, por capa leucoplaquetaria o plasma rico en plaquetas a partir de sangre total. Si el producto de aféresis se divide, se debe tomar una muestra de cada unidad dividida, si es mezcla de componentes plaquetarios unitarios, se puede probar la mezcla principal total ("bolsa madre").
- iii. Se recomienda un período mínimo de incubación de 12 horas antes de la liberación para transfusión.
- iv. Los productos deberán estar etiquetados con una caducidad de 5 días, si el cultivo es negativo.
- v. Para garantizar que el riesgo de contaminación bacteriana se controla adecuadamente, después del día 3 de almacenamiento, se deben realizar pruebas secundarias en las unidades de componentes plaquetarios.

Paso 1. Opción B. Volumen alto y muestreo demorado no antes de las 36 horas

Esta estrategia se aplica los componentes plaquetarios obtenidas por aféresis, por capa leucoplaquetaria o plasma rico en plaquetas a partir de sangre total, y consiste en:

- i. Un cultivo con muestreo realizado no antes de 36 horas después de la recolección utilizando un volumen de muestreo de al menos 16 ml, inoculado uniformemente en medios de cultivo aeróbico y anaeróbico.
- ii. Muestreo para cultivo de cada unidad de componente plaquetario obtenidas por aféresis o por capa leucoplaquetaria a partir de sangre total. Si el producto de aféresis se divide, se debe tomar una muestra de cada unidad dividida.
- iii. Se recomienda un período mínimo de incubación de 12 horas antes de la liberación para transfusión.
- iv. Los productos deberán estar etiquetados con una caducidad de 5 días, si el cultivo es negativo.

Esta estrategia se sugiere cuando el almacenamiento requiere extenderse más allá de 5 días.

Paso 2. Opción A. Cultivo secundario realizado no antes del día 3

Esta estrategia se aplica los componentes plaquetarios obtenidas por aféresis, por capa leucoplaquetaria o plasma rico en plaquetas a partir de sangre total, y consiste en:

- i. Cultivo realizado no antes del día 3 de almacenamiento, utilizando al menos un volumen de muestreo de 8 ml, inoculado en al menos un medio aeróbico.
- ii. Muestreo para cultivo de cada unidad de componente plaquetario obtenidas por aféresis o por capa leucoplaquetaria a partir de sangre total. Si el producto de aféresis se divide, se debe tomar una muestra de cada unidad dividida.
- iii. Se recomienda un período mínimo de incubación de 16 horas antes de la liberación para transfusión.
- iv. Los productos deberán estar etiquetados con una caducidad de 5 días.
- v. Durante el período de incubación del cultivo secundario, los productos permanecerán disponibles para transfusión, siempre que se hayan desarrollado procedimientos para identificar cuándo se han realizado las pruebas secundarias de cultivo.

Paso 2. Opción B. Cultivo secundario realizado no antes del día 4

Esta estrategia se aplica, si los componentes plaquetarios son obtenidos por aféresis y consiste en:

- i. Un cultivo con muestreo realizado no antes del día 4 después de la recolección utilizando un volumen de muestreo de al menos 16 mL, inoculado uniformemente en medios de cultivo aeróbico y anaeróbico.
- ii. Si el producto de aféresis se divide, se debe tomar una muestra de cada unidad dividida.
- iii. Se recomienda un período mínimo de incubación de 12 horas antes de la liberación para transfusión.
- iv. Los productos deberán estar etiquetados con una caducidad de 7 días.
- v. Durante el período de incubación del cultivo secundario, los productos permanecerán disponibles para transfusión, siempre que se hayan desarrollado procedimientos para identificar cuándo se han realizado las pruebas secundarias de cultivo.

Paso 2. Opción C. Prueba rápida de microorganismos para demostrar contaminación bacteriana realizada en el día 4 de recolección o inmediatamente antes de la transfusión al receptor.

Esta estrategia se aplica los componentes plaquetarios obtenidos por aféresis, por capa leucoplaquetaria o plasma rico en plaquetas a partir de sangre total, y consiste en:

- i. Una prueba rápida de detección de microorganismos realizada de conformidad con las instrucciones del fabricante, que este verificada y validada por el servicio de banco de sangre
- ii. Los productos deberán estar etiquetados con una caducidad de 7 días (U.S. 2019 - CDC, 2022 – CDC, 2021).

2.4.3. Cuarentena del concentrado de plaquetas

Según el resultado de investigaciones, incluso para muestras de plaquetas altamente contaminadas, se necesitan varias horas para obtener un resultado positivo en un proceso de detección basado en cultivos. Por ejemplo, los frascos de cultivo inoculados con muestras de CP con una carga bacteriana de $> 10^8$ UFC/ml de *K. pneumoniae* o *Escherichia coli* aún requieren un mínimo de 4 h para generar una señal de alarma positiva en frascos de cultivo aerobios y anaerobios (Vollmer, 2018).

Investigaciones al respecto, obtuvieron resultados similares con bacterias grampositivas, por ejemplo, *Staphylococcus aureus* o *Bacillus spp.*, con concentraciones $> 10^6$ UFC/ml, lo que resultó en una señal positiva en un tiempo de incubación mínimo de 4 h. Se estima que, el tiempo entre el paso de la inoculación y el resultado de la prueba puede ser crítico si las plaquetas se liberan con un resultado negativo hasta la fecha. Para evitar la transfusión de unidades de plaquetas contaminadas con bacterias, el CP podría ser puesta en cuarentena por un período predefinido. Este enfoque se aplica en el Reino Unido, donde se autoriza un tiempo de espera para CP en combinación con un enfoque de detección basado en el cultivo (Spindler- Raffel, 2017).

Usando una estrategia de prueba única o de 2 pruebas, los CP se suspenden en su transfusión durante 6 o 24 h, respectivamente, después de la inoculación del cultivo hasta que se liberan con un resultado negativo hasta la fecha. La implementación de dichos intervalos de tiempo de cuarentena permite la detección de posibles contaminantes sin el riesgo de que se liberen el CP sobre la base de resultados falsos negativos. En el contexto del enfoque de "muestreo tardío", debe considerarse el uso del principio de cuarentena como medida de seguridad adicional. Dado que el "muestreo tardío" a menudo se realiza después de varios días de almacenamiento, los contaminantes potenciales pueden haberse multiplicado a niveles significativos y potencialmente mortales (Spindler-Raffel, 2017- Thyer,2018).

Algunas investigaciones justifican un período de espera adecuado y eficiente para la prevención de contaminación del CP. Un estudio desarrollado por Vollmer et al. (Vollmer, 2018) para la implementación de un método basado en cultivo para la extensión de la vida útil del CP desde el día 4 hasta el día 5; con tal propósito, se añadieron al CP pocas UFC de varios aislados bacterianos que comprenden especies con baja y alta patogenicidad. Dentro de las primeras 24 h de incubación, se obtuvo una señal positiva en todas las muestras. La reducción del período de prueba a menos de 12 h resultó en la detección de solo el 59 % de las bacterias del grupo de baja patogenicidad, mientras que se logró el 100 % de detección de los aislamientos de alta patogenicidad. La tasa de detección mejoró significativamente a más del 97 % si el tiempo de detección se aumentó a 18 h. También se observaron resultados similares en un entorno de muestreo temprano (24 h después de la donación de sangre) utilizando un enfoque de 2 botellas y un volumen de 7 a 10 ml (Thyer, 2018).

Estos ejemplos demuestran que la liberación del producto directamente después de la toma de muestras puede provocar reacciones transfusionales graves debido a unidades de plaquetas altamente contaminadas, que se pueden prevenir mediante la introducción de un tiempo de espera mediante un enfoque basado en el riesgo. Sin embargo, la cuarentena corta solo confiere prevención de sepsis grave asociada a transfusiones. Es necesario un tiempo de espera más largo para garantizar la identificación de bacterias de crecimiento lento y muestras con un inóculo inicial bajo como requisito previo para la prevención eficaz de las reacciones sépticas clínicas.

2.4.4. Seguridad mejorada del CP a través de un mayor volumen de muestra para la detección de contaminación bacteriana

Una concentración bacteriana baja, particularmente poco después de la donación de sangre, es uno de los principales desafíos para los métodos de detección de bacterias. Los parámetros que se pueden modificar para aumentar la sensibilidad, por ejemplo, la tasa mínima de detección de contaminantes, actualmente son limitados. El volumen de la muestra es un factor que tiene una influencia

significativa en la tasa de detección. El volumen máximo de muestra para ambos métodos de detección de cultivos semiautomáticos (BacTec y BacT/Alert) es de 10 ml por botella de cultivo según las especificaciones del fabricante. En base a este volumen, el límite de detección teórico de estos sistemas sería de 0,1 UFC/ml. Sin embargo, el análisis reveló una menor sensibilidad de los sistemas cuando se aplicaron como sistemas de control de rutina (Rodak, 2005).

Los bancos de sangre y unidades transfusionales de diversos países que han implementado la detección de CP basada en cultivos inoculan diferentes volúmenes por botella. Por ejemplo, en Europa se utiliza un volumen máximo de 10 ml. Se inoculan volúmenes más pequeños en Irlanda y el Reino Unido (8 ml/botella), así como en los Países Bajos (7,5 ml/botella). En América Latina y el Caribe es de 8 ml por frasco (U.S., 2019).

Aunque el efecto general del volumen de la muestra en la tasa de detección es limitado, un extenso análisis de datos reveló un aumento significativo del 57 % para los resultados positivos verdaderos usando 8 frente a 4 ml de volumen de muestra (Rodríguez, 2014). Una alternativa a la inoculación de un volumen fijo se representa mediante el llamado enfoque de volumen de muestra proporcional (SETS, 2019). Según un modelo de Poisson, la inoculación del 3,8 % del volumen total del producto de plaquetas podría mejorar la tasa de detección en comparación con un volumen fijo de 8 a 10 ml (Tinmouth, 2003). La verificación de la hipótesis reveló un aumento del doble en las tasas de verdaderos positivos utilizando la estrategia de volumen de muestra proporcional. Por lo tanto, debe tenerse en cuenta que un volumen de muestra de 10 ml es suficiente para la unidad CP de 200 a 250 ml.

2.4.5. Detección de anaerobios

Los contaminantes potenciales de CP comprenden un amplio espectro de especies que requieren condiciones de crecimiento específicas. Una clasificación de bacterias transmitidas por transfusiones considerando varios factores de riesgo mostró que todos los patógenos relevantes excepto *Clostridium spp.* se puede cultivar en condiciones de cultivo aeróbico (Domanovic, 2017). En Europa, el

cribado de CP mediante una sola botella aeróbica está implantado en Dinamarca. Los bancos de sangre finlandeses realizan pruebas aleatorias de CP con 1 botella aeróbica como control de calidad. Por el contrario, bancos de sangre de Irlanda, Portugal, los Países Bajos y el Reino Unido utilizan una estrategia de 2 botellas que comprende botellas aeróbicas y anaeróbicas. Es concebible que los aislamientos anaeróbicos estrictos como *Clostridium perfringens* o *Cutibacterium acnes* (anteriormente *Propionibacterium acnes*) no crezcan en condiciones aeróbicas. Por lo tanto, una estrategia que utilice ambos tipos de botellas ofrece varias ventajas. En primer lugar, el uso de una botella de cultivo anaeróbico amplía el espectro bacteriano que puede identificarse como una contaminación. Este beneficio ha sido confirmado por varios informes (Dumont, 2010 – Pearce, 2011). Por ejemplo, un estudio de McDonald C, et al. (McDonald, 2017), mostró que el 66 % de todos los resultados positivos confirmados solo se detectaron en frascos de cultivo anaeróbico, mientras que el 8 % fueron positivos en un cultivo aeróbico y el 26 % en ambos tipos de frascos. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que si ambas botellas se retiran tan pronto como una de las dos se marca como positiva, no se sabe si la segunda botella habría dado lugar a una señal positiva después. Los datos de Australia confirmaron un aumento en la seguridad con la estrategia de 2 botellas, ya que varios contaminantes bacterianos solo se detectaron en botellas de cultivo anaeróbico (Thyer, 2018).

En segundo lugar, la inoculación de 2 botellas de cultivo aumenta el volumen de la muestra y, por lo tanto, disminuye el error de muestreo, especialmente cuando se realiza un muestreo temprano. En particular, muchos patógenos bacterianos son anaerobios facultativos y crecen en condiciones aeróbicas y anaeróbicas, entre ellos *S. aureus*, *E. coli* y *Candida albicans*. Además, algunas bacterias, particularmente de la flora entérica, muestran un tiempo de detección incluso más rápido en botellas anaeróbicas en comparación con las condiciones aeróbicas (Thyer, 2018).

Un aspecto negativo relacionado con el cultivo anaeróbico es la tasa relativamente alta de falsas alarmas positivas que conducen a la retirada de PC no contaminado (McDonald, 2017). Además, la relevancia clínica de los patógenos anaerobios como contaminantes en las plaquetas aún está en debate. Por ejemplo, entre el

35% y el 81,8% de los resultados positivos confirmados en botellas anaerobias son causados por aislamientos de *C. acnes* (Thyer, 2018). Pero, hasta donde sabemos, solo hay informes raros sobre infecciones causadas por *C. acnes*, que se centran principalmente en biopelículas en implantes iatrogénicos (Achermann, 2014). Además, los estudios de crecimiento de 10 aislamientos de CP de *C. acnes* en plaquetas mostraron falta de proliferación, lo que indica persistencia o muerte dentro de los 10 días posteriores a la incubación (Störmer, 2008).

Sin embargo, se han informado casos esporádicos de incidentes de transfusión que involucran bacterias anaerobias. En 2017, los Centros para el Control de Enfermedades documentaron dos muertes causadas por el mismo aislamiento de *C. perfringens* (Horth, 2017). La prueba de seguridad de rutina de estas 2 unidades de CP por cultivo aeróbico fue negativa durante todo el período de incubación. Aunque no está claro si un cultivo anaeróbico habría impedido la administración de estos CP, los informes de muertes asociados a transfusiones que involucran a *C. perfringens* resaltarán la necesidad de una estrategia de 2 botellas (Seltsam, 2011), especialmente porque no hay factores de riesgo relacionados con el donante que ayudarían en la identificación de donantes con bacteriemia anaeróbica.

2.4.6. Métodos directos como medidas de seguridad

Además de estos sistemas convencionales, los métodos microbiológicos rápidos (RMM) representan una alternativa prometedora para que los bancos de sangre minimicen el riesgo de contaminación bacteriana del CP. Los RMM comprenden métodos directos como la citometría de flujo, la amplificación de ácidos nucleicos o la detección de compuestos bacterianos, por ejemplo, lipopolisacáridos o peptidoglicanos. Particularmente cuando se aplica poco antes de la administración, RMM podría identificar CP contaminadas que fueron aprobadas durante el procedimiento de muestreo inicial. Varios sistemas están disponibles en el mercado con diferentes sensibilidades analíticas dependiendo del principio de detección. Störmer y Vollmer (Störmer, 2014) proporcionan una descripción general de los métodos disponibles y sus principios de prueba. Con respecto al

parámetro de tiempo hasta el resultado, los RMM son superiores en comparación con los métodos basados en cultivos. Según el método, los resultados se obtienen en unos pocos minutos u horas, lo que permite tomar una decisión de liberación rápida. Sin embargo, en la práctica, los bancos de sangre, unidades transfusionales o los médicos rara vez utilizan RMM como pruebas de liberación final. Esto podría deberse a varios inconvenientes de estos sistemas, como la baja sensibilidad, los altos costos y el mayor tiempo de manipulación que genera desafíos logísticos.

En Europa, la aplicación rutinaria de RMM como medida de seguridad hasta ahora solo se ha realizado en Alemania, donde las unidades transfusionales se implementa esta actividad para extender la vida útil de las plaquetas de 4 a 5 días (Sireis, 2011). En Estados Unidos y América Latina los procedimientos de pruebas rápidas están en sus protocolos, pero se desconoce su aplicación (U.S, 2019 – CDC, 2022 – CDC, 2021).

El sistema BactiFlow (Biomerieux) basado en citometría de flujo es el más utilizado por los bancos de sangres alemanes, aunque la tecnología basada en la amplificación de ácidos nucleicos también está aprobada. Debido a una ventana de tiempo relativamente corta hasta el resultado, las plaquetas analizadas por este enfoque se pueden administrar sin ponerlas en espera. Sin embargo, la implementación de RMM no resultará en una eliminación completa de las transmisiones bacterianas asociadas a transfusiones debido a la sensibilidad relativamente baja de estos métodos. No se detectarán muestras con recuentos bacterianos bajos. Sin embargo, cuando se aplica directamente antes de la transfusión, se pueden prevenir incidentes fatales causados por unidades de plaquetas altamente contaminadas. Teniendo en cuenta la replicación potencial de los patógenos del CP, los resultados de RMM generalmente son válidos por no más de 24 h. Posteriormente, la cantidad de microorganismos contaminantes puede aumentar drásticamente, lo que devalúa los resultados anteriores para las bacterias de rápido crecimiento (Dreier, 2009).

2.4.7. Resultados falsos negativos

La detección de plaquetas utilizando sistemas de cultivo semiautomáticos es una herramienta valiosa para aumentar la seguridad del paciente, que se destaca en varios estudios sobre la eficacia del método. Sin embargo, los resultados positivos se ven eclipsados repetidamente por las muertes relacionadas con transfusiones informadas y los incidentes de transfusiones con CP falsos negativos. Esto indica la existencia de un margen de seguridad a pesar de la implementación de las medidas mencionadas. La transmisión bacteriana de *S. aureus* fueron reportadas por el Servicio de Transfusión de Sangre de Irlanda del Norte a pesar del uso de un sistema de cultivo semiautomatizado (Abela, 2018).

Análisis posteriores sugirieron que la formación de biopelículas podría haber sido responsable del resultado falso negativo en las respectivas botellas de cultivo. Debido a la adhesión de las células bacterianas a la superficie interna de las bolsas de plaquetas, es muy probable que se produzca un error de muestreo (Greco, 2007). Se informan hallazgos similares para aislamientos de *S. aureus*, que escaparon del proceso de selección a pesar del muestreo tardío (McDonald, 2017). Con este fin, *S. aureus* puede formar agregados por interacción directa con las plaquetas (Fitzgerald, 2004). Esta agregación podría aumentar el error de muestreo debido a una distribución desigual de las células bacterianas en la bolsa de plaquetas.

Si bien los sistemas semiautomáticos de detección de bacterias brindan un beneficio en cuanto a la seguridad, se debe enfatizar que una inspección visual clásica del CP aún debe ser parte del control de calidad de rutina en todas las etapas de la cadena de entrega. En muchos casos, la transfusión de CP contaminada con microorganismos se impidió debido a anomalías visuales, por ejemplo, formación de coágulos, falta de remolino o cambio de color (Abela, 2018 – Loza-Correa, 2017).

2.4.8. Inspección visual de los CP

Los concentrados plaquetarios se deben someter a inspección visual antes de ser designados para transfusión. Hay bacterias que causan cambios visibles en los

concentrados plaquetarios incluyendo: producción de gas, formación de agregados floculentos y agregados tipo bola de algodón (U.S, 2019 – CDC, 2022 – CDC, 2021).

2.4.9. Eliminación de contaminaciones bacterianas utilizando técnicas de reducción de patógenos

El cribado bacteriano del CP mediante sistemas de cultivo automatizados, ya que cualquier método de cribado está limitado por la sensibilidad y la especificidad, es decir, por resultados falsos negativos o falsos positivos (Thyer, 2018), lo que conduce a la transfusión de CP contaminados o al descarte de CP microbiológicamente seguros, respectivamente (Ramirez-Arcos, 2017). Por lo tanto, vale la pena mencionar las tecnologías de reducción de patógenos (PR) como una herramienta para prevenir infecciones sépticas relacionadas con transfusiones. Aquí, la principal ventaja es el agotamiento simultáneo de patógenos potenciales, incluidas bacterias, muchos virus y parásitos. Dos sistemas, el Intercept Blood System (Cerus Corp., Concord, CA, EE. UU.) y Mirasol (Terumo BCT Inc., Lakewood, CO, EE. UU.) están actualmente en el mercado. Estos sistemas recibieron la aprobación de la marca para el tratamiento de plaquetas. El mecanismo general de los 3 sistemas se basa en un daño irreversible al ADN bacteriano que impide la replicación del ácido nucleico (Marschner, 2011 – Seltsam, 2011).

Varios países implementaron tratamiento PR para el CP. En Bélgica, la PR se realiza para todas las unidades de plaquetas y es obligatoria desde el 28 de junio de 2009. Junto con la implementación de la PR, la vida útil de las plaquetas se redujo de 7 a 5 días debido a preocupaciones sobre la eficacia plaquetaria. Una situación similar se encuentra en Suiza, donde el sistema Intercept se introdujo el 2011. Recientemente, Jutzi et al. (Jutzi, 2018) evaluaron la implementación de la RP comparando el número de reacciones adversas notificadas relacionadas con el CP tradicional y el tratado con RP. Antes de la implementación de PR, se informaron de 2 a 4 reacciones sépticas por año o 125 reacciones adversas por millón de unidades de plaquetas. Este número disminuyó a 0 directamente

después de la introducción de PR, lo que indica la ausencia de infecciones bacterianas transmitidas por transfusiones desde entonces. Después de una fase de prueba regional de 5 años en Francia, la implementación de PR comenzó en 2017 (Cazenave, 2011).

Similar a los métodos basados en el crecimiento, el tiempo es un parámetro crítico para la implementación exitosa de PR. Las bacterias de rápido crecimiento pueden alcanzar una alta carga bacteriana en poco tiempo, superando así la capacidad de reducción de los sistemas PR. En el peor de los casos, una sola célula bacteriana que sobrevivió al tratamiento podría ser la causa de una transfusión letal de CP. Incluso si se lograra una eliminación exitosa de todas las bacterias, los componentes pirógenos restantes de la pared celular de las bacterias gramnegativas en especial el lipopolisacárido o las exotoxinas pueden constituir una amenaza para los receptores. Por ejemplo, un tratamiento de PR después de las 30 horas de obtención de CP en 15 CP resultó en 1 CP positivo el día 5, mientras que un tratamiento anterior a las 24 horas después de la inoculación resultó en un 100 % de CP con cultivo negativo (Wagner, 2016). Se obtuvieron resultados similares cuando los componentes sanguíneos se inocularon con concentraciones más altas (100–1000 CFU/bolsa) de cepas de referencia relevantes para transfusiones. Aquí, se informan contaminaciones ocasionales después de un procedimiento de reducción debido a cargas bacterianas $> 10^6$ CFU/ml (Schmidt, 2015).

Otro desafío lo presenta la formación de biopelículas por determinados grupos de microorganismos, que muestran una mayor resistencia al tratamiento con PR (Irsch, 2011- Taha, 2017). En contraste con el cultivo bacteriano tardío preferido, por lo tanto, es importante tratar el CP con PR lo antes posible para evitar altas cargas bacterianas. Las plaquetas tratadas con PR producidas por los bancos de sangre deben seguir las especificaciones e instrucciones proporcionadas por los respectivos fabricantes para garantizar la eficacia y la seguridad. En conjunto, el uso de métodos PR requiere el establecimiento de un procedimiento completo de garantía de calidad que incluya pruebas complementarias.

2.4.10. Identificación de falsos positivos y verdaderos positivos (U.S, 2019- CDC, 2022 – CDC,2021).

Para la interpretación de los resultados e identificación se recomiendan las siguientes definiciones de resultados de pruebas de detección:

a. Un resultado denominado “falso positivo” hace referencia a los casos en que durante el periodo de incubación se obtiene una señal reactiva para una botella de cultivo, pero no se detectan bacterias en el subcultivo. Se han descrito diversas condiciones que pueden ocasionar la presencia de falsos positivos, dentro de las cuales se encuentran la presencia de leucocitos y la contaminación del medio de cultivo desde antes de su uso.

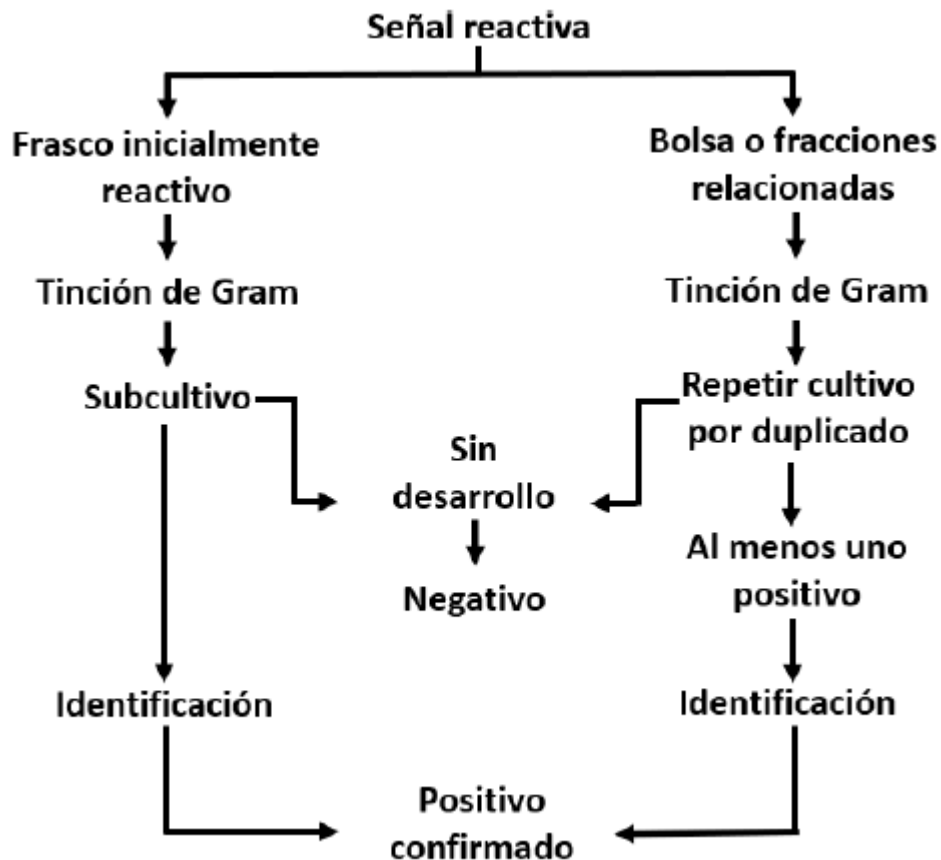
b. Los resultados definidos como “verdadero positivo” son las pruebas en las que el microorganismo aislado en las pruebas iniciales y de repetición son de la misma especie.

c. Un caso “reactivo inicial” hace referencia a las botellas de cultivo que emiten señales de crecimiento en las pruebas iniciales de detección. Un caso “Verdadero positivo” hace referencia a aquellos eventos en los que los frascos de cultivo resulten positivos de la prueba de repetición realizada a de la unidad de componente plaquetario original de la cual se aislaron las bacterias.

d. Resultado “indeterminado”: Frascos en los que las bacterias sólo fueron detectadas en la prueba inicial o repetida, pero no en ambas, o aquellas en que las bacterias detectadas en las pruebas iniciales o de repetición que no corresponde a la misma especie.

El siguiente algoritmo para establecer la presencia de verdaderos positivos y descartar los falsos negativos se considera óptimo como estrategia de control microbiológico de componentes plaquetarios de uno o dos pasos utilizando sistemas automatizados de detección microbiana. En ambos casos se requiere el uso de una muestra mínima de 16 mL divididos para cultivo aeróbico y

anaeróbico. El tiempo para la toma de muestras y de incubación antes de la liberación para su uso, así como la vigencia de los componentes plaquetarios deberá ser asignado de acuerdo con la estrategia utilizada.



2.4.11. Criterios de definición de sepsis por transfusión de CP contaminados con bacterias (U.S, 2019- CDC, 2022 – CDC,2021).

Presencia de fiebre definida como temperatura mayor o igual a 38 °C con un aumento de 1°C del valor medido antes de la transfusión, mas la presencia de alguno de los siguientes signos y síntomas:

- a) Rubor.
- b) Hipotensión.
- c) Estado de choque: inestabilidad hemodinámica que no responde a reanimación con líquidos y que requiere aminas vasoactivas.

- d) Taquicardia (aumento de ≥ 40 latidos por minuto del valor previo a la transfusión, dentro de las primeras 4 horas posteriores a la transfusión o frecuencia cardiaca de más de 100 latidos por minuto.
- e) Disnea.
- f) Náusea o vomito.
- g) Lactato sérico elevado ≥ 4 mmol / L.

Cualquier cambio en el estado clínico del paciente que lleve a una sospecha de sepsis, incluso en ausencia de fiebre u otros signos y síntomas asociados a sepsis, ya que la fiebre puede no ocurrir en pacientes premedicados antes de la transfusión con antipiréticos y antihistamínicos.

2.4.11.1. Acciones inmediatas ante transfusión séptica.

El reconocimiento rápido de la sepsis y el inicio del apoyo clínico son de importancia crítica para la supervivencia del paciente. Las reacciones sépticas deben tratarse de forma agresiva. Si se sospecha sepsis y/o alguno de los criterios anteriores se cumple es necesario:

- a) Detener la transfusión inmediatamente.
- b) Proporcionar fluidos, soporte farmacológico para la presión arterial y soporte para la insuficiencia orgánica, después de la valoración médica y en caso de ser necesario.
- c) Notifique al servicio de transfusión y devuelva los recipientes del producto sanguíneo siguiendo los protocolos de su institución.
- d) Inmediatamente obtenga muestras de sangre periférica del paciente para el hemocultivo, preferiblemente para cultivo de microorganismo aeróbicos y anaeróbicos, independientemente de si el paciente ya está recibiendo terapia con antibióticos. Manejo por laboratorio del servicio de transfusión.

3. ANTECEDENTES

3.1. Antecedentes internacionales

Perez P, et al. 2001, en una investigación titulada “Determinantes de la contaminación bacteriana asociada a transfusiones (TABC)”, encontró que: “De los 158 casos de sospecha de TABC informados, se incluyeron 41 que involucraron transfusión con 25 glóbulos rojos y 16 concentrados de plaquetas. Los bacilos gramnegativos representaron casi la mitad de las especies de bacterias involucradas y las seis muertes. En comparación con el riesgo de TABC para los pacientes que recibieron glóbulos rojos para la anemia, el riesgo fue mayor para los pacientes que recibieron glóbulos rojos para la pancitopenia (OR, 7,3; IC del 95 %, 1,3-41,0) y para los que recibieron plaquetas para la trombocitopenia (OR, 5,3; 95 % IC, 1,2-24,1). Otros determinantes potenciales fueron la transfusión de plaquetas para pancitopenia (OR, 4,5; IC 95 %, 0,5-40,0), tratamiento inmunosupresor (OR, 2,8; IC 95 %, 0,7-10,6), vida útil de más de 1 día para las plaquetas u 8 días para glóbulos rojos (OR, 2,6; IC del 95 %, 0,7-9,6), y más de 20 donaciones previas de donantes (OR, 1,9; IC del 95 %, 0,7-5,3)”.

Kuehnert MJ, et al. 2001, en un estudio que involucró las infecciones bacterianas transmitidas por transfusiones en los Estados Unidos, de 1998 a 2000 indica que: “Hubo 34 casos y 9 muertes. La tasa de bacteriemia transmitida por transfusión (en eventos/millones de unidades) fue de 9,98 para plaquetas de un solo donante, 10,64 para plaquetas agrupadas y 0,21 para unidades de glóbulos rojos; para las reacciones mortales, las tasas fueron 1,94, 2,22 y 0,13, respectivamente. Los pacientes con mayor riesgo de muerte recibieron componentes que contenían organismos gramnegativos (OR, 7,5; IC del 95 %, 1,3-64,2; p = 0,009)”.

Morel P, et al. 2000, en Francia investigó la asociación entre transfusión de sangre y riesgo bacteriano, indica que: “Hubo 18 muertes notificadas a través de la red francesa de hemovigilancia en los últimos 5 años, los riesgos bacterianos representan una de las principales complicaciones inmediatas de la transfusión de componentes sanguíneos (BC). La contaminación por BC puede dar lugar a TRBC más o menos graves, dependiendo de su origen: crecimiento bacteriano, el

propio BC o un origen desconocido. Aunque se conoce la tasa de contaminación de sangre donada o BC (0,5% y 0,05%, respectivamente), todavía es difícil evaluar la incidencia real de los TRBC, ya que es difícil identificarlos y relacionarlos con la transfusión. Asimismo, se requiere un mejor conocimiento de las bacterias, los síntomas y el resultado para mejorar los métodos de prevención. Una mejor prevención puede reducir la contaminación de BC y la proliferación de bacterias en cada etapa de la transfusión de sangre. Aún se están investigando métodos para detectar la contaminación por BC. A través de la educación continua de los actores de hemovigilancia en la identificación y manejo de TRBC, así como la elaboración de procedimientos para realizar consultas y análisis bacterianos específicos, se puede mejorar aún más la notificación de casos para lograr una prevención más eficiente”.

En una investigación de “Contaminación bacteriana de componentes sanguíneos”, Seghatchian J, en el año 2001 concluyó que: “A pesar de los considerables avances en la seguridad de los componentes sanguíneos, la infección bacteriana asociada a la transfusión (TABI) sigue siendo un problema sin resolver. Hasta el momento no existen metodologías perfectas de prevención, detección y/o detección para eliminar las unidades contaminadas. Hasta que esté disponible una prueba práctica, rápida, rentable y logísticamente aceptable, debemos estar satisfechos con la elección de varias soluciones limitadas que mejoren, al menos parcialmente, la seguridad bacteriana de los componentes sanguíneos. También es necesario establecer guías estandarizadas y procedimientos sistemáticos consensuados para el reconocimiento y reporte de la evaluación clínica y de laboratorio de reacciones adversas en receptores de componentes sanguíneos contaminados”.

Palavecino E, et al. 2010, investigaron la contaminación bacteriana de plaquetas y los métodos de control, concluyeron lo siguiente: “La contaminación bacteriana de los productos de plaquetas, tanto las unidades de plaquetas de aféresis de un solo donante como las reservas de plaquetas derivadas de sangre completa, continúa ocurriendo a pesar de las medidas preventivas. Si bien se han logrado algunos avances en la disminución de la tasa de contaminación bacteriana de las

unidades de plaquetas, particularmente a través de métodos de desviación y cultivo temprano, aún queda mucho por hacer para eliminar el problema. Los métodos de desviación han disminuido las tasas de contaminación asociadas con los organismos comensales de la piel. Los métodos de cultivo ahora se utilizan ampliamente y se han desarrollado o se están desarrollando muchos métodos de detección en cuestión. Este artículo revisa los desarrollos actuales y los desafíos que quedan para minimizar y detectar la contaminación bacteriana de los productos de plaquetas”.

Benjamin RJ, et al. 2008, en Estados Unidos, investigo la contaminación bacteriana de plaquetas derivadas de sangre total obteniendo los siguientes resultados: “antes de implementar los PSP (enero de 2003 a diciembre de 2006), distribuimos 2 535 043 unidades de WBP y recibimos 20 informes de reacciones sépticas, incluidas 2 muertes (7,9 por millón [1:126 752] reacciones y 0,79 por millón [1:1 267 522] muertes). En octubre de 2006, los PSP se implementaron de manera efectiva con una tasa de éxito en la calificación del producto del 99,6 % y un rendimiento medio de $4,0 \times 10^{11}$ plaquetas (PLT) por grupo. Durante la prueba operativa se introdujeron equipos de extracción de sangre completa con tecnología de desvío de muestras y se redujo la tasa de cultivo bacteriano positivo confirmado de PSP de 2111 (1:474) a 965 (1:1036) por millón (odds ratio, 0,46; 95 % intervalo de confianza, 0,22-0,95). No se informaron reacciones sépticas a las PSP (25,936 unidades de PSP distribuidas)”. Concluyeron que “la desviación de muestras y el cultivo bacteriano son métodos efectivos para reducir el riesgo bacteriano con la transfusión de hemoderivados plaquetarios.

Según una investigación de “Experiencia canadiense con detección de contaminación bacteriana en plaquetas de aféresis”, Ramírez-Arcos S, et al. 2007, obtuvieron los siguientes resultados: “Durante los estudios de validación, se detectaron todas las bacterias en todas las concentraciones y volúmenes probados. Tras la implementación de la detección bacteriana, el porcentaje de muestras positivas iniciales en CBS y HQ fue de 0,09 y 0,07 por ciento, respectivamente. La tasa de cultivos indeterminados fue significativamente mayor en CBS que en HQ, mientras que las tasas de resultados verdaderos positivos, falsos positivos y

falsos negativos no difirieron significativamente. Se detectaron seis cultivos positivos confirmados, incluidos tres estafilococos coagulasa negativos y tres especies de Enterobacteriaceae, y no se transfundieron unidades de PLT contaminadas con estas bacterias. La tasa de cultivos positivos verdaderos fue significativamente menor que la informada por otros operadores de sangre. Desafortunadamente, la detección fallida de dos unidades contaminadas resultó en reacciones transfusionales sépticas”. Concluyeron en lo siguiente: “El cribado bacteriano de las PLT por aféresis en Canadá se implementó con éxito y se evitó la transfusión de unidades contaminadas. Sin embargo, los sistemas de detección bacteriana rápida que podrían usarse antes de la transfusión pueden reducir aún más el riesgo de reacciones transfusionales”.

En un estudio desarrollado por Kleinman SH, et al. 2006, registró los siguientes resultados: “La tasa de detecciones positivas verdaderas del cultivo de 122 971 PLT de aféresis fue del 0,017 % (intervalo de confianza [IC] del 95 %, 0,011 %-0,026 %). Todos los microorganismos positivos verdaderos fueron Grampositivos con predominio de especies de Staphylococcus y Bacillus coagulasa-negativas. Veinte de las 21 muestras positivas verdaderas (95 %) se detectaron a las 24 horas, pero solo 14 (68 %) se detectaron a las 18 horas. La tasa de falsos positivos debido a la contaminación fue del 0,1 por ciento y la mayoría de los aislamientos fueron de la piel o de organismos ambientales. Los resultados no difirieron significativamente entre las PLT derivadas de sangre total y las de aféresis”. Concluyeron indicando que: “Estos datos corroboran el hecho de que la tasa de detección de productos de aféresis de PLT realmente contaminados en los Estados Unidos es de aproximadamente 1 en 5000 (0,02 %); esto es más bajo que las tasas de 0,03 a 0,05 por ciento que generalmente se citan en la literatura antes de la implementación de los programas de cultivo bacteriano prospectivo.

Una investigación desarrollada por Fuller AK, et al. 2009, indica que: “Desde el 1 de marzo de 2004 hasta el 31 de agosto de 2007, hubo 49 625 transfusiones de SDP con 1096 reacciones transfusionales informadas. Solo una reacción detectó el mismo organismo en dos de tres sitios, cumpliendo con nuestros criterios para un SPTR. La tasa de SPTR en SDP se identificó como 1 en 49 625 (2,0 por 100 000;

IC del 95 %, 0,05-11,2 por 100 000). Esto representa una reducción del 69,7% en la incidencia de SPTR ($p = 0,41$). Concluyen que: “Con la implementación de las pruebas bacterianas, se observó una disminución en la tasa de SPTR a SDP de 6,6 por 100 000 a 2,0 por 100 000 transfusiones. Aunque no son significativos, estos hallazgos sugieren una tendencia”.

Según Ness P, et al. 2001 se indica que “Las plaquetas de un solo donante reducen el riesgo de reacciones transfusionales de plaquetas sépticas”; sus resultados refieren lo siguiente: “En 12 años, el uso de SDP aumentó del 51,7 % al 99,4 % de todas las transfusiones de plaquetas en una institución. Los SPTR cayeron de tres eventos en 1 año a la tasa actual de un evento por año. La incidencia de SPTR disminuyó de 1 en 4.818 transfusiones a 1 en 15.098 transfusiones. La tasa de SPTR debido a PC fue 5,39 veces mayor que la de SPTR debido a SDP (IC del 95%, 1,89, 12,9). Concluyen que: “El uso de SDP es un medio simple de reducir los SPTR. Se requerirán otras medidas, como la esterilización, para eliminar todos los SPTR”.

Un estudio titulado “Reacciones sépticas a transfusiones de plaquetas. Un problema persistente” desarrollado por Morrow JF, et al. 1991 indica que: “Se observaron siete casos de sepsis asociada a transfusiones. Los productos de plaquetas de múltiples donantes almacenados durante 5 días dieron como resultado una incidencia de sepsis cinco veces mayor que los almacenados durante 4 días o menos (P inferior a 0,01). La investigación indica que lo más probable es que la contaminación haya ocurrido en el momento de la extracción de sangre. Clínicamente, las reacciones sépticas se asociaron con mayores elevaciones de temperatura (aumento promedio, 2,0 grados C) que las reacciones febriles a productos estériles”. Concluyen indicando que:” La contaminación de los concentrados de plaquetas sigue siendo un problema clínico importante. Los episodios sépticos pueden reducirse mediante la transfusión de plaquetas con intervalos de almacenamiento más cortos”.

En un estudio de “Contaminación bacteriana de concentrados de plaquetas: incidencia, importancia y prevención”, Blajchman MA, et al. 2001, se indica que:

“Las reacciones transfusionales graves asociadas con bacterias y/o sus productos, durante o después de una transfusión de sangre, fueron una de las primeras complicaciones reconocidas de las transfusiones de sangre alogénica. Por lo tanto, la contaminación bacteriana de los productos sanguíneos ha sido un problema durante muchas décadas y, en la actualidad, es probablemente la causa microbiológica más común de morbilidad y mortalidad asociadas a las transfusiones. La sepsis relacionada con transfusiones debida a concentrados de plaquetas contaminados parece ser mucho más común que la debida a glóbulos rojos contaminados. La incidencia global de hemoderivados celulares contaminados es de aproximadamente 1 en 3.000. Sin embargo, la transfusión a un receptor de una unidad de plaquetas contaminadas puede no estar necesariamente asociada con una morbilidad clínicamente aparente, porque la mayoría de las unidades de plaquetas contaminadas contienen relativamente pocos organismos. En una minoría de casos, las unidades contaminadas contienen una gran cantidad de bacterias potencialmente virulentas, así como endotoxinas, y su transfusión a menudo se asocia con una morbilidad y mortalidad significativas en el receptor. La incidencia de episodios sépticos graves no se ha establecido claramente, pero es probable que sea del orden de 1 por cada 50 000 unidades de plaquetas transfundidas. Con una mayor conciencia en los últimos años de la posibilidad de que puedan ocurrir episodios sépticos asociados a la transfusión de plaquetas, se han propuesto una variedad de medidas, y en algunos casos implementadas, para tratar de prevenir y controlar este riesgo de transfusión”.

Por su parte, Corash L, et al. 2011, indica que “Con base en estudios recientes con métodos de cultivo óptimos de CP caducados, se estima que la prevalencia de contaminación bacteriana ocurre en aproximadamente uno en 750 a uno en 1000 CP. Solo en los últimos años se ha caracterizado ampliamente la magnitud de los riesgos y el rango de resultados clínicos asociados con la contaminación bacteriana. A pesar de un mayor reconocimiento de la contaminación bacteriana de la PC, la sepsis relacionada con la transfusión se informa con poca frecuencia. Esto se ha atribuido en gran medida a los sistemas pasivos de notificación y a los bajos niveles de conciencia clínica sobre la sepsis relacionada con transfusiones por parte de los médicos de atención primaria. El riesgo de transfusión de PC

contaminado generalmente se ha caracterizado por componente. Es importante destacar que, debido a que los pacientes requieren transfusiones repetidas de PC durante un período de trombocitopenia dependiente de la transfusión, es apropiado expresar el riesgo de recibir un PC contaminado en función de la exposición del paciente. Suponiendo que el paciente de oncología hematológica promedio puede recibir siete PC durante un período de soporte de 28 días, el riesgo de exposición a un PC contaminado está en el rango de uno en 150 por paciente. Este nivel de riesgo no sería aceptable para otros medicamentos intravenosos. Con una mayor apreciación del riesgo de contaminación bacteriana, se desarrollaron métodos para limitar el riesgo de bacteriemia transmitida por transfusión. Este artículo se centra en aquellas intervenciones que se han implementado en la práctica habitual. Los métodos más importantes empleados para mitigar el riesgo son la desinfección mejorada de la piel, el desvío inicial de la extracción de sangre, la detección bacteriana y la inactivación/reducción de patógenos. Estas tecnologías se están utilizando cada vez más en la práctica clínica de la medicina transfusional. Con un mayor uso, se están generando datos adicionales para caracterizar más completamente los efectos de estas intervenciones. La desinfección mejorada, la desviación de sangre y la detección bacteriana han disminuido, pero no resuelto, el riesgo de contaminación bacteriana. La inactivación/reducción de patógenos ofrece el potencial para una disminución sustancial adicional del riesgo de transfusión de PC contaminado con bacterias”.

Brecher ME, et al. 2004, en una investigación bibliográfica indica que: “La contaminación bacteriana de las plaquetas En los países desarrollados, la contaminación bacteriana de las plaquetas transmitida por transfusiones es la causa más común de muertes relacionadas con enfermedades transmitidas por transfusiones. Las plaquetas, para mantener la viabilidad y la función, deben almacenarse a temperatura ambiente (20 grados-24 grados C), lo que crea un entorno de crecimiento excelente para la proliferación de bacterias. Múltiples estudios han demostrado que 1:1000 a 1:2000 unidades de plaquetas están contaminadas con bacterias. Se estima que el riesgo de una muerte relacionada con bacterias después de una transfusión de una unidad de plaquetas varía de

1:7500 a 1:100,000. El uso de detección bacteriana para minimizar el riesgo de sepsis bacteriana relacionada con transfusiones está ganando aceptación en todo el mundo. La implementación de métodos de detección bacteriana mejoraría la seguridad para los pacientes, daría como resultado una extensión de la vida útil de las plaquetas y reduciría la caducidad de las plaquetas, lo que sería una intervención de seguridad que ahorra costos”.

Murphy WG, et al. 2008, realizaron una investigación para la detección de contaminación bacteriana en concentrados de plaquetas vigentes y caducadas; indican que: “De 43.230 unidades de plaquetas analizadas, 35 (0,08%) fueron positivas; de 8282 caducados sin usar, 18 (0,22%) fueron positivos; y de 3310 reevaluaciones del día 4, cuatro (0,12%) fueron positivas. La sensibilidad general de la prueba de detección inicial fue del 29,2 % (intervalo de confianza del 95 %: 19,4 a 39,1 %). Se habría esperado que trece de las 35 pruebas de detección positivas crecieran tanto en botellas aeróbicas como anaeróbicas; ocho crecieron solo en cultivo aeróbico y cinco crecieron solo en cultivo anaeróbico, lo que indica que el número probable de bacterias en las unidades de plaquetas contaminadas en el momento del muestreo era inferior a 60 unidades formadoras de colonias por unidad de plaquetas. Esta investigación concluye lo siguiente: “La detección de concentrados de plaquetas en busca de contaminación bacteriana usando el método más sensible disponible tiene una sensibilidad de menos del 40% debido al bajo número de bacterias en la contaminación inicial. La resolución efectiva de este problema requerirá una inactivación de patógenos”.

3.2. Antecedentes nacionales

Michel A. 2021, desarrollo una investigación titulada “Conocimientos del profesional de enfermería en el procedimiento de administración de hemocomponentes en la unidad de terapia intensiva del hospital municipal la merced en el tercer trimestre de la gestión 2019”. Sus resultados indican que: “En un segundo periodo se aplicó un instrumento de recolección de datos al profesional de enfermería en total de 12 de los turnos mañana, tarde y noche; tras la aplicación de la Escala de Likert se valoró los conocimientos del personal sobre la administración de Hemocomponentes y se puede observar en un 54% si tienen

conocimientos antes de la administración de Hemocomponentes, el 47 % durante la administración y el 30% posterior a la transfusión. Finalmente se determinó que no tienen conocimientos un 57% en la administración de Hemocomponentes antes, durante y después de la transfusión”.

Mamani Q. 2019, efectuó una investigación titulada: “Conocimiento sobre transfusiones de sangre y hemocomponente por el personal de enfermería en la Unidad de Cuidados Intensivos Adultos del Hospital del Norte de El Alto en el tercer trimestre de la gestión 2019”. Sus resultados indican que: “Los resultados más sobresalientes muestran que el 50% tenían entre 36 a 45 años, el 50% alcanzó una Especialidad, el 36% tenía una experiencia de 1 a 3 años y otro grupo igual de 3 a 5 años, el 50% recibió capacitación hace más de 1 año y el 57% dijo que no existen protocolos en el servicio. Respecto al conocimiento se identificó que no conocen algunos aspectos importantes sobre la transfusión de sangre y sus hemocomponentes, las falencias más significativas son el tiempo de transfusión del paquete globular con un 79%, el 64% no respondió correctamente sobre el tiempo de transfusión del plasma fresco congelado, el 43% no respondió correctamente sobre el tiempo de transfusión concentrado de plaquetas, el 43% desconoce que debe lavarse las manos y usar guantes para la realización de este procedimiento. Por ello se concluye que existen falencias y diversos criterios en la transfusión de sangre y hemocomponentes”.

Rosario R, et al. 2011, realizaron una investigación con el objetivo de analizar los conocimientos de médicos generales y especialistas de la Caja Nacional de Salud, sobre indicaciones, beneficios y riesgos de las transfusiones sanguíneas y de hemocomponentes antes de la implementación del nuevo formulario de solicitud de transfusión de sangre y/o hemocomponentes del Programa Nacional de Sangre y de la Caja Nacional de Salud. Sus resultados indican que: “El 90.8% de los profesionales esperaron encontrar mejoría clínica con la transfusión, el 99.3% conocen los riesgos de transmisión de infecciones a través de estas, el 92.9% evalúan los beneficios y riesgos antes de indicarla y el 66.6% de profesionales registran en la historia clínica las razones de su indicación; sin embargo, existe

poco conocimiento sobre alternativas terapéuticas antes de transfundir y las indicaciones de transfusión sanguínea no son uniformes.

Pilar C. 2009, investigó el “Empleo de sangre entera y hemocomponentes en las transfusiones en diferentes bancos de sangre y unidades transfusionales de la ciudad de la paz gestión 2008 – primer semestre gestión 2009.”. Sus resultados destacables indican que: “En la gestión 2008 al 2009 en el Hospital Materno Infantil de un total de 5.278 unidades transfundidas, las transfusiones de sangre entera corresponden a 1.524 unidades y la transfusión de otros hemocomponentes alcanza un total de 3.754. Destaca la sangre entera 1524 (29%), plasma fresco 281 (5%), plasma fresco congelado 367 (7%), paquete globular 2121 (40%) y concentrado de plaquetas 447 (8%).

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el año 1939, a solo 2 años después de la inauguración del primer Banco de Sangre en la ciudad de Chicago en Estados Unidos se publicó un artículo científico describiendo los posibles riesgos de la contaminación bacteriana en la sangre donada (F A, 1994 – CE, 2008).

La contaminación por bacterias de los hemocomponentes es considerada como una causa principal de muerte por la generación de reacciones adversas graves (shock séptico, coagulación intravascular diseminada) ocasionada por las endotoxinas y exotoxinas de las bacterias. Sin embargo, representa un evento excepcional o riesgo excepcional pero cuando se presenta el riesgo de mortalidad es elevado (Chatterjee, 2016).

Según múltiples estudios, se considera que la prevalencia de contaminación bacteriana es muy baja y está en el orden de 1 CP contaminado por cada 2,000 a 3000 unidades de CP. Estos estudios indican también que el CP es el componente con mayor riesgo de contaminación por la temperatura de almacenamiento ($22^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$) ya que este es un factor de riesgo de contaminación demostrada para la proliferación bacteriana. (Klausen, 2014 – Levy, 2018).

Se estima que el riesgo de mortalidad en relación a la contaminación bacteriana del CP puede ser de 1 por cada 7,500 eventos de sepsis a 1 por cada 100,000 eventos de sepsis. Se indica también que el riesgo de recibir plaquetas contaminadas con bacterias puede ser 50-250 veces más probable y este riesgo es mayor al riesgo de infección por VIH1/2, VHC, VHB y HTLV-I/II, (Lin, 2000) por lo mismo, se evidencia que la contaminación bacteriana supera la incidencia de los agentes virales en la detección del donante de sangre. Sin embargo, en la hemovigilancia se prioriza la detección de estos agentes virales en lugar de los bacterianos.

Diversas investigaciones indican que los principales agentes etiológicos implicados son: *Staphylococcus spp* (42%), *Streptococcus spp* (12%), *Escherichia coli* (9%), *Bacillus spp* (9%), *Salmonella spp* (9%), *Serratia spp* (8%), *Enterobacter spp* (7%) y otros organismos (4%). Estos estudios indican que el 56% de los organismos son gram positivos y la mayoría microorganismos aerobios y muy escasa proporción de anaerobios (MA, 2005 – MR, 2012).

Se estima que las vías de contaminación bacteriana pueden ser endógena (microorganismos de la flora normal de la piel) y exógena (agentes del ambiente o provenientes de portadores en el momento de la extracción). Una fuente exógena de contaminación puede ser 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. (JC, 2011 - Sandra, 2004).

Estas bacteriemias transitorias pueden deberse a infecciones gastrointestinales del donante acaecido en el mes anterior a la donación, provocadas por *Yersinia* o *Salmonella*, o bien posteriores a un tratamiento odontológico donde los organismos más probablemente involucrados son: *Staphylococcus spp*, *Streptococcus viridans* o *Serratia liquefaciens*. 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 el riesgo de contaminación del hemocomponente por la contaminación de la bolsa colectora en el momento de la extracción por incumplimiento de las normas de bioseguridad en el momento de la extracción relacionada principalmente a la inadecuada asepsia del sitio de punción o e inadecuado uso del antiséptico utilizado o factores fortuitos que escapan al proceso de asepsia de la piel (Sandra, 2004 -Müller, 2011).

Como describimos en el marco teórico, se tienen diversas estrategias tendientes a minimizar la contaminación bacteriana de los CP, estas estrategias sin embargo tienen sus limitaciones, pero en general favorecen la disminución de las contaminaciones.

Uno de los aspectos importantes es la información y seguimiento de los casos de contaminación del CP mediante un sistema de hemovigilancia, en este sentido, el dato depende estrictamente de la identificación de las reacciones transfusionales sépticas y su notificación posterior. Sin embargo, por lo menos en nuestro medio podemos suponer que la incidencia de sepsis asociada a transfusiones está subestimada y también a nivel internacional por lo que no refleja el riesgo real. Basado en datos de Hong et al. (Hong,2016), una alta proporción de infecciones bacterianas asociadas a transfusiones no son reconocidas.

La vigilancia activa mediante el análisis de muestras de plaquetas en el momento del lanzamiento reveló un riesgo de 10 a 40 veces mayor de transmisión bacteriana asociada a las plaquetas en comparación con la vigilancia pasiva. La principal razón de este subregistro se considera que se puede deber a que la administración de un CP contaminado con bacterias no conduce necesariamente a síntomas clínicos evidentes en el receptor (Abela, 2018).

El resultado está influenciado por varios factores, por ejemplo, la patogenicidad de la cepa y el recuento bacteriano en el momento de la administración. Además, tanto el estado clínico como la terapia en curso del paciente, incluida la administración de antibióticos, pueden afectar la manifestación y la gravedad de la reacción. No se pueden excluir las infecciones tardías tras la transfusión de un CP contaminado con bacterias. Hasta la fecha, no hay evidencia documentada de tal escenario, aunque se conocen infecciones tardías causadas por productos farmacéuticos no estériles (Gershman, 2008). Por lo tanto, el número relativamente bajo de casos de sepsis asociada a transfusiones no debería proporcionar una justificación para la implementación de una estrategia de "no realizar pruebas" ya que como mencionamos la CP representa un riesgo elevado de morbilidad del paciente.

En general, se considera que las diferentes medidas de control tienen un impacto favorable sobre la frecuencia de reacciones sépticas descritas son eficaces por tanto disminuyendo el número de eventos de contaminación de los CP (Gershman,

2008). Se tiene datos que la detección basada en cultivos redujo la cantidad de CP contaminados a 5,4 por millón en comparación con 16,3 antes de que se introdujera la detección de rutina en el Reino Unido. Centrándonos en las reacciones transfusionales adversas, el número incluso disminuyó en un 90 % (McDonald,2017).

Investigaciones indican que, en Europa, no se informaron muertes desde la implementación de la detección basada en cultivos. Así mismo, en los países donde se implementó la “técnica de reducción de patógenos” (RP) como Francia, Suiza y Bélgica en comparación con los datos históricos, las tasas de CP contaminados se redujeron significativamente de 19, 82,9 y 35,6 por millón de casos a cero casos (Kleinman, 2006). Por lo tanto, esta técnica resulta ser la más efectiva para minimizar el riesgo de contaminación bacteriana del CP, pero esta tecnología aun no es económicamente accesible a la mayoría de los bancos de sangre de nuestro país.

Son concebibles varias medidas de seguridad, que varían en su coste y esfuerzo. Sobre la base del conocimiento actual, el CP podría liberarse sin ninguna prueba adicional solo hasta 12 h después de la producción de plaquetas. La liberación de plaquetas sin control microbiológico adicional después de este tiempo representa un riesgo de contaminación y la no realización de cultivos de control podría estar impulsada por argumentos económicos. En este caso, diversos estudios recomiendan que el CP debe someterse a cuarentena durante al menos 18 a 20 h. Además, se deben inocular al menos 10 ml de muestra por cada 250 ml de CP en botellas de cultivo aeróbico y anaeróbico. Si el cultivo sigue siendo negativo después de 18 h, se puede liberar CP según el principio de negativo hasta la fecha con una vida útil de hasta 7 días (Kwon, 2014 – Mohr, 2009).

La implementación de sistemas RP proporciona un nivel de seguridad aún mayor con respecto a la transmisión bacteriana asociada a transfusiones. Los datos de plaquetas inactivadas por patógenos han mostrado hasta ahora resultados prometedores en la reducción de la sepsis asociada a transfusiones de CP. Antes de la autorización de comercialización, se realizaron numerosos estudios sobre el

rendimiento de estos sistemas. Centrándose en la eficacia de la PR, los 3 sistemas mencionados demostraron una reducción logarítmica significativa de bacterias en las plaquetas (Kwon, 2014 - Mohr, 2009). Como indicamos, estos sistemas demostraron casi un 100% de eficacia en la reducción de contaminación bacteriana en los países en los que se implementó (Kleinman, 2006).

Otro factor que incide en el problema de la contaminación de los CP es el diseño y cumplimiento de normas de bioseguridad en el manejo de hemocomponentes en la que diversos autores señalan que la implementación de medidas de bioseguridad adicionales está asociada con mayores gastos, lo que puede representar un obstáculo tanto para los bancos de sangre con recursos financieros limitados como para las unidades transfusionales más pequeños. Sin embargo, su implementación y cumplimiento favorecen la reducción de contaminación de los CP (Benjamin, 2007 – Blajchman, 2001)

Tal cual lo refleja el Resumen Estadístico 2020 del Ministerio de Salud y el Programa Nacional de Sangre (Ministerio de Salud, 2020), en nuestro país no se tienen registros de la hemovigilancia de la contaminación bacteriana del CP y otros hemoderivados, se desconoce los agentes etiológicos involucrados y la tasa de mortalidad por esta causa. Esto nos demuestra que el control microbiológico de los hemoderivados en especial del CP, no se ha implementado. Lo más destacable de este informe estadístico es lo siguiente:

1. En la gestión 2020 se presentaron 670 reacciones Adversas en donantes, de los cuales el 80,3% (538) corresponden a reacciones Adversas Generalizadas, el 19,7% (132) a reacciones Adversas Locales y el 0% a reacciones Adversas Severas. Estos datos no especifican el tipo de reacción adversa y la tasa de mortalidad por esta causa.

2. De las 100.792 unidades de sangre colectadas el año 2020, se realizaron el Tamizaje Inmunoserológico al 100% de las unidades. Con relación a los marcadores reactivos, se observa que el marcador para Sífilis registró un incremento del 12,4% y VIH en un 25% en comparación al año 2019; VHB y

VHC, aunque hayan registrado un bajón en la cantidad de unidades reactivas, continúan siendo datos muy preocupantes para la Salud Pública. Por otro lado, Chagas continúa con un número muy alto (1.921 unidades reactivas).

Este informe no se tiene datos de los contaminantes bacterianos que según los países que desarrollan hemovigilancia de las infecciones bacterianas representa la principal causa de mortalidad (Chatterjee, 2016).

3. Entre los hemocomponentes más producidos a nivel nacional al igual que en la gestión 2019 tenemos al Paquete Globular con 33,2% (99.471), seguido por Plasma Fresco Congelado con 31,5% (94.332) y en tercer lugar se encuentra el Concentrado de Plaquetas con 18,5% (55.362). Entre los menos producidos tenemos a Plasma Congelado Pediátrico, ST Pediátrico, GRL Pediátrico con 0,0%, seguido por CPAF con 0,1% (290).

4. Al igual que en años anteriores el Concentrado de Plaquetas con el 44,1% (11.032) es el hemocomponente que más se descarta por esta causa debido en gran medida a la corta duración de vida útil que tiene la mismas, seguido por el Plasma Fresco Congelado con 41,3% (10.323), y el Plasma Congelado con 6,6% (1.645) y no muy alejado se encuentra el PG con 5,8% (1.462).

Por Caducidad se descartaron 25.171 unidades lo que llega a representar el 6,5% del total de las unidades obtenidas. Continúa en primer lugar el Concentrado de Plaquetas al igual que en años anteriores con el 43,8% (11.032) el que más se descarta por esta causa; seguido por el Plasma Fresco Congelado con 41% (10.323) y en tercer lugar está el Plasma Congelado con 6,5% (1.645). Así mismo, un dato que todavía preocupa es el descarte del Paquete Globular que representa el 5,8% del total de unidades descartadas.

Se descartaron 77.638 unidades de sangre y/o hemocomponentes, de los cuales el sector Público descarto el 88% (68.127) unidades, la Seguridad Social, el 10% (7.89) y el Privado el 2% (1.620). El total del descarte representa el 25,9% del total de unidades obtenidos (299.654).

De las 24.118 unidades de sangre y hemocomponentes descartados por Otras Causas: el 33,8%, se descartó por peso bajo, el 30,9% por Ictericia, el 15,6% con Glóbulos rojos, el 13,2% con Anticuerpos Irregulares y posteriormente se encuentran las otras causales.

5. De las 150.944 transfusiones realizadas a nivel nacional: en el departamento de Santa Cruz se realizan el 45,2% (68.168) del total de las transfusiones, seguido por La Paz con 20,8% (31.406), en tercer lugar, esta Cochabamba con 16,9% (25.473) y posteriormente el departamento de Chuquisaca con 4,7% (7.085) transfusiones realizadas. Se puede indicar también que el 82,8% de las Transfusiones se realizan en el eje troncal.

6. De las 150.944 unidades transfundidas: el Paquete Globular es el producto más utilizado con el 44,9%, seguido por el Plasma Fresco Congelado con 23,7%, el tercer producto es el Concentrado de Plaquetas con 19,9% del total de las transfusiones realizadas. Por otro lado, tenemos a los productos sanguíneos menos utilizados como ser el GRL Pediátrico, ST Pediátrico, CPAF Pediátrico y PC Pediátrico con 16, 24, 41 y 45 unidades respectivamente que representa el 0% de las transfusiones.

Respecto a los métodos de detección de contaminación bacteriana disponibles en nuestro medio, el más utilizado ya sea manual o automatizado es el cultivo, sin embargo, en ambos pueden existir dificultades en mantener un microambiente aséptico durante la transferencia de la muestra pudiendo ocasionar cultivos falsos positivos y en equipos automatizados requiere una incubación mínima de 12 horas (Corash, 2011).

Los métodos directos o rápidos (tinción gram, pH, Hb y concentración de glucosa), tienen baja sensibilidad, pero son una alternativa a los cultivos. Su estrategia de utilización sería determinarlos poco antes de la transfusión conjuntamente con el examen visual lo cual permitiría detectar componentes plaquetarios contaminados que resultaron negativos en el cultivo de control. Con

respecto al tiempo de espera hasta el resultado, estos métodos son superiores en comparación con los métodos basados en cultivo ya que los resultados se registran a los 2 minutos (Burstain, 1997 – Vasquez, 2005).

La sensibilidad del cultivo en el sistema BacT/ALERT® es de 1 a 10 UFC/ml y una especificidad mayor a 90%. La sensibilidad del examen visual es de 10^7 y 10^8 UFC/ml. La sensibilidad de los métodos directos aprobados (The Bac-Detect®, BactiFlow®, Miliflex®, BacTx®) es mayor a 10^3 UFC/ml (arriba de 1000 UFC/ml) por lo que requieren grandes concentraciones bacterianas para detectar contaminación (U.S, 2018 – CDC, 2022 – CDC, 2021).

Un ensayo clínico controlado indica que la prueba rápida o directa de la tira reactiva con sus componentes de glucosa y pH tiene una sensibilidad 95% (mayor de 10^7 UFC/ml) para todos los microorganismos y una especificidad del 98%. La sensibilidad para *S. aureus* fue mayor (10^3 UFC/ml) y para *Kebsiella pneumoniae* fue de 10^5 UFC/ml (Burstain, 1997 – Vasquez, 2005)

5. JUSTIFICACIÓN

Aporte teórico de la investigación

Considerando el problema antes señalado, existieron justificadas razones científicas, económicas y sociales que fundamentaron la necesidad de encarar este estudio para evaluar comparativamente la prevalencia de la contaminación bacteriana del CP, los agentes etiológicos identificados y la eficacia de los métodos directos disponibles para mejorar la detección oportuna de los CP contaminados. En nuestro medio se desconoce de la magnitud de la contaminación bacteriana del CP ya que en los Bancos de Sangre no se está realizando una hemovigilancia activa de las infecciones asociadas a hemocomponentes.

La información exhaustiva y respaldada que presenta esta investigación aportara al conocimiento de las estrategias para desarrollar una hemovigilancia activa del CP y el manejo de casos con sepsis asociada a esta contaminación bacteriana. Esta información sería de utilidad para consolidar un “Manual de control de calidad microbiológicos del CP” que se podría extender a los otros hemocomponentes que se producen en el banco de sangre.

Las bases teóricas y estadísticas de la validación de métodos aplicados en esta investigación podrían también ser aplicados para la validación de métodos que vayan a ser introducidos en el control microbiológico del CP y otros hemocomponentes.

Por tanto, el conocimiento teórico del problema y manejo estadístico de la validación de métodos que aporta teóricamente esta investigación se constituyen en una herramienta importante para la elaboración y la implementación de políticas y estrategias de corto, mediano y largo plazo que contribuya a un mejor control del CP, mejor manejo de los pacientes afectados, seguimiento y control de los pacientes afectados por un CP contaminado.

Relevancia y pertinencia del tema

La relevancia y pertinencia del tema están avaladas por la necesidad de contar con datos reales y confiables, acerca la contaminación de los CP y las variables relacionadas al mismo y la eficacia de los métodos directos que se podrían aplicar para mejorar la detección oportuna de una contaminación bacteriana del hemocomponente que como señalamos representa un elevado riesgo de mortalidad.

Nuestro Hospital y la institución requiere disponer de información suficiente que ilustre la dimensión del problema, razón por la cual describir la magnitud de la problemática y evaluar una alternativa accesible de control de contaminación bacteriana del CP fue la acción prioritaria de la investigación, lo cual se puede constituir en un punto de partida para que se analice el problema de manera

acertada, se mida adecuadamente, se elaboren medidas de intervención y se le pueda hacer un adecuado seguimiento.

Utilidad y conveniencia de la investigación

Los resultados de la investigación ofrecen con seguridad, una alerta sobre el comportamiento de la contaminación bacteriana del CP y la eficacia de los métodos directos de detección de contaminación. Estos resultados reflejan la necesidad de desarrollar en forma rutinaria el control microbiológico del CP y la conveniencia de la implementación de técnicas rápidas de detección para garantizar el producto. Aportará también, al mejoramiento de la calidad de la atención médica de los pacientes que requiera este hemocomponente. Es importante destacar que el control microbiológico de los hemocomponentes debe ser parte del control de calidad de los mismos.

Viabilidad social y económica

La aplicabilidad de los resultados de esta investigación para la toma de decisiones se considera socialmente e institucionalmente viable, por la implementación de arreglos y acuerdos, políticas y estrategias que deben ser adoptadas en lo adelante, entre los diversos actores y decisores que se orienten hacia la garantía de una mayor eficiencia y calidad del manejo de los hemocomponentes que favorezca la atención integral de los pacientes que requieren estos hemoderivados. También es viable económicamente porque los métodos y procedimientos de control microbiológico son económicos y accesibles por tanto factibles de aplicar.

6. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál será la eficacia de la determinación de glucosa y pH en tira reactiva de orina para la detección rápida de contaminación bacteriana en concentrados de plaquetas del Servicio de Transfusiones del Hospital Petrolero de Obrajes durante el periodo de septiembre del 2021 a mayo del año 2022?

7. HIPOTESIS

7.1. Hipótesis 1

La sensibilidad y especificidad de las pruebas de pH y Glucosa para la detección de contaminación bacteriana analizadas en forma individual es baja al igual que los valores predictivos positivos y la razón de verosimilitud positiva.

7.2. Hipótesis 2

La sensibilidad y especificidad de las pruebas de pH y Glucosa para la detección de contaminación bacteriana analizadas en paralelo se incrementa al igual que los valores predictivos positivos y la razón de verosimilitud positiva.

7.3. Hipótesis 3

La especificidad, valor predictivo negativo y razón de verosimilitud positiva se incrementa a su máximo nivel cuando se analiza las pruebas de pH y glucosa conjuntamente con el tiempo de almacenaje.

7.4. Hipótesis 4

Para esta última hipótesis, se plantearon hipótesis nulas e hipótesis alternas.

Hipótesis nula (Ho): que fue rechazada cuando la probabilidad o valor p del estadístico χ^2 fue menor a 0,05.

Hipótesis alterna (Hi): que fue aceptada cuando se rechazó la hipótesis nula.

Ho: Existe asociación estadística del tiempo de conservación del concentrado de plaquetas y el riesgo de contaminación bacteriana.

Hi: Existe asociación estadística del tiempo de conservación del concentrado de plaquetas y el riesgo de contaminación bacteriana.

8. OBJETIVOS

8.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar la eficacia de la determinación de glucosa y pH en tira reactiva de orina para la detección rápida de contaminación bacteriana en concentrados de plaquetas del Servicio de Transfusiones del Hospital Petrolero de Obrajes durante el periodo de septiembre del 2021 a mayo del año 2022.

8.2. OBJETIVO ESPECÍFICO

1. Determinar la prevalencia de contaminación bacteriana según el agente etiológico.
2. Establecer los valores de referencia y las medidas de tendencia central y de dispersión de la glucosa y la variable tiempo en los concentrados de plaquetas no contaminados y contaminados.
3. Calcular los puntos de corte donde la determinación de glucosa, pH de la tira reactiva y la variable tiempo, alcanzan su máxima sensibilidad y especificidad para detectar contaminación bacteriana.

4. Determinar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativos y razón de máxima verosimilitud positiva y negativa de los métodos de glucosa, pH y la variable tiempo para la detección de contaminación bacteriana en los concentrados de plaquetas.

5. Calcular la tasa de eficacia de la determinación de glucosa, pH y la variable tiempo analizadas en paralelo para detectar contaminación bacteriana.

6. Identificar el grado de asociación estadística entre el tiempo de almacenamiento y riesgo de contaminación bacteriana, identificando el límite máximo de almacenamiento por encima del cual el riesgo de contaminación se incrementa.

9. DISEÑO METODOLÓGICO

9.1. TIPO O DISEÑO DE ESTUDIO

La presente investigación fue de tipo cuantitativo descriptivo, transversal y analítico. Fue descriptivo porque se describieron las variables en términos de prevalencia, frecuencia, porcentaje con lo que se estableció la magnitud de la contaminación del CP según los agentes etiológicos.

Fue transversal porque se analizaron todas las variables investigadas en un solo momento y en forma simultánea luego de haber recabado la información en la base de datos.

Fue analítico porque se estableció asociaciones estadísticas entre variables dicotómicas (test positivo o negativos versus resultado del cultivo positivo o negativo) con el estadístico χ^2 y se midió la intensidad de estas asociaciones con el estadístico de la razón de productos cruzados (OR).

Fue también analítico de evaluación de pruebas diagnósticas porque se midió la eficacia diagnóstica de los test de tamizaje (pH, glucosa) para diagnóstico de los concentrados de plaquetas contaminados o no en comparación con un estándar de oro o método de referencia el cual fue el cultivo.

9.2. SITIO O CONTEXTO DEL ESTUDIO

El trabajo se desarrolló en el Hospital Petrolero de Obrajes que es un hospital de 3er nivel perteneciente a la Caja Petrolera de Salud. Fue fundada el 19 de diciembre del año 2014.

Está ubicada en la Calle 8 de Obrajes de la Avenida Costanerita. Capacidad de 160 camas instaladas de internación y la atención en terapia intensiva adulta, pediátrica y neonatal.

Tiene un horario de atención en la mañana a partir de las 7 a.m. hasta las 20 horas. Atención de emergencias las 24 horas sábados, domingos y feriados.

Atiende las especialidades de: medicina interna, cardiología, dermatología, endocrinología, gastroenterología, oncología clínica, hematología, neurología, psiquiatría, reumatología, neumología, cirugía general, oftalmología, otorrinolaringología, traumatología y ortopedia, neurocirugía, anestesiología, cirugía vascular, cirugía torácica, cirugía reconstructiva, colcoprotología, urología, pedriatría, traumatología pediátrica, cirugía pediátrica, cardiología pediátrica, concopediatria, ginecología y obstetricia, patología cervical, mastología entre otros.

Cuenta con los servicios de laboratorio, unidad transfusional, imagenología, patología, psicología, nutrición, farmacia, lavandería, vacunas, hemodiálisis, enfermería, terapia del dolor, internación, endoscopia y servicio de ambulancia.

El laboratorio dispone de las especialidades de bacteriología, endocrinología, química clínica, urgencias, uroanálisis, parasitología, inmunología, virología y hematología.

El Servicio de Transfusión cuenta con atención en 2 turnos, cada uno de 6 horas y 12 h de atención ha llamado por emergencias de lunes a viernes y los fines de semana atención de emergencias ha llamado. Las unidades son provenientes de un convenio realizado con el Banco de Sangre de la ciudad de El Alto.

9.3. UNIVERSO O POBLACIÓN

El universo fueron las 450 unidades de concentrado de plaquetas unitarias, obtenidas por fraccionamiento y que fueron almacenadas en la Unidad Transfusional del Hospital Petrolero. A partir de este universo se hizo el cálculo del tamaño muestral para un 95% de confiabilidad y 5% de error estándar.

Criterios de inclusión

- Concentrados de plaquetas almacenados en el Servicio de Transfusión del Hospital de la Caja Petrolera de Salud.
- Concentrados de plaquetas que se hayan mantenido en agitación y a temperatura ambiente (21 a 23 ° C), desde su producción.
- Concentrados de plaquetas con tamizaje serológico No Reactivo para los siguientes marcadores serológicos: VIH, HBsAg, HCV, Sífilis y Chagas.

Criterios de exclusión

- Concentrados de plaquetas que hayan sido entregadas y devueltas al Servicio de Banco de Sangre.
- Concentrados de plaquetas con plasma lipémico, coloración verdosa, falta de efecto remolino, contaminación por eritrocitos, concentrados rotos o con aire.

9.4. TAMAÑO DE MUESTRA

En base al universo de 450 concentrado de plaquetas se calculó el tamaño de la muestra de 208 concentrados a analizar. Este cálculo muestral fue realizado para un 95% de confiabilidad y 5% de error estándar utilizando el programa estadístico Epidat 4,2 y también en forma manual.

Debido a que no se conoce la prevalencia de la contaminación bacteriana en concentrado de plaquetas en nuestro medio y la prevalencia a nivel internacional es muy baja 1 en 1,000 a 1 en 2,000 concentrados plaquetarios contaminados con bacterias (0,1% y 0,05% respectivamente) (Murphy, 2008), con estos datos el tamaño muestral sería muy bajo por lo que para que la muestra sea representativa se tomó una proporción esperada de 0,5 (50%) que se recomienda cuando se quiere calcular el tamaño muestral y se desconoce la prevalencia.

Cálculo del tamaño de muestra con Epidat 4,2

Tamaños de muestra. Proporción:

Datos:

Tamaño de la población:	450
Proporción esperada:	50,000%
Nivel de confianza:	95,0%
Efecto de diseño:	1,0

Resultados:

Precisión (%)	Tamaño de la muestra
5,000	208

Cálculo del tamaño de muestra mediante fórmula

$$n = \frac{N * Z_{\alpha}^2 * p * q}{e^2 * (N - 1) + Z_{\alpha}^2 * p * q}$$

Dónde:

n: Tamaño muestral (208 es el número de unidades de concentrados de plaquetas que se incluyeron en el estudio).

N: Tamaño de la población (450 fueron las unidades de concentrados de plaquetas obtenidas y almacenadas desde septiembre del año 2021 a mayo del 2022 en la unidad transfusional).

Z: Valor de 1.96, correspondiente a un nivel de confianza de 95%.

p: Prevalencia esperada del parámetro a evaluar (50% o 0,5). En este caso se ha elegido p=0,5 y q: 1-p = 0,5

e: Precisión (5%).

$$n = \frac{450 * 3,8416 * 0,25}{1,1225 + 0,9604}$$

$$n = \frac{432,18}{2,0829}$$

$$n = 208$$

9.4.1. Operacionalización de variables

Variable	Tipo	Operacionalización		Indicador
		Escala	Descripción	
Cultivo Microbiológico	Cualitativa nominal dicotómica	-Cultivo positivo -Cultivo negativo	Según el desarrollo de los microorganismos a las 12 horas, 24 horas 72 horas y 5to día de incubación.	-Frecuencia -Porcentaje total -Sensibilidad: -Especificidad: -Valor predictivo positivo -Valor predictivo negativo -Razón de verosimilitud positiva -Razón de verosimilitud negativa (Asociación y porcentajes de eficacia diagnóstica comparándola con el resultado de pH, Glucosa y el tiempo de conservación del CP)
pH	Cualitativa nominal dicotómica	- Con riesgo de contaminación - Sin riesgo de contaminación	Según el pH fue menor a 6,3 o superior a 6,3	-Frecuencia -Porcentaje total -Sensibilidad: -Especificidad: -Valor predictivo positivo

				<ul style="list-style-type: none"> -Valor predictivo negativo -Razón de verosimilitud positiva -Razón de verosimilitud negativa (Asociación y porcentajes de eficacia diagnóstica comparándola con el resultado del cultivo).
Glucosa	Cualitativa nominal dicotómica	<ul style="list-style-type: none"> - Con riesgo de contaminación - Sin riesgo de contaminación 	Según la concentración detectada fue inferior a 75 mg/dl o superior a esta concentración	<ul style="list-style-type: none"> -Frecuencia -Porcentaje total -Sensibilidad: -Especificidad: -Valor predictivo positivo -Valor predictivo negativo -Razón de verosimilitud positiva -Razón de verosimilitud negativa (Asociación y porcentajes de eficacia diagnóstica comparándola con el resultado del

				cultivo).
Tiempo de conservación del concentrado de plaquetas	Cualitativa nominal dicotómica	- Con riesgo de contaminación - Sin riesgo de contaminación	Según los periodos de 24 horas que transcurren desde la obtención de la unidad hasta el tiempo en el cual el riesgo es mayor este tiempo calculado fue de 8 días.	-Frecuencia -Porcentaje total -Sensibilidad: -Especificidad: -Valor predictivo positivo -Valor predictivo negativo -Razón de verosimilitud positiva -Razón de verosimilitud negativa (Asociación y porcentajes de eficacia diagnóstica comparándola con el resultado del cultivo).
Microorganismos	Cualitativa nominal politómica	- <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Staphylococcus epidermidis</i> - <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Según el agente etiológico identificado en el cultivo	-Frecuencia y Porcentaje total según el género y especie de microorganismo identificado.

9.5. TECNICAS Y PROCEDIMIENTOS

9.5.1. Recolección de muestra

En forma aleatoria y en días sucesivos se seleccionaron CP que estuvieran en diferentes días de conservación desde 1 día hasta los 16 días.

Los CP se conservan solo hasta los 5 días, pero con fines investigativos las bolsas por encima de 7 días se siguieron observando hasta los 16 días.

El muestreo hasta completar el tamaño muestral fue el siguiente:

DIAS DE CONSERVACIÓN	CANTIDAD DE BOLSAS
1	20
3	28
5	18
6	18
7	16
8	12
9	8
10	26
11	28
12	24
13	2
14	4
15	2
16	2
Total	208

9.5.2. Ensayo de la tira reactiva

- Las tiras reactivas se sacaron del refrigerador a 4 °C y antes de utilizarlos se atemperaron por 5 minutos.
- De la tubuladura del concentrado de plaquetas se cortó un segmento, posterior a su homogenización.
- Se depositó una gota del contenido en las almohadillas de pH y glucosa.
- Se comparó las áreas reactivas con la correspondiente tabla de colores que se encuentra en el rotulado del tubo en el tiempo especificado. Se sostuvo la tira cerca de la tabla de color y se comparó cuidadosamente.
- Los resultados se leyeron en un rango entre 1 a 2 minutos como máximo según las recomendaciones del fabricante.

Para el trabajo se utilizó tiras reactivas “Insight” y se siguieron las recomendaciones del fabricante (Anexo 8 y 9)

9.5.3. Cultivo

Una vez retirada la parte central de la tapa metálica del frasco de Hemocultivo y efectuada la desinfección del tapón de goma del frasco con 50 ml de medio de cultivo para aerobios y anaerobios, se inyectó 10 ml de CP cuidando especialmente no introducir aire. Se mezcló de inmediato por inversión para permitir la acción anticoagulante.

-Incubación

Los frascos se incubaron a 35-37 °C. El tiempo de incubación máximo fue hasta los 7 días para posibilitar el desarrollo de microorganismos exigentes como *Actinobacillus*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, *Haemophilus*, *Neisseria* spp. y especies de *Cándida*.

-Observación de los cultivos

Cada día se observó los frascos de cultivo buscando signos de desarrollo bacteriano como ser: turbidez, el cambio de color, la hemólisis o burbujas de gas.

-Subcultivos

Se realizaron subcultivos rutinarios a las 24 horas, 72 horas y el 7mo día.

Sin embargo, ante sospecha o evidencia de desarrollo microbiano en alguno de los frascos, se realizó una tinción de Gram y subcultivos.

-Procedimiento del subcultivo

- Desinfectar el tapón de goma del frasco.
- Se extrajo aproximadamente 0,25 ml de medio con jeringa y aguja estériles.
- Se subcultivo en Agar Sangre y Agar Chocolate.
- Se depositó una gota de la muestra en un portaobjetos y se efectuó la coloración de Gram.
- Se incubó los subcultivos en atmósfera de 5 a 10% de dióxido de carbono.

Para el control microbiológico se utilizaron frascos de hemocultivos y fueron de la empresa Britania. Para la inoculación de los medios y los subcultivos se siguieron las recomendaciones del fabricante (Anexo 10 y 14).

9.5.4. Identificación de *Staphylococcus*

a) Morfología microscópica

De las colonias de los subcultivos, se realizó un frotis, luego la tinción de Gram lo que nos permitió apreciar la forma, agrupación y comportamiento al Gram de la cepa en estudio. El género *Staphylococcus* se caracteriza por ser cocos Gram positivos que se agrupan en forma de racimo.

b) Ensayos bioquímicos

-Prueba de catalasa

Se colocó una gota de H₂O₂ al 3% sobre un portaobjetos y luego se transfirió una porción de colonia sobre el H₂O₂ realizándose una emulsión. La producción de burbujas que denota la transformación del peróxido de hidrógeno y agua se consideró prueba positiva.

-Prueba de la coagulasa

Solo *Staphylococcus aureus* produce esta enzima que transforma el fibrinógeno en fibrina. Esta prueba permite separar *S.aureus*, que posee coagulasa, de las otras especies de estafilococos que genéricamente se denominan coagulasa negativos.

Se determinó la coagulasa en lámina y en tubo:

La coagulasa en lámina fue para determinar una endocoagulasa o coagulasa ligada o "clumping factor" que está unida a la pared celular. Esta actúa directamente sobre el fibrinógeno provocando la formación de coágulos o grumos cuando se mezcla una suspensión bacteriana con plasma citratado (test en lámina).

-Se emulsionó una o más colonias en una gota de suero fisiológico hasta formar una suspensión lechosa sobre un portaobjetos. Luego se agregó una gota de plasma citratado de conejo y se mezcló.

-La lectura se realizó en dentro los primeros diez segundos. Un test positivo se consideró cuando se vio la formación de grumos.

La coagulasa en tubo, fue para detectar la coagulasa libre que actúa mediante la activación de un factor (CRF), formándose un complejo coagulasa-CRF, el cual reacciona con el fibrinógeno produciéndose un coágulo de fibrina.

-Se emulsionó varias colonias en un tubo con 0,5ml de plasma citratado. Se incubó a 35° y se chequeó la formación del coágulo a las 4 horas.

-Si es caso de negatividad se reincubó toda la noche y se procedió a su lectura a las 18 horas.

- La formación de un coágulo total o parcial a las 4 horas o 18 se consideró como test es positivo.

-Prueba de susceptibilidad a la novobiosina

Se utilizó esta prueba con el objetivo de separar *S.saprophyticus* (resistente a la novobiocina) de los demás estafilococos coagulasa negativos. Para esta prueba se utilizó un disco de novobiosina de 5 ug.

-Del desarrollo bacteriano, se preparó una suspensión de 0,5 de la escala de Mac Farland y se sembró en un medio de Muller Hinton. Luego se colocó el disco de novobiocina incubando la placa a 35° por 18 horas.

- Un halo de inhibición de crecimiento menor o igual a 16mm corresponde se consideró como *S.saprophyticus*. Un halo de inhibición mayor de 16 mm se consideró estafilococos coagulasa negativos.

Dentro del Género *Staphylococcus* existen 3 especies de importancia clínica: *S.aureus*, *S.saprophyticus* y *S.epidermidis*. Estas se diferenciaron según las pruebas bioquímicas siguientes:

PRUEBAS	<i>S. aureus</i>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>S. epidermidis</i>
CATALASA	Positivo	Positivo	Positivo
COAGULASA	Positivo	Negativo	Negativo
SUSCEPTIBILIDAD A LA NOVOBIOCINA	Sensible	Resistente	Sensible

9.6. ANALISIS ESTADÍSTICO

Los datos se recopilaron en una base de datos en el programa SPSS 20,0 el mismo que también se utilizó para realizar el análisis estadístico descriptivo e inferencial. El cultivo de CP fue el Gold Estándar con el cual se compararon los test de glucosa y pH de la tira reactiva.

Se realizaron los siguientes análisis estadísticos:

Estadísticos descriptivos y medidas de tendencia central

Para el análisis de la información se utilizaron estadísticos descriptivos de frecuencia y porcentaje para cada una de las variables. Para las variables cuantitativas se calcularon la media, mediana, desviación estándar y el intervalo de confianza de la media al 95% de confiabilidad.

Se calculó el estadístico de t de Studet para muestras independientes con el propósito de encontrar la media e intervalo de confianza de la media al 95% de los test diagnósticos en cultivos positivos y negativos.

Estadísticos para cálculo de asociación y riesgo

Se calcularon el Chi^2 y la razón de productos cruzados (OR) para establecer asociación entre el tiempo y la contaminación bacteriana del concentrado de plaquetas.

Para tal efecto se plantearon hipótesis nulas e hipótesis alternas. Se rechazó la hipótesis nula cuando el valor “p” del estadístico de Chi^2 fue menor a 0,05.

El valor de OR se consideró significativo de riesgo cuando el OR puntual fue mayor de 1 y el intervalo de confianza del OR al 95% también fue superior a 1. Para tal efecto, se tomaron las siguientes consideraciones:

- OR = a 1: (no existe evidencia de asociación entre el factor y la contaminación bacteriana)
- OR >1: (el factor de riesgo aumenta el riesgo de aparición de la contaminación bacteriana)
- OR <1: (disminuye el riesgo de aparición de contaminación bacteriana, se trata de un factor de protección)

Puntos de corte y Eficacia diagnóstica

Para calcular los puntos de corte del test de pH, Glucosa y la variable tiempo alcanzan su máxima sensibilidad y especificidad para detectar contaminación bacteriana del CP se determinó la curva de ROC (Características Operativas del Receptor) y el Índice de Youden sirvió para encontrar las coordenadas y concentraciones donde estos parametros alcanzan su máxima sensibilidad y especificidad tomando como método de referencia al cultivo.

Con los puntos de corte identificados, se generaron tablas de 2 x 2 y se realizó el cruce de variables calculándose las tasas de eficacia de: tasas de Sensibilidad (SEN), Especificidad (ESP), Valor predictivo positivo (VPP), Valor predictivo negativo (VPN), Razón de verosimilitud positiva (RVP) y Razón de verosimilitud negativa (RVN). El cálculo de los mismos tiene las siguientes formulas.

Donde:

VP: Son los verdaderos positivos

VN: Son los verdaderos negativos

Sensibilidad

$$SEN = \frac{VP}{VP + FN} \times 100$$

La Sensibilidad (SEN), es la proporción de concentrados de plaquetas correctamente diagnosticados por las pruebas de glucosa y pH de la tira reactiva coincidiendo con la condición de “Cultivo positivo” dado por la prueba diagnóstica de referencia. En otras palabras, la proporción de verdaderos positivos correctamente identificados por el test de glucosa y pH en función del total de concentrado de plaquetas controlados tanto positivos para contaminación como negativas para dicha condición.

En términos conceptuales, este estadístico mide la capacidad del test para detectar la presencia de contaminación bacteriana en bolsas verdaderamente contaminadas.

Especificidad

$$ESP = \frac{VN}{VN + FP} \times 100$$

La Especificidad (ESP), se refiere a la proporción de concentrados de plaquetas correctamente diagnosticados con condición de “no contaminado” por la prueba de glucosa y pH. Vale decir, es la proporción de verdaderos negativos que fueron correctamente identificados por el test de glucosa y pH, del total CP cultivados y con resultados coincidentes con el método de referencia (el cultivo).

Este estadístico por tanto mide la capacidad para detectar la ausencia de contaminación bacteriana en bolsas verdaderamente no contaminadas.

El valor predictivo positivo (VPP)

$$VPP = \frac{VP}{VP + FP} \times 100$$

Nos midió la probabilidad de que un CP con resultado positivo (contaminado) dado por el test diagnóstico esté realmente contaminado.

El valor predictivo negativo (VPN)

$$VPN = \frac{VN}{VN + FN} \times 100$$

Nos midió la probabilidad de que un CP con un resultado negativo (no contaminado) por el test diagnóstico esté realmente no contaminado.

La Razón de Verosimilitud Positiva (RVP)

$$RVP = \frac{\frac{VP}{VP} + FN}{FP/FP + VN}$$

Nos permitió calcular cuánto más probable es un resultado concreto de “CP contaminado” dado por el test de glucosa y pH según la condición de verdaderamente “contaminado” dado por el método de referencia del cultivo.

Si la razón de verosimilitud es igual a 1, la probabilidad del diagnóstico es la misma antes y después de aplicar la prueba. En este caso la prueba es inútil, no tiene capacidad de discriminar “CP contaminados de los no controlados”.

Entre más alta sea la RVP, mejor es la exactitud de la prueba para diagnosticar los CP verdaderamente “contaminados”.

La Razón de Verosimilitud Negativa (RVN)

$$RVN = \frac{\frac{FN}{FN} + FP}{VN/VN + FP}$$

Mide cuánto más probable es un resultado concreto de “CP no contaminado” dado por el test de glucosa y pH según la condición de verdaderamente “contaminado” dado por el método de referencia del cultivo (gold estándar).

La RVN toma valores entre el 1 y el 0. Se calcula como especificidad dividida en 1-sensibilidad, o bien el cociente de los falsos negativos dividido en los verdaderos negativos. Entre más baja la RVN, mejor es la exactitud la prueba para identificar los CP verdaderamente “no contaminados”.

El procedimiento estadístico se llevó a cabo con los programas estadísticos SPSS 20.0 y Epidat 3.1.

9.7. APECTOS BIOETICOS

Para la realización de la investigación se solicitó mediante nota la autorización de la dirección del Hospital para acceder a la información. A la solicitud se acompañó el Protocolo de Investigación.

El registro de las fuentes secundarias de información (libros registros y base de datos del servicio) fueron realizadas en los mismos departamentos de Archivo y Laboratorio, en ningún momento se sacaron fuera de estos departamentos.

El estudio se enmarcó en los principios establecidos en la Declaración de Helsinki del Consejo de Organizaciones Internacionales de Ciencias Médicas (CIOMS) sobre la protección de la identidad de los pacientes y el final que se les da a los resultados. Por tanto, se tomaron en cuenta el cumplimiento de los requisitos éticos, validez científica, selección equitativa, proporción favorable de riesgo beneficio y evaluación independiente.

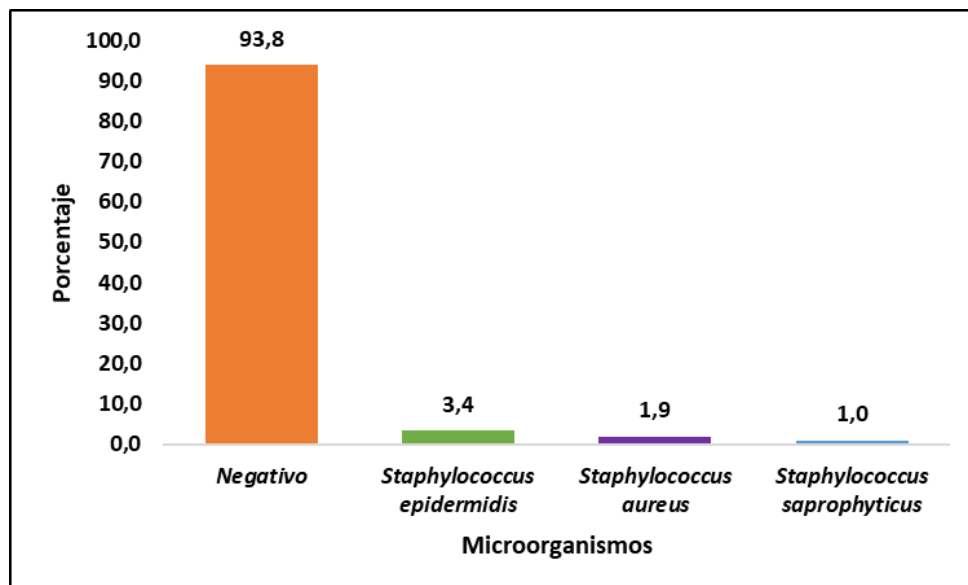
10. RESULTADOS

Tabla 1. Prevalencia de contaminación bacteriana según los microorganismos identificados. Servicio de Transfusión. Hospital Petrolero. Septiembre del 2021 a mayo del año 2022.

MICROORGANISMOS IDENTIFICADOS	Frecuencia	Porcentaje
Negativo	195	93,8
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	1,9
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	7	3,4
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2	1,0
Total	208	100,0

Fuente: Elaboración propia

Gráfico 1. Prevalencia de contaminación bacteriana según los microorganismos identificados. Servicio de Transfusión. Hospital Petrolero. Septiembre del 2021 a mayo del año 2022.



Fuente: Tabla 1

La tabla y gráfico 1, muestra la prevalencia de contaminación y la frecuencia de los microorganismos contaminantes. Vemos que de 208 concentrados de plaquetas a los que se les realizó paralelamente el cultivo y el examen directo con la tira reactiva de orina, la prevalencia de contaminación fue de 6,3%.

Hubo 195 cultivos negativos (93,8%) y 13 (6,3%) cultivos resultaron positivos para el desarrollo de microorganismos. En orden de frecuencia, los agentes biológicos involucrados como contaminantes de los concentrados de plaquetas fueron: *Staphylococcus epidermidis* con 7 (3,4%) de los aislamientos, *Staphylococcus aureus* con 4 (1,9%) y *Staphylococcus saprophyticus* con 2 aislamientos (1%).

El predominio de contaminantes del género *Staphylococcus* se puede deber a la amplia distribución de estos microorganismos en portadores asintomáticos a nivel de la piel y fosas nasales. Por tanto, la contaminación pudo haber tenido lugar por contaminación de las bolsas en el momento del preparado de hemocomponente o durante el proceso de extracción de la sangre total. Pudiendo ser el principal vehículo de transmisión las manos contaminadas con estos microorganismos lo cual nos indica que durante el preparado de los hemocomponentes se debe extremar en las medidas de bioseguridad.

Tabla 2. Medidas de tendencia central y dispersión de los métodos rápidos de diagnóstico de contaminación bacteriana. Servicio de Transfusiones. Septiembre del 2021 a mayo del año 2022.

CONCENTRADO DE PLAQUETAS CON CULTIVO NEGATIVO					
METODOS DE CONTROL	N	Media	Mediana	Desviación estándar	Intervalo de confianza al 95%
pH	195	6,7	6,5	0,8	6,6-6,8
GLUCOSA	195	268,7	50,0	340,4	220,7-316,8
TIEMPO	195	7,4	7,0	3,9	6,9-7,9
CONCENTRADO DE PLAQUETAS CON CULTIVO POSITIVO					
METODOS DE CONTROL	N	Media	Mediana	Desviación estándar	Intervalo de confianza al 95%
pH	13	6,2	6,0	0,6	5,9-6,6
GLUCOSA	13	123,1	100,0	90,4	68,5-177,7
TIEMPO	13	10,1	11,0	1,4	9,2-10,9

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 2, se observa las medidas de tendencia central (media, mediana, e intervalo de confianza de la media) y medidas de dispersión (desviación estándar) de los valores obtenidos por las pruebas de tamizaje en el control de concentrados de plaquetas no contaminados y contaminados.

En relación a las medidas de resumen de variables cuantitativas, desde un punto de vista práctico solo la media e intervalo de confianza de la media nos permiten conocer los valores de referencia de la medición de pH, glucosa y hemoglobina en muestras que resultaron negativas para el cultivo.

En los 195 concentrados de plaquetas que resultaron negativos en los cultivos, el pH obtuvo una media puntual de 6,7 e intervalo de confianza de la media entre 6,6 a 6,8. Esto nos indica que, según estos estadísticos, el valor de referencia del pH en una muestra no contaminada estuvo entre estos parámetros. Valores por debajo 6,6 pueden indicar una alteración del concentrado de plaquetas en este caso posible contaminación por lo que no se debería transfundir y se aconseja enviarlos al servicio de bacteriología para cultivo. La desviación estándar sirvió para calcular el intervalo de confianza de la media ya que este estadístico por si solo nos indica solamente lo cerca o lejos que estaban los valores de la media. La

mediana del pH indica que el 50% de los valores medidos del pH fueron de 6,5 en las muestras que resultaron con cultivo negativo.

Es importante considerar que el pH cambiara en función del metabolismo bacteriano de la glucosa. El microorganismo utiliza la glucosa como fuente de carbono y llega a producir ácidos fuertes como el ácido láctico y por tanto la disminución del pH se puede relacionar con la presencia de microorganismos.

En relación con la glucosa, su concentración en caso de contaminación ira disminuyendo ya que es utilizada por los microorganismos como nutriente e importante fuente carbono por lo que su metabolismo genera una disminución de su concentración y acidificación del concentrado de plaquetas por la producción de ácido láctico.

En este sentido, la tabla 2, muestra que la media puntual de glucosa en las muestras con cultivo negativo fue de 268,7 mg/dl y con una confiabilidad del 95% la verdadera media de la glucosa en cultivos negativos de concentrado de plaquetas, estuvo entre 220,7 y 316,8 mg/dl siendo este el valor de referencia para considerar un concentrado de plaquetas sin riesgo de contaminación bacteriana. Por lo mismo según estos estadísticos, un valor menor a 220,7 puede ser considerado como riesgo de contaminación y la muestra tendría que ser derivada para cultivo y no se debería transfundir el concentrado de plaquetas.

Se tomó a la variable tiempo como una variable cuantitativa modificable y que en nuestro estudio tuvo relación con la contaminación del concentrado de plaquetas en forma directamente proporcional. Es decir, a mayor tiempo mayor riesgo de contaminación. Se vio que, en las muestras no contaminadas, el tiempo medio puntual fue de 7,4 días con un intervalo de confianza al 95% entre 6,9 a 7,9 días sin riesgo de contaminación, tal como se observa en la tabla 2.

Consideramos que el dato más valioso para la detección temprana de una posible contaminación del concentrado de las plaquetas es la determinación de la media e intervalo de confianza de la media de los métodos de tamizaje en los cultivos

positivos ya que representan los cambios de pH, hemoglobina y glucosa en presencia de microorganismos contaminantes.

Es así que la tabla 2 también nos muestra que del 6,3% de muestras contaminadas, en relación al pH, vemos que hubo una disminución del pH de 6,7 (en muestras no contaminadas) a 6,2 (en muestras contaminadas). Esto es explicable por el metabolismo de la glucosa por parte de los microorganismos que genera como producto final ácido láctico que disminuye el pH del hemocomponente. El intervalo de confianza de la media al 95% estuvo entre 5,9 a 6,6. Este dato nos indica que con una confiabilidad del 95% cuando la medición del pH del hemocomponente es menor a 5,9 o cae en este rango, el riesgo de contaminación del concentrado de plaquetas es elevado.

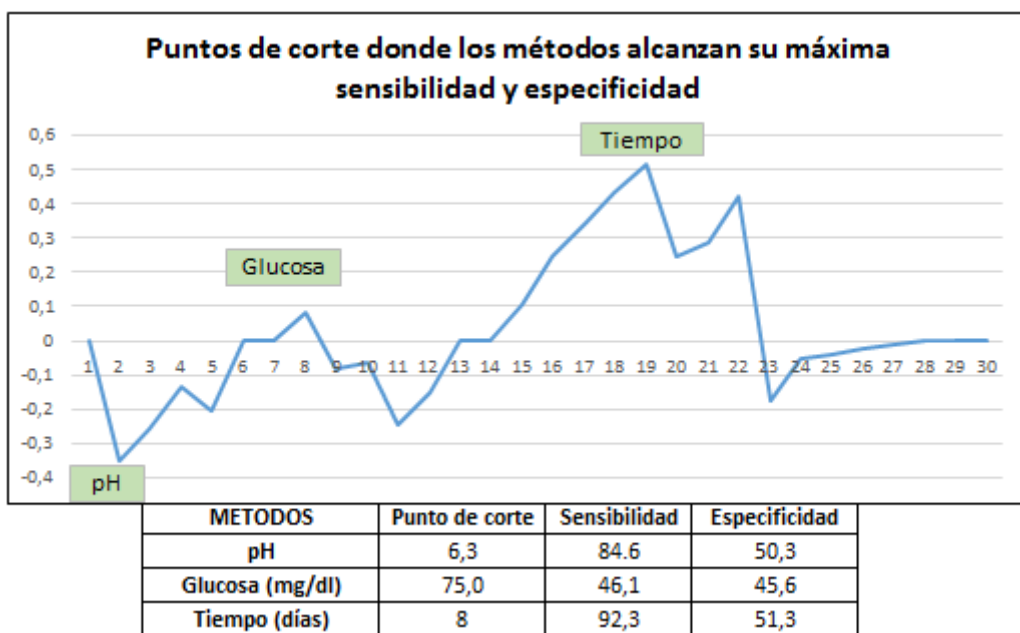
Igualmente, la media de la glucosa disminuyó su concentración de 268,7 en muestras no contaminadas a 123,1 mg/dL en muestras contaminadas por bacterias. Significa que el microorganismo contaminante utilizó la glucosa para su catabolismo disminuyendo su concentración e incrementando la producción de ácido láctico en el medio. El intervalo de confianza de la media al 95% de confiabilidad de los casos positivos estuvo entre 68,5 a 177,7 mg/dl. Por lo mismo, cuando la concentración de glucosa detectada está por debajo de 68,5 mg/dl o cae en el rango calculado, el riesgo de contaminación se incrementa.

En relación al tiempo la tabla 2 nos indica que la mayoría de las contaminaciones bacterianas se dieron en los concentrados de plaquetas con tiempo de conservación de 10 días, según la mediana, el 50% de las contaminaciones se dieron en hemoderivados conservados por 11 días y el intervalo de confianza de la media del tiempo al 95% nos indica que las contaminaciones se dieron en hemocomponentes conservados entre 9,2 y 10,9 días. Este resultado nos indica que los concentrados de plaquetas no deberían conservarse por más de 9 días para minimizar el riesgo de contaminación y el mayor riesgo de contaminación está en los concentrados entre 9 a 11 días.

Estos resultados obtenidos por el análisis de los estadísticos de tendencia central y de dispersión en los cultivos positivos dados por las pruebas de tamizaje, se aproximan y complementan los puntos de corte obtenidos por los estadísticos del Índice de Youden y la Curva de ROC que se analizan más adelante.

Gráfico 2. Puntos de corte donde los métodos alcanzan su máxima sensibilidad y especificidad para predecir contaminación bacteriana. Servicio de Transfusiones.

Septiembre del 2021 a mayo del año 2022.



Fuente: Datos obtenidos de la investigación por el cálculo del índice de Youden y Curva de ROC

El gráfico 2 y anexo 2, muestra los puntos de corte donde las pruebas de tamizaje (pH y glucosa) de la tira reactiva alcanzan su máxima sensibilidad y especificidad para discriminar entre concentrado de plaquetas contaminadas o no contaminadas. Para este cálculo, se tomó como patrón de referencia el cultivo y mediante la determinación de la curva ROC (Receiver Operating Characteristic, o Característica Operativa del Receptor) y el cálculo del estadístico de Índice de Youden se ubicaron las coordenadas de concentración donde los métodos de tamizaje ensayados alcanzaron su máxima sensibilidad y especificidad.

Se entiende como sensibilidad (S) la capacidad que tiene la prueba de tamizaje para dar positivo cuando hay contaminación bacteriana del concentrado de plaquetas.

La especificidad (E) es la capacidad que tiene la prueba de tamizaje para dar negativo cuando no hay contaminación bacteriana en el concentrado de plaquetas.

El gráfico 2 nos muestra que, para la prueba de pH, el punto de corte fue de 6,3. Con este punto de corte, esta prueba alcanza una sensibilidad de 84,6% y especificidad de 50,3%.

El punto de corte para la determinación de glucosa por la tira reactiva fue de 75 mg/dl. Con este punto de corte la sensibilidad alcanzada por la prueba fue de 46,1% con una especificidad de 45,6%.

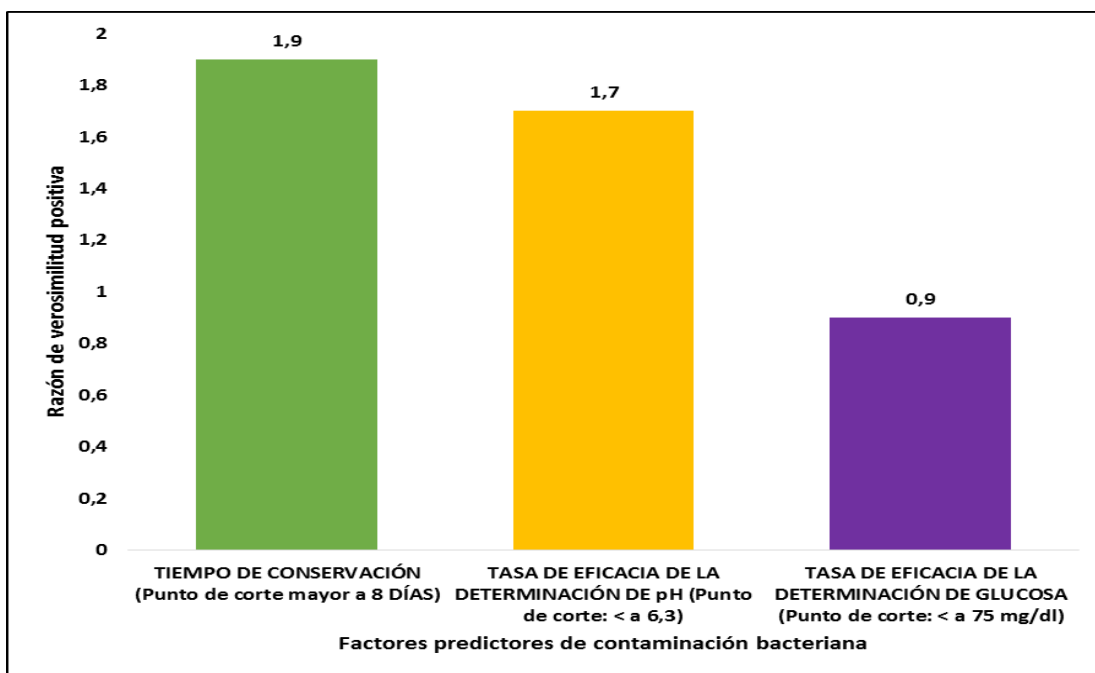
El tiempo a un punto de corte mayor a 8 días, la sensibilidad fue de 92,3% y especificidad de 51,3%.

Tabla 3. Tasas de eficacia individuales de los métodos. Servicio de Transfusiones.
Hospital Petrolero. Septiembre del 2021 a mayo del año 2022.

TIEMPO DE CONSERVACIÓN (Punto de corte mayor a 8 DÍAS)	VALOR	INTERVALO DE CONFIANZA AL 95%	
Sensibilidad (%)	92,3	88,4	92,2
Especificidad (%)	51,3	50,9	51,6
Valor predictivo + (%)	11,2	10,7	11,7
Valor predictivo - (%)	99,0	98,5	99,5
Razón de verosimilitud +	1,9	1,9	2,0
Razón de verosimilitud -	0,3	0,3	0,3
TASA DE EFICACIA DE LA DETERMINACIÓN DE pH (Punto de corte: < a 6,3)	VALOR	INTERVALO DE CONFIANZA AL 95%	
Sensibilidad (%)	84,6	80,6	88,6
Especificidad (%)	50,3	49,9	50,6
Valor predictivo + (%)	10,2	9,7	10,7
Valor predictivo - (%)	98	97,5	98,5
Razón de verosimilitud +	1,7	1,7	1,7
Razón de verosimilitud -	0,3	0,3	0,3
TASA DE EFICACIA DE LA DETERMINACIÓN DE GLUCOSA (Punto de corte: < a 75 mg/dl)	VALOR	INTERVALO DE CONFIANZA AL 95%	
Sensibilidad (%)	46,2	42,1	50,2
Especificidad (%)	45,6	45,3	45,9
Valor predictivo + (%)	5,4	4,9	5,8
Valor predictivo - (%)	92,7	92,2	93,3
Razón de verosimilitud +	0,9	0,9	0,9
Razón de verosimilitud -	1,2	1,2	1,2

Fuente: Elaboración propia

Gráfico 3. Valores predictivos positivos de los factores predictores de contaminación bacteriana. Servicio de Transfusiones. Hospital Petrolero. Septiembre del 2021 a mayo del año 2022.



Fuente: Tabla 3

En la tabla 3, gráfico 3 y anexo 3 al 4, observamos las tasas de eficacia en términos de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo, razón de verosimilitud positiva y negativa de cada uno de los analitos de tamizaje medidos por la tira reactiva de orina.

El concepto de sensibilidad y especificidad ya lo aclaramos. Pero, existen otros parámetros de eficacia como ser el valor predictivo positivo (VPP+) que nos indica la probabilidad que un concentrado de plaquetas este contaminado cuando el resultado de la prueba de tamizaje sale positivo.

El valor predictivo negativo (VPP-) nos indica la probabilidad que un concentrado de plaquetas no este contaminado cuando el resultado de la prueba de tamizaje sale negativo. El “problema” de los valores predictivos es que dependen de la prevalencia de la enfermedad en este caso de la prevalencia de contaminación de concentrado de plaquetas. A mayor prevalencia, se incrementa el VPP+ y

disminuye el VPP-. A menor prevalencia como en el caso de esta investigación (6,3%), se incrementa el VPP- y disminuye el VPP+.

Lo destacable de estos resultados en función del valor predictivo negativo es que todas las pruebas de tamizaje y el tiempo con los puntos de corte descritos tienen porcentajes elevados: tiempo mayor a 8 días (99%), pH menor a 6,3 (98%) y glucosa menor a 75 mg/dl (92,7%). Por lo que cuando el resultado de las pruebas sale negativo la probabilidad de “ausencia de contaminación” en los concentrados de plaquetas está entre 93 a 99%.

Como veremos más adelante, cuando los que se analizan en paralelo las pruebas de tamizaje y el tiempo, se incrementa grandemente el valor predictivo negativo (99,9%) y la RV+ (que mide paralelamente la sensibilidad y especificidad) se incrementan a 2,7.

La razón de verosimilitud positiva (RV+) y razón de verosimilitud negativa (RV-) mide cuánto más probable es un resultado concreto (positivo o negativo) según la presencia o ausencia de la contaminación del concentrado de plaquetas.

Entre más alta sea la RV+ para una prueba positiva, mejor es la prueba o factor para identificar la contaminación y, entre más baja la RV- para una prueba negativa, mejor es la prueba o el factor para excluir la contaminación.

En este sentido, en la tabla y gráfico 3 vemos las tasas de eficacia analizadas individualmente en función de la RV+ de cada una de las pruebas determinadas por la tira reactiva y el tiempo de conservación.

La RV+ que mide la eficacia de los métodos en función de la sensibilidad y especificidad de los métodos sin ser influenciado por la prevalencia de la enfermedad y cuya fórmula es:

RV (+) : $\frac{\text{Prob. de un resultado positivo en los enfermos}}{\text{Prob. de un resultado positivo en los no enfermos}}$

$$\text{RV}(+) = \frac{a/a+c}{b/b+d} = \frac{S}{(1-E)}$$

RV (-) : $\frac{\text{Prob. de un resultado negativo en los enfermos}}{\text{Prob. de un resultado negativo en los no enfermos}}$

$$\text{RV}(-) = \frac{c/a+c}{d/d+b} = \frac{1-S}{E}$$

En la tabla y gráfico 3 vemos que la RV+ para el tiempo de conservación mayor a 8 días que obtuvo una RV+ de 1,9 ósea 2, por lo que cuando el tiempo de conservación es superior a 8 días es 2 veces más probable la contaminación.

La prueba de pH menor a 6,3 con una RV+ de 1,7 ósea 2 que también indica una probabilidad de contaminación de 2 cuando el resultado de la medición de pH es menor a 6,3.

Finalmente, la prueba de glucosa dio una RV+ de solo 0,9 que implicaría que esta prueba por sí sola no tiene capacidad de detección de casos positivos o casos negativos por su baja sensibilidad y especificidad.

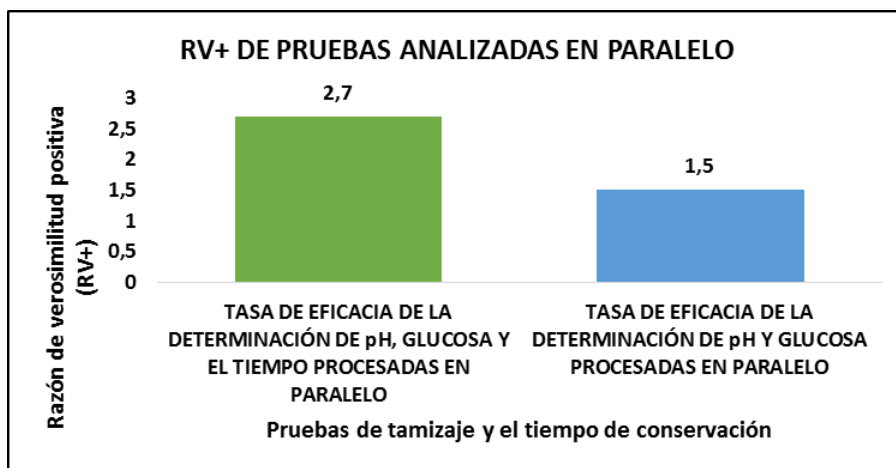
La razón de verosimilitud negativa para todas las pruebas (excepto la glucosa) y el tiempo fue de 0,3. Este valor nos indica que es 3,3 veces más probable ($1/0,3=3,3$) la ausencia de contaminación cuando el resultado de la medición de las pruebas de tamizaje es negativo o el tiempo de conservación del concentrado de plaquetas es menor a 8 días.

Tabla 4. Tasas de eficacia de los métodos cuando se ensayan en paralelo. Servicio de Transfusiones. Hospital Petrolero. Septiembre del 2021 a mayo del año 2022.

TASA DE EFICACIA DE LA DETERMINACIÓN DE pH Y GLUCOSA PROCESADAS EN PARALELO	VALOR
Sensibilidad (%)	39,1
Especificidad (%)	72,9
Valor predictivo + (%)	0,1
Valor predictivo - (%)	99,9
Razón de verosimilitud +	1,5
Razón de verosimilitud -	0,8
TASA DE EFICACIA DE LA DETERMINACIÓN DE pH, GLUCOSA Y EL TIEMPO PROCESADAS EN PARALELO	VALOR
Sensibilidad (%)	36,1
Especificidad (%)	86,8
Valor predictivo + (%)	1,1
Valor predictivo - (%)	99,9
Razón de verosimilitud +	2,7
Razón de verosimilitud -	0,7

Fuente: Elaboración propia

Gráfico 4. Tasas de eficacia de los métodos cuando se ensayan en paralelo. Servicio de Transfusión. Hospital Petrolero. Septiembre del 2021 a mayo del año 2022.



Fuente: Tabla 4

Dado que cuando se utiliza la tira reactiva como método rápido de tamizaje, este permite medir al mismo tiempo los parámetros de pH y glucosa por lo que a la hora de hacer una evaluación de la capacidad diagnóstica, se tienen que calcular la capacidad diagnóstica de los 2 parámetros ensayados en paralelo.

En este sentido ya tomando solo los criterios del cálculo de la razón de verosimilitud positiva y negativa que como dijimos es la mejor medida de exactitud que se prefiere cuando se quiere comparar métodos diagnósticos diferentes debido a que este estadístico no es influenciado por la prevalencia de la patología investigada en este caso de la prevalencia de contaminación bacteriana del concentrado de plaquetas. Otro elemento a favor de este estadístico es que analiza al mismo tiempo la sensibilidad y especificidad de los métodos.

En la tabla 4, gráfico 4 y anexo 5, vemos el análisis en paralelo de las pruebas de pH, glucosa y el tiempo de conservación de los concentrados de plaquetas.

La RV+ para las pruebas de pH < a 6,3 y glucosa < a 75 mg/dl. La RV+ fue de 1,5 ósea 2 por lo que es 2 veces más probable la contaminación del concentrado de plaquetas cuando los resultados de las pruebas están fuera de los parámetros de referencia.

El valor predictivo positivo (VP-) fue de 99,9%. Esto nos indica que cuando el resultado de las pruebas es negativo la probabilidad de ausencia de contaminación del concentrado de plaquetas es cercana al 100%. Este estadístico junto con la RV+ son los más valiosos ya que la prevalencia de contaminación de los concentrados de plaquetas es baja (6,3%).

La razón de verosimilitud negativa para estas pruebas fue de 0,8. Este valor nos indica que es 1,3 veces más probable ($1/0,8=1,3$) la ausencia de contaminación cuando el resultado de la medición de las pruebas de tamizaje es negativo.

La tabla y gráfico 4 muestra también como se incrementa la RV+ cuando se incluye el análisis de las pruebas de tamizaje el análisis del tiempo de

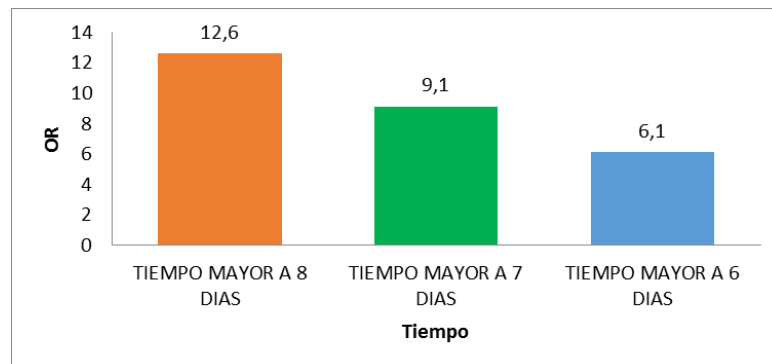
conservación mayor a 8 días como factor de riesgo de contaminación. La $RV+$ para esta combinación fue de 2,7 ósea 3; por lo mismo, es 3 veces más probable la contaminación del concentrado de plaquetas cuando los resultados de las pruebas están fuera de los parámetros de referencia y el tiempo de conservación del concentrado es mayor a 8 días. Se mantuvo el valor predictivo negativo (99,9% y la razón de verosimilitud negativa fue de 0,7.

Tabla 5. Grado de asociación entre el tiempo de almacenamiento y el riesgo de contaminación bacteriana en el CP. Servicio de Transfusión. Hospital Petrolero. Septiembre del 2021 a mayo del año 2022.

TIEMPO MAYOR O IGUAL A 8 DIAS		CULTIVO		Total
		Cultivo positivo	Cultivo negativo	
Si	Frecuencia	12	95	107
	% del total	5,8%	45,7%	51,4%
No	Frecuencia	1	100	101
	% del total	0,1%	48,1%	48,6%
Total	Frecuencia	13	195	208
	% del total	6,3%	93,8%	100,0%
Chi ² :9,2705; p: 0,0023; OR: 12,6 IC al 95% (1,6-99,0)				
TIEMPO MAYOR O IGUAL A 7 DIAS		CULTIVO		Total
		Cultivo positivo	Cultivo negativo	
Si	Frecuencia	12	111	123
	% del total	5,8%	53,4%	59,1%
No	Frecuencia	1	84	85
	% del total	0,1%	40,8%	40,9%
Total	Frecuencia	13	195	208
	% del total	6,3%	93,8%	100,0%
Chi ² :6,3146; p: 0,0120; OR: 9,1 IC al 95% (1,2-71,2)				
TIEMPO MAYOR O IGUAL A 6 DIAS		CULTIVO		Total
		Cultivo positivo	Cultivo negativo	
Si	Frecuencia	12	129	141
	% del total	5,8%	62,0%	67,8%
No	Frecuencia	1	66	67
	% del total	0,5%	31,7%	32,2%
Total	Frecuencia	13	195	208
	% del total	6,3%	93,8%	100,0%
Chi ² :3,8178; p: 0,0507; OR: 6,1 IC al 95% (0,7-71,2)				
TIEMPO MAYOR O IGUAL A 5 DIAS		CULTIVO		Total
		Cultivo positivo	Cultivo negativo	
Si	Frecuencia	12	147	159
	% del total	5,8%	70,7%	76,4%
No	Frecuencia	1	48	49
	% del total	0,5%	23,1%	23,6%
Total	Frecuencia	13	195	208
	% del total	6,3%	93,8%	100,0%
Chi ² :1,9382; p:0,1639				

Fuente: Elaboración propia

Gráfico 5. Grado de asociación entre el tiempo de almacenamiento y el riesgo de contaminación bacteriana en el CP. Servicio de Transfusiones. Hospital Petrolero. Septiembre del 2021 a mayo del año 2022.



Fuente: Tabla 5

En la tabla 5, Grafico 5 y anexo 6 al 7, vemos que existe asociación estadística entre el tiempo de almacenaje del CP y la contaminación bacteriana del CP. Este resultado nos indica que a mayor tiempo de almacenamiento el riesgo de contaminación se incrementa.

Para un tiempo de almacenamiento igual o mayor a 8 días, el p valor del χ^2 fue de 0,0023 y la razón de productos cruzados (OR) puntual fue de 12,6 e intervalo de confianza al 95% de confiabilidad el OR puntual estuvo entre 1,6 a 99,0. Este resultado indica que es 13 veces más probable la contaminación bacteriana del CP cuando el tiempo de almacenamiento es mayor a 8 días y con una confiabilidad del 95% esta probabilidad puede ser tan baja como 2 o tan alta como 99 veces más probable.

Para un tiempo de almacenamiento igual o mayor a 7 días, el p valor del χ^2 fue de 0,0120 y la razón de productos cruzados (OR) puntual fue de 9,1 e intervalo de confianza al 95% de confiabilidad el OR puntual estuvo entre 1,2 a 71,2. Este resultado indica que es 9 veces más probable la contaminación bacteriana del CP cuando el tiempo de almacenamiento es mayor a 7 días y con una confiabilidad del 95% esta probabilidad puede ser tan baja como 2 o tan alta como 99 veces más probable.

Para un tiempo de almacenamiento igual o mayor a 6 días, el p valor del Chi² fue de 0,0507 y la razón de productos cruzados (OR) puntual fue de 6,1 e intervalo de confianza al 95% de confiabilidad el OR puntual estuvo entre 0,8 a 48,2. Este resultado indica que es 6 veces más probable la contaminación bacteriana del CP cuando el tiempo de almacenamiento es mayor a 6 días y con una confiabilidad del 95% esta probabilidad puede ser tan baja como 1 o tan alta como 48 veces más probable.

No se encontró asociación estadística entre el tiempo de conservación igual o mayor a 5 días y la contaminación bacteriana (p: 0,1639).

Según este estadístico, el riesgo de contaminación comienza a partir del sexto día de conservación del concentrado de plaquetas.

11. DISCUSIÓN

La contaminación bacteriana en componentes sanguíneos es más frecuente en los concentrados plaquetarios debido a que su conservación se hace a temperatura ambiente de 20 a 24°C.

En nuestra investigación, encontramos una prevalencia de contaminación de 6%. Otras investigaciones indican prevalencias más bajas como Morel P, et al (Morel, 2000), que indica una contaminación de 0,5% a 0,05%. Otros estudios como el de Benjamin RJ, et al (Benjamin, 2008), indican prevalencias muy bajas como de 1 en 1036 (0,01%). Por su parte, un estudio desarrollado en Canadá, en 2 bancos sangre, Héma-Québec y Canadian Blood Services, indican prevalencias de contaminación bacteriana de 0,09% y 0,07% respectivamente (Ramirez-Arcos, 2007). Kleinman SH, et al (Kleinman, 2006), indicó que la tasa de detecciones positivas verdaderas del cultivo de 122 971 concentrados de plaquetas fue del 0,017 %. Brecher ME, et al (Brecher, 2004), señala también que la tasa de contaminación bacteriana en concentrados de plaquetas esta en 1:1000 a 1:2000 unidades de plaquetas ósea 0,1% a 0,05%. Murphy WG, et al (Murphy, 2008), señala que la tasa de contaminación en concentrados de plaquetas vigentes fue de 0,08%. Todos estos estudios coinciden en que las tasas de contaminación bacteriana en concentrados de plaquetas son un hecho, pero las tasas de contaminación son bajas y están entre 0,01% a 0,09% muy inferiores a los encontrados en nuestro estudio. Esto nos sugiere que se deben proseguir y mejorar los controles rutinarios para evaluar abarcar un mayor tamaño de muestras tomando mayor precaución en la etapa pre analítica y minimizar los falsos positivos.

Respecto a los agentes etiológicos en la presente investigación se identificaron solo cocos grampositivos como: *Staphylococcus aureus* (1,9%), *Staphylococcus epidermidis* (3,4%) y *Staphylococcus saprophyticus* (1%). Considerando solo los 13 casos positivos tendíamos en primer lugar a *S. epidermidis* (53,8%), *S. aureus* (30,8%) y *S. saprophyticus* (15,4%).

Otras investigaciones, señalan los siguientes agentes etiológicos involucrados en la contaminación de concentrados de plaquetas que incluyen al *Staphylococcus spp* (42%), *Streptococcus spp* (12%), *Escherichia coli* (9%), *Bacillus spp* (9%), *Salmonella spp* (9%), *Serratia spp* (8%), *Enterobacter spp* (7%) y otros organismos (4%). Alrededor del 56% de los organismos son gram positivos y la mayoría aerobios (MA, 2005) (MR,2012).

Nuestros resultados coinciden con estos estudios en señalar que los principales agentes etiológicos son cocos grampositivos del género *Staphylococcus*. Según se señala en otras investigaciones que investigaron las fuentes de estos microorganismos, estas fuentes serían exógenas donde la 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, los que pueden ingresar a la bolsa de extracción cuando el sitio de punción venosa no fue sometido a un procedimiento adecuado de asepsia, o bien causados por factores que escapan al proceso de asepsia dérmica (Blajchman, 2001- Sandra, 2004 - - Jr, 2005).

Es importante detectar concentrados plaquetarios contaminados con bacterias, para lo cual el uso de tirillas reactivas de orina resulta un método económico, rápido y de fácil aplicación.

En este estudio evaluamos la posibilidad de adaptarlo a nuestro hospital y evaluamos mediante cultivo y la tira reactiva a 208 concentrados plaquetarios de los cuales 13 mostraron desarrollo bacteriano y cultivo positivo.

Los puntos de corte donde los test de la tira reactiva pH y glucosa alcanzaban su máxima sensibilidad y especificidad para identificar contaminación bacteriana fueron: pH < 6,3; glucosa < 65 mg/dl.

La sensibilidad y especificidad para el pH fue de 84,6% y 51,3% respectivamente. El valor predictivo positivo y negativo fue de 10,2% y 98% respectivamente. La razón de verosimilitud positiva y negativa fue de 1,7 y 0,3 respectivamente.

Para la glucosa en tira reactiva la sensibilidad y especificidad fue de 46,2% y 45,6% respectivamente. El valor predictivo positivo y negativo fue de 5,4% y 92,7% respectivamente. La razón de verosimilitud positiva y negativa fue de 0,9 y 1,2 respectivamente.

Se consideró también al tiempo de almacenamiento como variable diagnóstica y en este caso el punto de corte calculado fue desde 6 a 8 días alcanzándose una mayor tasa de eficacia a los 8 días. La sensibilidad y especificidad fue de 92,3% y 51,3% respectivamente. El valor predictivo positivo y negativo fue de 11,2% y 99,0% respectivamente. La razón de verosimilitud positiva y negativa fue de 1,7 y 1,2 respectivamente.

Analizando en paralelo el pH, la glucosa y el tiempo se mejoró en la capacidad diagnóstica en la especificidad (86,8%), el valor predictivo negativo (99,9%) y la razón de verosimilitud positiva (2,7) y razón de verosimilitud negativa (0,7).

Según estos resultados las pruebas de pH y glucosa de la tira reactiva tienen mayor utilidad cuando se analizan los resultados en paralelo y tomando en cuenta la variable tiempo que según es estadístico χ^2 y OR el riesgo de contaminación se presenta desde el 6to día siendo mayor a los 8 días. Por lo mismo estas pruebas tienen mayor utilidad para descartar una posible contaminación ya que si da negativo la probabilidad que el concentrado de plaquetas no está contaminado es de 99,9%.

Otras investigaciones similares, tomaron como puntos de corte para el pH de $< 6,0$ y para la glucosa de < 200 mg/dl (Burstain, 1997- Vasquez, 2005).

En estos estudios los concentrados de plaquetas se inocularon con solución salina estéril o suspensiones de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Serratia marcescens* hasta una concentración final de 50 unidades formadoras de colonias (UFC) por ml. Las plaquetas se analizaron diariamente mediante el uso de tiras reactivas múltiples, cultivo cuantitativo y glucometría.

Este ensayo clínico controlado encontró una sensibilidad y especificidad de la tira reactiva y sus componentes de pH y glucosa de 95% y 98% respectivamente.

La diferencia con nuestro estudio es que se ensayaron los parámetros de la tira reactiva en condiciones reales de procesamiento y almacenamiento.

Respecto al tiempo, diversos estudios indican que a mayor tiempo de almacenamiento se incrementaba la positividad de los concentrados. Vázquez J, et al (Vasquez, 2005) y Murphy WG, et al (Murphy, 2008) indican que los mayores desarrollos bacterianos del CP se dieron al 4to y 5to día. Morrow JF, et al (Morrow, 1991), indica que los CP almacenados durante 5 días dieron como resultado una incidencia de sepsis cinco veces mayor que los almacenados durante 4 días o menos con un p valor del Chi^2 de 0,01. En nuestra investigación, obtuvimos un p valor menor a 0,05 desde el día 6 hasta el 8vo día siendo el OR de 6,1 para el 6to día, OR de 9,1 para el 7mo día y 12,6 para el 8vo día.

La estrategia de aplicación de nuestros resultados sería que a todos los concentrados plaquetarios se mida la concentración de pH y glucosa y si estos resultan alterados en la tirilla reactiva no transfundir los concentrados plaquetarios y enviarlos para cultivo lo que daría seguridad en las transfusiones y minimizaría los costos del cultivo.

12. CONCLUSIONES

1. La prevalencia de contaminación bacteriana del concentrado de plaquetas fue de 6%. Los agentes etiológicos más frecuentes fueron *Staphylococcus epidermidis* (3,4%), *Staphylococcus aureus* (1,9%) y *Staphylococcus saprophyticus* (1,0%).

2. Los valores de referencia calculados por el t de student al 95% de confiabilidad de las pruebas de pH y glucosa fueron: pH (6,6-6,8); glucosa (220,7-316,8 mg/dl) y el tiempo de almacenamiento calculado por el Chi² y OR fue de menor a 5 días.

3. Los puntos de corte donde los métodos de tira reactiva pH y glucosa alcanzan su máxima sensibilidad y especificidad para detectar contaminación bacteriana fueron de $< o = a 6,3$ y $< o = a 75$ mg/dl.

5. La sensibilidad y especificidad para el pH fue de 84,6% y 51,3% respectivamente. El valor predictivo positivo y negativo fue de 10,2% y 98% respectivamente. La razón de verosimilitud positiva y negativa fue de 1,7 y 0,3 respectivamente.

Para la glucosa en tira reactiva la sensibilidad y especificidad fue de 46,2% y 45,6% respectivamente. El valor predictivo positivo y negativo fue de 5,4% y 92,7% respectivamente. La razón de verosimilitud positiva y negativa fue de 0,9 y 1,2 respectivamente.

La sensibilidad y especificidad de la variable tiempo para un punto de corte de 8 días fue de 92,3% y 51,3% respectivamente. El valor predictivo positivo y negativo fue de 11,2% y 99,0% respectivamente. La razón de verosimilitud positiva y negativa fue de 1,7 y 1,2 respectivamente.

5. Analizando en paralelo el pH, la glucosa y el tiempo se mejoró en la capacidad diagnóstica en la especificidad (86,8%), el valor predictivo negativo (99,9%) y la razón de verosimilitud positiva (2,7) y razón de verosimilitud negativa (0,7).

6. Hubo asociación estadísticamente significativa entre el tiempo y la contaminación bacteriana encontrándose riesgo de contaminación a partir del sexto día por lo que el tiempo máximo de almacenamiento del concentrado de plaquetas debería ser hasta los 5 días.

13. RECOMENDACIONES

1. En función de los resultados obtenidos y a la bibliografía consultada, recomendamos que, en nuestro Hospital, antes de la transfusión del CP, se aplique el método de la tira reactiva a los concentrados de plaquetas. Si sale alterado no transfundir y realizar un cultivo de control.

2. Realizar un control rutinario de concentrado de plaquetas de 2 y 5 días. Si el resultado sale alterado, no transfundir y realizar cultivo del concentrado de plaquetas.

3. Se recomienda que CP puede ser transfundido sin control de tira reactivo o cultivo cuando tenga solo 12 horas de haber sido obtenido.

4. Debido a que la contaminación bacteriana que se presenta en los componentes sanguíneos está relacionada con diferentes factores como, equipos de colecta contaminados, temperatura de almacenamiento, contaminación que se adquiere al momento del proceso y con mayor frecuencia la asepsia en el momento de la venopunción. Por lo mismo recomendamos una mejor desinfección del brazo del donante y cumplimiento de las normas de bioseguridad además de un control estricto de las variables relacionadas que según la bibliografía están relacionadas con la contaminación del CP.

Desarrollar también una hemovigilancia activa y documentación de las reacciones adversas en receptores de unidades potencialmente contaminadas. Los esfuerzos también deben dirigirse a identificar a los donantes de sangre con un riesgo significativo de bacteriemia, en el momento de la donación.

5. El Servicio de Transfusión y el Hospital de la Caja Petrolera deben de desarrollar un manual de control de calidad microbiológico de concentrado de plaquetas.

6. Promover la adquisición de equipos de hemocultivos automatizados como el Bact/Alert para mejorar la sensibilidad y tiempo de detección de contaminación bacteriana.

7. Promover la compra de equipos para la implementación de sistemas reducción de patógenos (PR) ya que proporciona un nivel de seguridad aún mayor con respecto a la transmisión bacteriana asociada a transfusiones. Aquí, la principal ventaja es el agotamiento simultáneo de patógenos potenciales, incluidas bacterias, muchos virus y parásitos.

BIBLIOGRAFÍA

Abela MA, Fenning S, Maguire KA, Morris KG. (2018). Bacterial contamination of platelet components not detected by BacT/ALERT® [Internet]. *Transfus Med.* Feb;28(1):65–70. [Fecha de acceso 19 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28875548/>

Achermann Y, Goldstein EJ, Coenye T, Shirtliff ME. (2014). Propionibacterium acnes: from commensal to opportunistic biofilm-associated implant pathogen. *Clin Microbiol Rev.* Jul;27(3):419–40.

Aguirre Anda JJ. (2016). Tesis: Evaluación de la eficacia y seguridad del plasma rico en plaquetas en factores de crecimiento en el tratamiento de las heridas cutáneas. Universidad del País Vasco.

Alves R, Grimalt R. (2018). Una revisión del plasma rico en plaquetas: Historia, biología, mecanismo de acción y clasificación. *Skin Appendage Disorders.* 4 (1): 18-24.

Aubron C, Flint AW, Ozier Y, McQuilten Z. (2018). Platelet storage duration and its clinical and transfusion outcomes: a systematic review [Internet]. *Crit Care.* Aug;22(1):185. [Fecha de acceso 14 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://ccforum.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13054-018-2114-x>

B BRD, J P, . EAWS. (2014). Cultivo bacteriano de plaquetas de aféresis: un modelo matemático de la tasa residual de contaminación basada en resultados positivos no confirmados. *Vox Sang.*106(1).

Benjamin RJ, Wagner SJ. (2008). The residual risk of sepsis: modeling the effect of concentration on bacterial detection in two-bottle culture systems and an estimation of false-negative culture rates [Internet]. *Transfusion.* Aug;47(8):1381–9. [Fecha de acceso 14 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17655581/>

Benjamin RJ, Kline L, Dy BA, Kennedy J, Pisciotto P, Sapatnekar S, Mercado R, Eder AF. (2008). Bacterial contamination of whole-blood-derived platelets: the introduction of sample diversion and prestorage pooling with culture testing in the American Red Cross [Internet]. *Transfusion*. Nov;48(11):2348-55. [Fecha de acceso 20 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18657074/>

Bertolini F, Murphy S. (1994). A multicenter evaluation of reproducibility of swirling in platelet concentrates. *Biomedical Excellence for Safer Transfusion (BEST) Working Party of the International Society of Blood Transfusion*. *Transfusion*. 34: 796-801.

Blajchman MA, Goldman M. (2001). Bacterial contamination of platelet concentrates: incidence, significance, and prevention [Internet]. *Semin Hematol*. Oct;38(4 Suppl 11):20-6. [Fecha de acceso 20 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11727282/>

BR, B D, R W, M L, AF E. (2010). La desinfección de la piel con un hisopo de clorhexidina al 2% en un solo paso es más eficaz que un método de povidona-yodo de dos pasos para prevenir la contaminación bacteriana de plaquetas de aféresis [Internet]. 51(3):531-8. [Fecha de acceso 21 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://www.medintensiva.org/es-tipos-antisepticos-presentaciones-normas-uso-articulo-S0210569118302754>

Brecher ME, Hay SN. (2004). Improving platelet safety: bacterial contamination of platelets [Internet]. *Curr Hematol Rep*. Mar;3(2):121-7. [Fecha de acceso 20 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14965488/>

Brecher ME, Hay SN, Rose AD, Rothenberg SJ. (2005). Evaluation of BacT/ALERT plastic culture bottles for use in testing pooled whole blood-derived leukoreduced platelet-rich plasma platelets with a single contaminated unit [Internet]. *Transfusion*. Sep;45(9):1512-7. [Fecha de acceso 19 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22845800/>

British Committee for Standards in Haematology, (2003). Blood Transfusion Task Force. Guidelines for the use of platelet transfusions. *Br J Haematol.* jul;122(1):10–23 [Fecha de acceso 29 de junio de 2023]. URL disponible en: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.2003.04468.x>[PubMed]0007-1048

Bruhn R, Custer B, Vanderpool S, Townsend M, Kamel H, Tomasulo P. (2015). Impact of increasing sample volume from 4 ml to 8 ml on bacterial detection rates in apheresis platelets: a meta-analysis [Internet]. *Vox Sang.* Apr;108(3):318–20. [Fecha de acceso 19 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25556667/>

Burstain JM, Brecher ME, Workman K et al. (1997). Rapid identification of bacterially contaminated platelets using reagent strips: glucose and Ph analysis as markers of bacterial metabolism. [Internet]. *Transfusion.* 37: 255-258. [Fecha de acceso 29 de junio de 2023]. URL disponible en: <https://doi.org/10.1046/j.1537-2995.1997.37397240205>

Burstain JM, Brecher ME, Workman K, Foster M, Faber GH, Mair D. (1997). Rapid identification of bacterially contaminated platelets using reagent strips: glucose and pH analysis as markers of bacterial metabolism [Internet]. *Transfusion.* Mar;37(3):255-8. [Fecha de acceso 22 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9122896/>

Buelvas Ac. (2013). Contaminacion bacteriana de productos plaquetarios. *revista de asociacion colombiana de bancos de sangre y medicina transfusional.* 11(1):22-3.

Cazenave JP, Isola H, Waller C, Mendel I, Kientz D, Laforêt M, et al. (2011). Use of additive solutions and pathogen inactivation treatment of platelet components in a regional blood center: impact on patient outcomes and component utilization during a 3-year period [Internet]. *Transfusion.* Mar;51(3):622–9. [Fecha de acceso 19 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20849406/>

CE JMb, HM L, . YR. (2008). Relación entre la carga bacteriana, la virulencia de las especies y la reacción de transfusión con la transfusión de plaquetas contaminadas con bacterias [Internet]. Clin Infect Dis. 46(8):1214-22. [Fecha de acceso 21 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/gaceta/gm-2004/gms043ac.pdf>

Centers for Disease Control and Prevention. (2021). Bacterial Contamination of Platelets. Disponible en: <https://www.cdc.gov/bloodsafety/bbp/bacterial-contamination-of-platelets.html>

Centers for Disease Control and Prevention. (2022). Handling and Bacteriologic Work-up of Blood Components. Disponible en: <https://www.cdc.gov/bloodsafety/bbp/recommended-handling-bacteriologic-work-up.html>

Chatterjee K, Zaman S, Chaurasia R, Singh S, Keil SD, Tewari S, et al. (2016). Evaluation of Mirasol pathogen reduction system by artificially contaminating platelet concentrates with Staphylococcus epidermidis: A pilot study from India [Internet]. Asian journal of transfusion science. 10(2):127-31. [Fecha de acceso 21 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4993081/>

Corash L. (2011). Bacterial contamination of platelet components: potential solutions to prevent transfusion-related sepsis [Internet]. Expert Rev Hematol. Oct;4(5):509-25. [Fecha de acceso 20 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21939419/>

D C, Hillyer, D C, Josephson, Blajchman MA, Vostal JG, et al. (2003). Contaminación bacteriana de los componentes sanguíneos: riesgos, estrategias y regulación. ASH Education Book. 1(0):575-89.

Desroches M, Clermont O, Lafeuillade B, Rodriguez C, Darty M, Royer G, et al. (2018). Genotypic and phenotypic characteristics of Escherichia coli involved in transfusion-transmitted bacterial infections: implications for preventive strategies [Internet]. Transfusion. Aug;58(8):1940–50. [Fecha de acceso 14 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30198609/>

Domanović D, Cassini A, Bekeredjian-Ding I, Bokhorst A, Bouwknegt M, Facco G, et al. (2017). Prioritizing of bacterial infections transmitted through substances of human origin in Europe [Internet]. Transfusion. May;57(5):1311–7. [Fecha de acceso 19 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28236291/>

Dreier J, Vollmer T, Kleesiek K. (2009). Novel flow cytometry-based screening for bacterial contamination of donor platelet preparations compared with other rapid screening methods [Internet]. Clin Chem. Aug;55(8):1492–502. [Fecha de acceso 19 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19498052/>

Dumont LJ, Kleinman S, Murphy JR, Lippincott R, Schuyler R, Houghton J, et al. (2010). Screening of single-donor apheresis platelets for bacterial contamination: the PASSPORT study results [Internet]. Transfusion. Mar;50(3):589–99. [Fecha de acceso 19 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19929862/>

Dumont LJ, Kleinman S, Murphy JR, Lippincott R, Schuyler R, Houghton J, et al. (2010). Screening of single-donor apheresis platelets for bacterial contamination: the PASSPORT study results. Transfusion. [Internet]. Mar;50(3):589–99. [Fecha de acceso 18 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19929862/>

Duke WW. (1983). The relation of blood platelets to hemorrhagic disease. [Internet]. By W.W. Duke. JAMA. Sep;250(9):1201–9. [Fecha de acceso 29 de

junio de 2023]. URL disponible en:
[https://doi.org/10.1001/jama.1983.03340090057031\[PubMed\]0098-7484](https://doi.org/10.1001/jama.1983.03340090057031[PubMed]0098-7484)

Escamilla Cardeñosa M. (2016). Tesis doctoral: Eficacia y seguridad del plasma rico en plaquetas en pacientes con úlceras de etiología venosa. Universidad de Sevilla.

Escamilla G. (2010). Lesiones de almacenamiento [Internet]. Rev Mex Med Tran. 3(1):48-54. [Fecha de acceso 29 de junio de 2023]. URL disponible en:
<https://www.medigraphic.com/pdfs/transfusional/mt-2010/mts101h.pdf>

F A, V A, G O, C F, AR A. (1994). Contaminación bacteriana de los concentrados de plaquetas [Internet]. Sangre (Barc). 41(6):483-4. [Fecha de acceso 21 de julio de 2023]. URL disponible en:
<https://bibliotecadigital.usb.edu.co/server/api/core/bitstreams/93cbaafe-69a7-4557-88ea-e0699a0f5c30/content>

Feng P, Keasler SP, Hill WE. (1992). Direct identification of *Yersinia enterocolitica* in blood by polymerase chain reaction amplification. Transfusion. 32: 850-854.

Fitzgerald JR, Foster TJ, Cox D. (2006). The interaction of bacterial pathogens with platelets [Internet]. Nat Rev Microbiol. Jun;4(6):445–57. [Fecha de acceso 19 de julio de 2023]. URL disponible en:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16710325/>

Flint A, Aubron C, Bailey M, Bellomo R, Pilcher D, Cheng AC, et (2017). AI Duration of platelet storage and outcomes of critically ill patients [Internet]. Transfusion. Mar;57(3):599–605. [Fecha de acceso 18 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28297080/>

Fuller AK, Ugluk KM, Savage WJ, Ness PM, King KE. (2009). Bacterial culture reduces but does not eliminate the risk of septic transfusion reactions to single-

donor platelets [Internet]. *Transfusion*. Dec;49(12):2588-93. [Fecha de acceso 20 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19694995/>

Funk MB, Heiden M, Volkers P, Lohmann A, Keller-Stanislawski B. (2015). Evaluation of Risk Minimisation Measures for Blood Components - Based on Reporting Rates of Transfusion-Transmitted Reactions (1997-2013). [Internet]. *Transfus Med Hemother*. Jul;42(4):240–6. [Fecha de acceso 18 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4569212/>

George, J. (2000). Platelets. *Lancet* 355:1531-1539.

Gershman MD, Kennedy DJ, Noble-Wang J, Kim C, Gullion J, Kacica M, et al; (2008). *Pseudomonas fluorescens* Investigation Team. Multistate outbreak of *Pseudomonas fluorescens* bloodstream infection after exposure to contaminated heparinized saline flush prepared by a compounding pharmacy [Internet]. *Clin Infect Dis*. Dec;47(11):1372-9. [Fecha de acceso 22 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18937575/>

Greco C, Martincic I, Gusinjac A, Kalab M, Yang AF, Ramírez-Arcos S. (2007). *Staphylococcus epidermidis* forms biofilms under simulated platelet storage conditions [Internet]. *Transfusion*. Jul;47(7):1143–53. [Fecha de acceso 19 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17581148/>

Hong H, Xiao W, Lazarus HM, Good CE, Maitta RW, Jacobs MR. (2016). Detection of septic transfusion reactions to platelet transfusions by active and passive surveillance [Internet]. *Blood*. Jan;127(4):496–502. [Fecha de acceso 22 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26598718/>

Horth RZ, Jones JM, Kim JJ, Lopansri BK, Ilstrup SJ, Fridey J, et al. (2018). Fatal Sepsis Associated with Bacterial Contamination of Platelets - Utah and California, August 2017 [Internet]. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. Jun;67(25):718–22. [Fecha de acceso 19 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29953428/>

Instituto Nacional Materno Perinatal. (2010). Guías de Práctica Clínica en Obstetricia y Perinatología. Lima: INMP.

Irsch J, Lin L. (2011). Pathogen Inactivation of Platelet and Plasma Blood Components for Transfusion Using the INTERCEPT Blood System™ [Internet]. Transfus Med Hemother. 38(1):19–31. [Fecha de acceso 19 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21779203/>

JC, S R-A, M.G., DD. (2011). Contaminación bacteriana en las plaquetas: las mejoras incrementales disminuyen, pero no eliminan el riesgo. Transfusión med. 51(12):255-65

JC, S R-A, M G. DD. (2011). Contaminación bacteriana en las plaquetas: las mejoras incrementales disminuyen, pero no eliminan el riesgo [Internet]. Transfusión med. 51(12):255-65. [Fecha de acceso 21 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://bibliotecadigital.usb.edu.co/server/api/core/bitstreams/93cbaafe-69a7-4557-88ea-e0699a0f5c30/content>

Jr DW, L I, LD. (2005). Validación interna del sistema de cultivo de sangre BACTEC 9240 para la detección de contaminación bacteriana en concentrados de plaquetas. [Internet]. Transfusión med. 45(7):1138-42. [Fecha de acceso 21 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15987359/>

Jutzi M, Mansouri Taleghani B, Rueesch M, Amsler L, Buser A. (2018). Nationwide Implementation of Pathogen Inactivation for All Platelet Concentrates in Switzerland [Internet]. Transfus Med Hemother. May;45(3):151–6. [Fecha de acceso 14 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29928168/>

Kamel H, Townsend M, Bravo M, Vassallo RR. (2017). Improved yield of minimal proportional sample volume platelet bacterial culture [Internet].

Transfusion. Oct;57(10):2413–9. [Fecha de acceso 19 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28643434/>

Klausen SS, Hervig T, Seghatchian J, Reikvam H. (2014). Bacterial contamination of blood components: Norwegian strategies in identifying donors with higher risk of inducing septic transfusion reactions in recipients [Internet]. Transfusion and Apheresis Science. 51(2):97-102. [Fecha de acceso 21 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25242310/>

Kleinman SH, Kamel HT, Harpool DR, Vanderpool SK, Custer B, Wiltbank TB, Nguyen KA, Tomasulo PA. (2006). Two-year experience with aerobic culturing of apheresis and whole blood-derived platelets [Internet]. Transfusion. Oct;46(10):1787-94. [Fecha de acceso 20 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17002636/>

Koch-Institut R. (2009). Festlegung der Haltbarkeitsfrist von Thrombozytenkonzentraten mit dem Ziel der Reduktion lebensbedrohlicher septischer Transfusionsreaktionen durch bakterielle Kontamination [Internet]. Robert Koch-Institut. [Fecha de acceso 14 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://edoc.rki.de/handle/176904/105>

Kreuger AL, Rostgaard K, Middelburg RA, Kerkhoffs JH, Edgren G, Erikstrup C, et al. (2018). Storage time of platelet concentrates and risk of a positive blood culture: a nationwide cohort study [Internet]. Transfusion. Jan;58(1):16–24. [Fecha de acceso 18 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29168187/>

Kuehnert MJ, Roth VR, Haley NR, Gregory KR, Elder KV, Schreiber GB, Arduino MJ, Holt SC, Carson LA, Banerjee SN, Jarvis WR. (2001). Transfusion-transmitted bacterial infection in the United States, 1998 through 2000. Transfusion [Internet]. Dec;41(12):1493-9. [Fecha de acceso 20 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11778062/>

Kwon SY, Kim IS, Bae JE, Kang JW, Cho YJ, Cho NS, et al. (2014). Pathogen inactivation efficacy of Mirasol PRT System and Intercept Blood System for non-leucoreduced platelet-rich plasma-derived platelets suspended in plasma [Internet]. Vox Sang. Oct;107(3):254–60. [Fecha de acceso 22 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24806328/>

Levy JH, Neal MD, Herman JH. (2018). Bacterial contamination of platelets for transfusion: strategies for prevention [Internet]. Crit Care. 22(1):271. [Fecha de acceso 21 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30367640/>

Lin CK LH. (2000). SISTEMA AUTOMATIZADO DE DETECCIÓN DE BACTERIAS EN las plaquetas [Internet]. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. 16(2). [Fecha de acceso 21 de julio de 2023]. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892000000200009

Liumbruno GM, y col. (2012). Autologous blood in obstetrics: where are we going now?, Blood Transf. 2:125-147.

Llau Pitarch JV, y col. (2010). Tratado de medicina transfusional perioperatoria.

Loza-Correa M, Kou Y, Taha M, Kalab M, Ronholm J, Schlievert PM, et al. (2017). Septic transfusion case caused by a platelet pool with visible clotting due to contamination with Staphylococcus aureus [Internet]. Transfusion. May;57(5):1299–303. [Fecha de acceso 19 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28205241/>

MA B, EA B, E D, L L, G M, L M. (2005). Detección bacteriana de plaquetas: problemas actuales y posibles soluciones [Internet]. Transfus Med Rev 19(4):259-72. [Fecha de acceso 21 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://bibliotecadigital.usb.edu.co/server/api/core/bitstreams/93cbaafe-69a7-4557-88ea-e0699a0f5c30/content>

Mamani Quispe, Dolores. (2019). “Conocimiento Sobre Transfusión de Sangre y Hemocomponentes En El Personal de Enfermería, Unidad de Cuidados Intensivos Adultos, Hospital Del Norte, El Alto, Tercer Trimestre 2019.” Repositorio - Universidad Mayor de San Andrés 5(48): 01–75. <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/QB879.pdf>.

Mann KG. (1999). Biochemistry and physiology of blood coagulation. *Thrombosis & Haemostasis* 82:165-174.

Marschner S, Goodrich R. (2011). Pathogen Reduction Technology Treatment of Platelets, Plasma and Whole Blood Using Riboflavin and UV Light [Internet]. *Transfus Med Hemother*. 38(1):8–18. [Fecha de acceso 19 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21779202/>

Matsuda M, Sugo T, Yoshida N, et al. (1999). Structure and function of fibrinogen: insights from dysfibrinogens. *Thrombosis & Haemostasis* 82:283-290.

McCarthy LR, Senne JE. (1980). Evaluation of acridine orange stain for detection of microorganisms in blood cultures. *J Clin Microbiol*. 11: 281-285.

McDonald C, Allen J, Brailsford S, Roy A, Ball J, Moule R, et al. (2017). Bacterial screening of platelet components by National Health Service Blood and Transplant, an effective risk reduction measure. *Transfusion*. May;57(5):1122–31.

McDonald CP, Hartley S, Orchard K, Hughes G, Brett MM, Hewitt PE, et al. (1998). Fatal *Clostridium perfringens* sepsis from a pooled platelet transfusion [Internet]. *Transfus Med*. Mar;8(1):19–22. [Fecha de acceso 19 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9569455/>

Media Vega Y. (2019). Donación y transfusión sanguínea, su historia.

Michel Alarcón, José. (2021). “Conocimientos del profesional de enfermería en el procedimiento de administración de hemocomponentes en la unidad de terapia intensiva del hospital municipal la merced en el tercer trimestre de la gestión 2019.” Repositorio UMSA 5(48): 01–115. <https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/25934/T-2902.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

Ministerio de Salud. (2018) Manual de procedimientos operativos de técnicas Inmunoematológicas efectuadas en servicios de sangre. La Paz.

Ministerio de Salud y Deportes. (2020). Actividades destacadas del programa nacional de sangre en la gestión 2020. La Paz: Programa Nacional de Sangre.

Mitchell TKM, Brecher ME. (1999). Approaches to the detection of bacterial contamination in cellular blood products. *Transfus Med Rev.* 13: 132-144.

Mohr H, Gravemann U, Bayer A, Müller TH. (2009). Sterilization of platelet concentrates at production scale by irradiation with short-wave ultraviolet light [Internet]. *Transfusion.* Sep;49(9):1956–63. [Fecha de acceso 22 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19497057/>

Morel P, Leconte des Floris MF, Bardiaux L, Pouthier F, Hervé P. (2000). Transfusion sanguine et risque bactérien [Blood transfusion and bacterial risk] [Internet]. *Transfus Clin Biol.* Jun;7 Suppl 1:55s-62s. [Fecha de acceso 20 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S124678200080018X>

Moreno R, Gaspar Carreño M, Jiménez Torres J, Alonso Herreros JM, Villimar A, et al. (2015). Técnicas de obtención de plasma rico en plaquetas y su empleo en terapéutica osteoinductora. *FarmHosp.* 39 (3): 130-136.

Morrow JF, Braine HG, Kickler TS, Ness PM, Dick JD, Fuller AK. (1991). Septic reactions to platelet transfusions. A persistent problema [Internet]. *JAMA.* Jul 24-

31;266(4):555-8. [Fecha de acceso 20 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2061984/>

Mosesson MW. (1998). Fibrinogen structure and fibrin clot assembly. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis* 24: 169-174.

MR J, D S, WA H, ND Z, CE G. G de P. (2012). Detección de contaminación bacteriana en plaquetas de aféresis con cultivo negativo antes del día de emisión con la prueba de detección de Pan Genera [Internet]. *Transfusión med.* 51(12):2573-82. [Fecha de acceso 21 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://bibliotecadigital.usb.edu.co/server/api/core/bitstreams/93cbaafe-69a7-4557-88ea-e0699a0f5c30/content>

Müller TH, Montag T, Seltsam AW. (2011). Laboratory Evaluation of the Effectiveness of Pathogen Reduction Procedures for Bacteria [Internet]. *Transfusion medicine and hemotherapy: offizielles Organ der Deutschen Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhamatologie.* 38(4):242-50. [Fecha de acceso 21 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22016694/>

Murphy WG, Foley M, Doherty C, Tierney G, Kinsella A, Salami A, Cadden E, Coakley P. (2008) Screening platelet concentrates for bacterial contamination: low numbers of bacteria and slow growth in contaminated units mandate an alternative approach to product safety [Internet]. *Vox Sang.* Jul;95(1):13-9. [Fecha de acceso 20 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18393945/>

Ness P, Braine H, King K, Barrasso C, Kickler T, Fuller A, Blades N. (2021). Single-donor platelets reduce the risk of septic platelet transfusion reactions. *Transfusion.* Jul;41(7):857-61. [Fecha de acceso 20 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11452152/>

OMS. (2001). *El uso clínico de la sangre.* Ginebra.

Palavecino EL, Yomtovian RA, Jacobs MR. (2010). Bacterial contamination of platelets [Internet]. *Transfus Apher Sci.* Feb;42(1):71-82. [Fecha de acceso 20 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19939734/>

Paredes Aspilcueta M. (2008). *Manual de hemoterapia*. Lima: Instituto Nacional Materno Perinatal.

Pearce S, Rowe GP, Field SP. (2011). Screening of platelets for bacterial contamination at the Welsh Blood Service [Internet]. *Transfus Med.* Feb;21(1):25–32. [Fecha de acceso 19 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20854460/>

Perez P, Salmi LR, Folléa G, Schmit JL, de Barbeyrac B, Sudre P, Salamon R; BACTHEM Group; French Haemovigilance Network. (2008). Determinants of transfusion-associated bacterial contamination: results of the French BACTHEM Case-Control Study [Internet]. *Transfusion.* Jul;41(7):862-72. [Fecha de acceso 20 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11452153/>

Pilar del Carmen Stael Hurtado Castro. (2009).“EMPLEO DE SANGRE ENTERA Y HEMOCOMPONENTES EN LAS TRANSFUSIONES EN DIFERENTES BANCOS DE SANGRE Y UNIDADES TRANSFUSIONALES DE LA CIUDAD DE LA PAZ Gestión 2008 – Primer Semestre Gestión 2009.” <https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/3708/TD-1764.pdf?sequence=1>.

Ramírez-Arcos S, Jenkins C, Dion J, Bernier F, Delage G, Goldman M. (2007). Canadian experience with detection of bacterial contamination in apheresis platelets [Internet]. *Transfusion.* Mar;47(3):421-9. [Fecha de acceso 20 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17319821/>

Ramirez-Arcos S, DiFranco C, McIntyre T, Goldman M. (2017). Residual risk of bacterial contamination of platelets: six years of experience with sterility testing [Internet]. *Transfusion*. Sep;57(9):2174–81. [Fecha de acceso 19 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28653472/>

Riestra AC, Alonso Herreros JM, Meraya Lloves J. (2016). Plasma rico en plaquetas en superficie ocular. *ArchSocespOftalmol*. 30: 1-15.

Rodak. (2004). *Hematología fundamentos y aplicaciones Clínicas*. 2.a edición. México: Editorial Médica Panamericana.

Rodríguez Moyado H. (2014). *El banco de sangre y la medicina transfusional*. 2.a edición. México; Editorial Panamericana.

Rosario Ruiz Domínguez, Dra, Julio Álvarez, and Dra Gretel Escobar. (2011). “¿Cuánto Sabemos Los Médicos Sobre Transfusión De Sangre Y Hemocomponentes?” *Revista Médica La Paz* 17(2): 21–28. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S172689582011000200004&lng=es&nrm=iso&tlng=es%0Ahttp://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S172689582011000200004&lng=es&nrm=iso&tlng=es.

Sandra QG. (2004). Contaminación bacteriana de los componentes Sanguíneos [Internet]. *Gac Méd Méx*. 140(3):90-4. [Fecha de acceso 21 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/gaceta/gm-2004/gms043ac.pdf>

Schmidt M, Hourfar MK, Sireis W, Pfeiffer U, Göttig S, Kempf VA, et al. (2015). Evaluation of the effectiveness of a pathogen inactivation technology against clinically relevant transfusion-transmitted bacterial strains [Internet]. *Transfusion*. Sep;55(9):2104–12. [Fecha de acceso 19 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26013691/>

Schwartz, Martínez Sánchez G, Re L. (2016). Factores de crecimiento derivados de plaquetas y sus aplicaciones en medicina regenerativa. Potenciadores del uso de ozono como activador. 3 (2): 27-44.

Seghatchian J. (2001). Bacterial contamination of blood components [Internet]. *Transfus Apher Sci.* Oct;25(2):147-50. [Fecha de acceso 20 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11761277/>

Seltsam A, Müller TH. (2011). UVC Irradiation for Pathogen Reduction of Platelet Concentrates and Plasma [Internet]. *Transfus Med Hemother.* 38(1):43–54. [Fecha de acceso 19 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3132979/>

Sireis W, Rüster B, Daiss C, Hourfar MK, Capalbo G, Pfeiffer HU, et al. (2011). Extension of platelet shelf life from 4 to 5 days by implementation of a new screening strategy in Germany [Internet]. *Vox Sang.* Oct;101(3):191–9. [Fecha de acceso 19 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21517896/>

Sociedad Española de Transfusión Sanguínea (SETS). (2019). Estándares de Hemoterapia. 5.a edición.

Spindler-Raffel E, Benjamin RJ, McDonald CP, Ramirez-Arcos S, Aplin K, Bekeredjian-Ding I, et al. (2017). ISBT Working Party Transfusion-Transmitted Infectious Diseases (WP-TTID), Subgroup on Bacteria. [Internet]. Enlargement of the WHO international repository for platelet transfusion-relevant bacteria reference strains. *Vox Sang.* Nov;112(8):713–22. [Fecha de acceso 18 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://www.isbtweb.org/resource/enlargement-of-the-who-international-repository-for-platelet-transfusion-relevant-bacteria-reference-strains.html>

Störmer M, Arroyo A, Brachert J, Carrero H, Devine D, Epstein JS, et al. (2012). Establishment of the first international repository for transfusion-relevant bacteria

reference strains: ISBT working party transfusion-transmitted infectious diseases (WP-TTID), subgroup on bacteria. *Vox Sang.* Jan;102(1):22–31. [Fecha de acceso 18 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21732948/>

Störmer M, Kleesiek K, Dreier J. (2008). *Propionibacterium acnes* lacks the capability to proliferate in platelet concentrates [Internet]. *Vox Sang.* Apr;94(3):193–201. [Fecha de acceso 19 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18086288/>

Störmer M, Vollmer T. (2014). Diagnostic methods for platelet bacteria screening: current status and developments [Internet]. *Transfus Med Hemother.* Feb;41(1):19–27. [Fecha de acceso 19 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24659944/>

Su LL, Kamel H, Custer B, Vanderpool S, Harpool D, Busch M, et al. (2008). Bacterial detection in apheresis platelets: blood systems experience with a two-bottle and one-bottle culture system [Internet]. *Transfusion.* Sep;48(9):1842–52. [Fecha de acceso 19 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18503612/>

Taha M, Culibrk B, Kalab M, Schubert P, Yi QL, Goodrich R, et al. (2017). Efficiency of riboflavin and ultraviolet light treatment against high levels of biofilm-derived *Staphylococcus epidermidis* in buffy coat platelet concentrates [Internet]. *Vox Sang.* Jul;112(5):408–16. [Fecha de acceso 19 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28378343/>

Thyer J, Perkowska-Guse Z, Ismay SL, Keller AJ, Chan HT, Dennington PM, et al. (2018). Bacterial testing of platelets - has it prevented transfusion-transmitted bacterial infections in Australia? *Vox Sang.* [Internet]. Jan;113(1):13–20. [Fecha de acceso 14 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28952159/>

Tinmouth AT, Freedman J. (2003). Transfusiones profilácticas de plaquetas: ¿cuál es la mejor dosis? Una revisión de la literatura. *Transfus Med Rev.* 17(3):181-93.

Tomasulo PA, Wagner SJ. (2013). Predicting improvement in detection of bacteria in apheresis platelets by maintaining constant component sampling proportion [Internet]. *Transfusion.* Apr;53(4):835–42. [Fecha de acceso 19 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22845800/>

U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Biologics Evaluation and Research. (2019). Bacterial Risk Control Strategies for Blood Collection Establishments and Transfusion Services to Enhance the Safety and Availability of Platelets for Transfusion Guidance for Industry. September 2019. [Fecha de acceso 14 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/bacterial-risk-control-strategies-blood-collection-establishments-and-transfusion-services-enhance>

Vázquez, Ja et al. (2005). “Concentrados Plaquetarios Contaminados Por Bacterias.” [Internet]. *Rev Mex Patol Clin* 52(1): 22–26. [Fecha de acceso 21 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2005/pt051g.pdf>

Vollmer T, Dabisch-Ruthe M, Weinstock M, Knabbe C, Dreier J. (2018). Late sampling for automated culture to extend the platelet shelf life to 5 days in Germany [Internet]. *Transfusion.* Jul;58(7):1654–64. [Fecha de acceso 14 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29656457/>

Vyas GN, Yang G, Murphy EL. (1994). Transfusion-related transmission diseases. Detection by polymerase chain reaction amplified genes of the microbial agents. *Transfus Med Rev.* 8: 253-266.

Wagner SJ, Benjamin RJ, Hapip CA, Kaelber NS, Turgeon AM, Skripchenko A, et al. (2016). Investigation of bacterial inactivation in apheresis platelets with 24

or 30 hours between inoculation and inactivation [Internet]. Vox Sang. Oct;111(3):226–34. [Fecha de acceso 19 de julio de 2023]. URL disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27185478/>

WHO. (2017). WHO Model List of Essential Medicines: 20th List.

Wroblewski AP, Melia HJ, Wright VJ. (2010) Application of platelet-rich plasma to enhance tissue repair. Oper Tech Orthop. 20:98-105

Yomtovain R, Lazarus HM, Goodnough LT et al. (1993). A prospective microbiologic surveillance program to detect and prevent transfusión of bacterially contaminated platelets. Transfusion. 33: 902-909.

ANEXOS

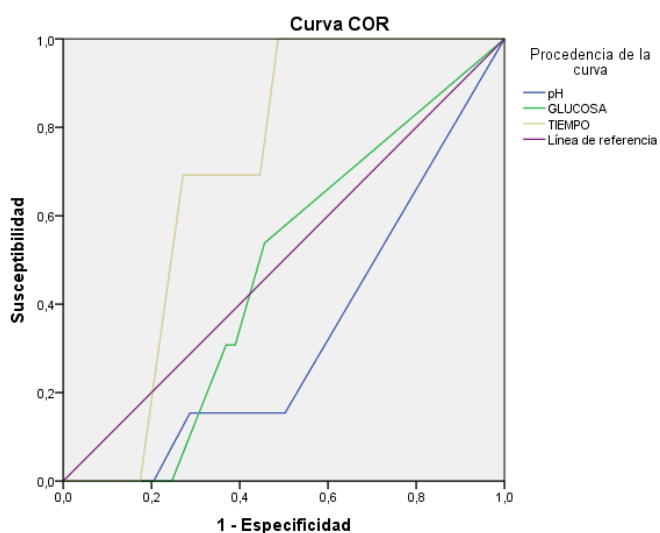
ANEXO 1

Base de datos en SPSS 20.0 de las variables investigadas

	ph	glucosa	tiempo	cultivo	microorganismo
1	7,0	250	7	negativo	negativo
2	7,0	250	7	negativo	negativo
3	8,0	1000	7	negativo	negativo
4	8,0	1000	7	negativo	negativo
5	7,0	250	7	negativo	negativo
6	8,0	1000	7	negativo	negativo
7	7,0	250	7	negativo	negativo
8	6,5	250	7	negativo	negativo
9	8,0	1000	3	negativo	negativo
10	8,0	500	3	negativo	negativo
11	7,5	250	3	negativo	negativo
12	8,0	250	3	negativo	negativo
13	8,0	500	3	negativo	negativo
14	7,5	500	3	negativo	negativo
15	7,5	1000	3	negativo	negativo
16	7,5	250	3	negativo	negativo
17	8,0	250	3	negativo	negativo
18	7,5	500	3	negativo	negativo
19	8,0	500	3	negativo	negativo
20	8,0	1000	3	negativo	negativo
21	7,0	500	3	negativo	negativo
22	8,0	500	3	negativo	negativo
23	6,5	250	11	negativo	negativo
24	6,0	100	11	negativo	negativo
25	6,0	100	11	negativo	negativo
26	6,0	250	11	Positivo	S. epidermidis
27	6,5	250	11	negativo	negativo
28	6,0	250	11	Positivo	S. aureus
29	6,0	100	11	negativo	negativo
30	6,0	100	11	negativo	negativo
31	6,0	100	11	negativo	negativo
32	6,0	100	11	Positivo	S. epidermidis
33	6,0	50	12	negativo	negativo
34	6,0	50	12	negativo	negativo
35	6,0	50	12	negativo	negativo

ANEXO 2

Puntos de corte donde los métodos alcanzan su máxima sensibilidad y especificidad para predecir contaminación bacteriana.



Los segmentos diagonales son producidos por los empates.

Variables resultado de contraste	Positivo si es mayor o igual que*	Sensibilidad	1 - Especificidad	INDICE DE YAUDEN
pH	5,000	1,000	1,000	0
	6,250	,154	,503	-0,34871795
	6,750	,154	,410	-0,25641026
	7,250	,154	,287	-0,13333333
	7,750	0,000	,205	-0,20512821
	9,000	0,000	0,000	0
GLUCOSA	49,00	1,000	1,000	0
	75,00	,538	,456	0,08205128
	150,00	,308	,390	-0,08205128
	225,00	,308	,369	-0,06153846
	375,00	0,000	,246	-0,24615385
	750,00	0,000	,154	-0,15384615
	1001,00	0,000	0,000	0
TIEMPO	0,00	1,000	1,000	0
	2,00	1,000	,897	0,1025641
	4,00	1,000	,754	0,24615385
	5,50	1,000	,662	0,33846154
	6,50	1,000	,569	0,43076923
	7,50	1,000	,487	0,51282051
	8,50	,692	,446	0,24615385
	9,50	,692	,405	0,28717949
	10,50	,692	,272	0,42051282
	11,50	0,000	,174	-0,17435897
	12,50	0,000	,051	-0,05128205
	13,50	0,000	,041	-0,04102564
	14,50	0,000	,021	-0,02051282
	15,50	0,000	,010	-0,01025641
17,00	0,000	0,000	0	

ANEXO 3

Tasas de eficacia individuales de los métodos.

PH MENOR A 6,3 VS RIESGO DE CONTAMINACIÓN

Nivel de confianza: 95,0%

PH MENOR A 6,3	Cultivo		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	11	97	108
Negativo	2	98	100
Total	13	195	208

	Valor	IC (95%)	
Sensibilidad (%)	84,62	80,65	88,58
Especificidad (%)	50,26	49,96	50,56
Valor predictivo + (%)	10,19	9,69	10,68
Valor predictivo - (%)	98,00	97,48	98,52
Prevalencia (%)	6,25	5,99	6,51
Razón de verosimilitud +	1,70	1,70	1,70
Razón de verosimilitud -	0,31	0,30	0,31

GLUCOSA MENOR A 75 mg/dl VS RIESGO DE CONTAMINACIÓN

Nivel de confianza: 95,0%

GLUCOSA MENOR A 75 mg/dl	Cultivo		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	6	106	112
Negativo	7	89	96
Total	13	195	208

	Valor	IC (95%)	
Sensibilidad (%)	46,15	42,14	50,16
Especificidad (%)	45,64	45,34	45,94
Valor predictivo + (%)	5,36	4,89	5,83
Valor predictivo - (%)	92,71	92,16	93,26
Prevalencia (%)	6,25	5,99	6,51
Razón de verosimilitud +	0,85	0,85	0,85
Razón de verosimilitud -	1,18	1,18	1,18

ANEXO 4

Tasas de eficacia individuales de los métodos.

TIEMPO MAYOR A 8 DIAS VS RIESGO DE CONTAMINACIÓN

Nivel de confianza: 95,0%

Cultivo			
TIEMPO MAYOR A 8 DIAS	Positivo	Negativo	Total
-----	-----	-----	-----
Positivo	12	95	107
Negativo	1	100	101
-----	-----	-----	-----
Total	13	195	208
	Valor	IC (95%)	
-----	-----	-----	-----
Sensibilidad (%)	92,31	88,37	96,24
Especificidad (%)	51,28	50,98	51,58
Valor predictivo + (%)	11,21	10,71	11,72
Valor predictivo - (%)	99,01	98,50	99,52
Prevalencia (%)	6,25	5,99	6,51
Razón de verosimilitud +	1,89	1,89	1,90
Razón de verosimilitud -	0,15	0,15	0,15

ANEXO 5

Tasas de eficacia de los métodos cuando se ensayan en paralelo.

Tasas de eficacia cuando los métodos de pH y glucosa se ensayan en paralelo

	En serie
Tipo de pruebas:	2
Número de pruebas:	0,06 x 100
Prevalencia:	
	Valor
-----	-----
Sensibilidad (%)	39,09
Especificidad (%)	72,96
Valor predictivo + (%)	0,09
Valor predictivo - (%)	99,95
Razón de verosimilitud +	1,45
Razón de verosimilitud -	0,83

Tasas de eficacia cuando los métodos de pH, glucosa se ensayan en papalelo y consideran la variable tiempo

	En serie
Tipo de pruebas:	3
Número de pruebas:	0,06 x 100
Prevalencia:	
	Valor
-----	-----
Sensibilidad (%)	36,08
Especificidad (%)	86,83
Valor predictivo + (%)	0,16
Valor predictivo - (%)	99,96
Razón de verosimilitud +	2,74
Razón de verosimilitud -	0,74

ANEXO 6

Grado de asociación entre el tiempo de almacenamiento y el riesgo de contaminación bacteriana en el CP

[1] TIEMPO MAYOR A 8 DÍAS

Cultivo			
Tiempo > a 8 días	Positivo	Negativo	Total
Si	12	95	107
No	1	100	101
Total	13	195	208

Prevalencia de la enfermedad	Estimación	IC (95,0%)	
En expuestos	0,112150	-	-
En no expuestos	0,009901	-	-
Razón de prevalencias	11,327103	1,499911	85,540574

OR	IC (95,0%)	
12,631579	1,611184	99,030785

Prueba Ji-cuadrado de asociación	Estadístico	Valor p
	9,2705	0,0023

[2] TIEMPO MAYOR DE 7 DÍAS

Cultivo			
Tiempo > a 7 días	Positivo	Negativo	Total
Si	12	111	123
No	1	84	85
Total	13	195	208

Prevalencia de la enfermedad	Estimación	IC (95,0%)	
En expuestos	0,097561	-	-
En no expuestos	0,011765	-	-
Razón de prevalencias	8,292683	1,098776	62,586545

OR	IC (95,0%)	
9,081081	1,157892	71,220837

Prueba Ji-cuadrado de asociación	Estadístico	Valor p
	6,3146	0,0120

ANEXO 7

Grado de asociación entre el tiempo de almacenamiento y el riesgo de contaminación bacteriana en el CP

[3] TIEMPO MAYOR DE 6 DIAS

Cultivo			
Tiempo > a 7 días	Positivo	Negativo	Total
Expuestos	12	129	141
No expuestos	1	66	67
Total	13	195	208
Prevalencia de la enfermedad		Estimación	IC (95,0%)
En expuestos		0,085106	- -
En no expuestos		0,014925	- -
Razón de prevalencias		5,702128	0,757055 42,948334
OR	IC (95,0%)		
6,139535	0,781377	48,240353	(Woolf)
Prueba Ji-cuadrado de asociación		Estadístico	Valor p
		3,8178	0,0507

[4] TIEMPO MAYOR DE 5 DIAS

Cultivo			
Tiempo > a 5 días	Positivo	Negativo	Total
Expuestos	12	147	159
No expuestos	1	48	49
Total	13	195	208
Prevalencia de la enfermedad		Estimación	IC (95,0%)
En expuestos		0,075472	- -
En no expuestos		0,020408	- -
Razón de prevalencias		3,698113	0,493181 27,730268
OR	IC (95,0%)		
3,918367	0,496498	30,923821	
Prueba Ji-cuadrado de asociación		Estadístico	Valor p
		1,9382	0,1639

ANEXO 8

Inserto de las tiras reactivas para la medición del pH y glucosa

Tiras reactivas para Urianálisis (Orina)

Inserto

REF 7101010

Español

Para la detección rápida de analitos múltiples en orina humana.
Para diagnósticos in vitro únicamente.

USO INDICADO

Las tiras reactivas de urianálisis (orina) son tiras de plástico en las cuales se han fijado parámetros en áreas separadas de reactivos. La prueba es para la detección semi-cuantitativa de uno o más de los siguientes analitos en la orina: Gravedad Específica, pH, Leucocitos, Nitritos, Proteínas, Glucosa, Cuerpos Cetónicos, Urobilinógeno, Bilirrubina y Sangre. Observe el membrete de la caja del juego con el analito específico de la tira del examen y compárelo al color del analito apropiado en el cuadro para el resultado. Las Tiras Reactivas de Urianálisis (Orina) pueden ser leídas visualmente y automáticamente con un analizador de orina, y son diseñadas para el uso profesional solamente.

RESUMEN

La orina sobrelleva muchos cambios durante periodos de enfermedad o disfunción corporal antes que la composición de la sangre sea alterada en una extensión significativa. El Urianálisis es un procedimiento útil como indicador de Salud o Enfermedad, y por lo tanto, es una parte de despistaje rutinario para la salud. Las tiras reactivas de Urianálisis (orina) pueden ser usadas para una evaluación general de la salud, y como ayuda en el diagnóstico y monitoreo de enfermedades metabólicas o sistémicas que afectan la función renal, desórdenes endocrínicos y enfermedades o desórdenes del tracto urinario.^{1,2}

PRINCIPIOS Y VALORES ESPERADOS

Gravedad Específica: Esta prueba está basada en el aparente cambio pKa de algunos polielectrolitos pretratados en relación a la concentración de iones. En presencia de un indicador, el color varía de azul oscuro-verde en orina de baja concentración a verde y verde amarillento en orina de alta concentración de iones. Orina coleccionada al azar puede variar en su Gravedad Específica de 1,003-1,035.³ Orina de 24 horas de colectada de adultos sanos con dieta normal y alimento fluido debe tener una Gravedad Específica de 1,016-1,022.³ En casos de daño renal severo, la Gravedad Específica se fija en 1,010 del glomerulato filtrado.

pH: Esta prueba se basa en un sistema de indicador doble que permite una amplia gama de colores y que cubre todo el rango de pH. La gama de colores va desde naranja a amarillo y desde verde a azul. El rango esperado para especímenes de orina normal en neonatos es de pH 5-7.⁴ El rango esperado para otras personas normales es de pH 4,5-8, con un resultado promedio de pH 6.⁴

Leucocitos: Esta prueba revela la presencia de granulocitos esterases. Los esterases se pegan a un derivado ester pirazol amino ácido para liberar derivados del hidroxil pirazol. Entonces reaccionan con una sal de diazonio para producir un tinte violeta. La prueba detecta los leucocitos intactos y lisados.

Nitritos: Esta prueba depende de la conversión del nitrato a nitrito por la acción de las bacterias Gram negativas, o infecciones del tracto urinario comunes causando organismos como la E. coli en la orina. Se basa en el principio de la prueba de Griess. En un medio ácido el nitrito en la orina reacciona con ácido p-arsanílico para formar un compuesto diazónico. El compuesto diazonio forma un par con 1N-(1-naftil)-etilenediamine para producir un color rosado. No se puede detectar nitrito en orina normal.⁵ El área de nitritos será positiva en algunos casos de infección, dependiendo por cuanto tiempo los especímenes de orina fueron retenidos en la vejiga antes que fuera recolectada. La recuperación de casos positivos con los rangos de la prueba de nitritos van, desde tan bajos como 40% en los casos en que la incubación en la vejiga ha sido pequeña, hasta tan altos como 80% en los casos en que la incubación en la vejiga ocurrió por lo menos durante 4 horas.

Proteínas: Esta reacción está basada en el fenómeno conocido como "error proteico" de indicadores de pH donde un indicador que es altamente saturado con buffer cambiará de color en la presencia de proteínas (aniones) al mismo tiempo el indicador libera iones de hidrógeno a la proteína. A un constante RPh el desarrollo de cualquier verde se debe a la presencia de proteína. pH Alto (hasta 9), la cloroquina, tolbutamida, quinina, quinidina no afectan a esta prueba. El rango de colores va de amarillo a amarillo-verde para resultados negativos y de verde a verde-azulado para resultados positivos. Esta prueba es particularmente sensible a la albúmina.

Glucosa: Esta prueba no es afectada por la presencia de Cetonas o el pH de la orina. Esta prueba es un método basado en la reacción específica de glucosa-oxidasa/peroxidasa (GOD/POD).

Cuerpos Cetónicos: Los Cuerpos Cetónicos normalmente no se encuentran presentes en la orina. Niveles detectables de Cuerpos Cetónicos pueden ocurrir en orina durante condiciones de tensión fisiológica como ayuno, embarazo ejercicios extenuantes.²⁻⁷ Durante dietas extremas, o en algún otra situación anormal de metabolismo carbohidrato los Cuerpos Cetónicos aparecen en la orina en concentraciones excesivamente altas antes de que los Cuerpos Cetónicos se eleven en el suero.⁸ La base de la prueba es el principio de Legal.

Urobilinógeno: Esta prueba se basa en la reacción de azo-acoplamiento de una sal de diazonio estable con Urobilinógeno en un medio fuertemente ácido para producir un color azo rojo. El Urobilinógeno es uno de los mayores compuestos producido en heme síntesis y es una sustancia normal en la orina. El rango normal esperado en orina con esta prueba es 0,2-1,0 mg/dl (3,5-17 µmol/l).⁹ Un resultado de más de 1,0 mg/dL (17 µmol/L) debe ser estudiado más al fondo.

Bilirrubina: Esta prueba está basada en la reacción de Azo-copulación de bilirrubina con la dicloroanilina diazotizada en un medio ácido fuerte. La variación de los niveles de Bilirrubina produce un color rosado-tostado proporcional a la concentración en orina. En orina normal no se detecta bilirrubina aún por los métodos de mayor sensibilidad. Aún trazos de bilirrubina requieren mayor investigación. Resultados atípicos (colores diferentes desde el negativo hasta bloques de color positivo que muestra la gráfica de colores) puede indicar que los pigmentos biliares derivados de la Bilirrubina están presentes en el espécimen de orina y que posiblemente están enmascarando la reacción de la Bilirrubina.

Sangre: Esta prueba se basa en la actividad peroxidásica de la hemoglobina que cataliza la reacción del di-isopropilbenzeno dihidroperóxido y la 3,3', 5,5'-tetrametilbenzidina. Los rangos de colores resultantes van de naranja a verde a azul oscuro. Cualquier mancha verde o el desarrollo de un color verde en el área reactiva en 60 segundos es significativo y el espécimen de orina debe seguir siendo examinado. Sangre frecuentemente se puede encontrar, pero no invariablemente, en mujeres

ANEXO 9

Inserto de las tiras reactivas para la medición del pH y glucosa

cuando menstruan. El significado clínico de los resultados muy débiles varía según el paciente y precisándose el dictamen clínico de las muestras.

REACTIVOS Y DESEMPEÑO

Basado en el peso seco al tiempo de impregnación, las concentraciones dadas pueden variar entre tolerancias fabricadas. La siguiente tabla abajo marca tiempos y desempeño característicos de cada parámetro.

Reactivo	Tiempo de Lectura	Composición	Descripción
Gravedad Específica (SG)	60 Segundos	indicador de azul de bromtimol, tampón e ingredientes no-activos	Determina la gravedad Específica entre 1,000-1,030. Los resultados correlativos con los valores obtenidos por el método del Index refractario entre $\pm 0,005$.
pH	60 Segundos	Rojo metilo, sal sódica, azul de bromtimol, tampón e ingredientes no-activos	Permite la diferenciación cuantitativa de valores de pH entre el Rango de 5-9.
Leucocitos (LEU)	120 Segundos	ácido pirrol amino ester derivado, sal de diazonio, tampón e ingredientes no-activos	Detecta leucocitos tan bajo como 10-15 glóbulos blancos Leu/ μ l en orinas clínicas.
Nitritos (NIT)	60 Segundos	ácido p-arsanilico; N-(1-naftil) etilenediamina, tampón e ingredientes no-activos	Detecta el nitrito de sodio desde 0,05-0,1 mg/dl, en orina con una gravedad Específica baja y con menos de 30 mg/dl de ácido ascórbico
Proteínas (PRO)	60 Segundos	Azul de tetrabromofenol, tampón e ingredientes no-activos	Detecta albúmina desde 12-15 mg/dl (0,12-0,15 g/l).
Glucosa (GLU)	60 Segundos	glucosa oxidasa, peroxidasa; búfer; 3,3',5,5' - tetrametilbenzidina (TMB) ingredientes no reactivos	Detecta la glucosa tan baja como 25-40 mg/dl (1.25-2 mmol/l) en la orina con una Gravedad Específica baja
Cuerpos Cetónicos (KET)	60 Segundos	Sodio nitroprusiano, tampón.	Detecta ácido acetoacético desde 5 mg/dl (0,5 mmol/l).
Urobilinógeno (URO)	60 Segundos	4-diazonio metoxibenceno tetrafluoroborato; búfer y ingredientes no reactivos	Detecta el Urobilinógeno desde 0,8-1,0 mg/dl (13,6-17 μ mol/l).
Bilirrubina (BIL)	60 Segundos	2,6-dicloroanilina; búfer y ingredientes no reactivos	Detecta bilirrubina desde 0,6-0,8 mg/dl (10,2-13,6 μ mol/l).
Sangre (ERY,Hb)	60 Segundos	3,3',5,5'-Tetrametilbenzidina (TMB); diisopropilbenzeno dihidroperóxido	Detecta Eritrocitos intactos tan bajos como 5-10 Ery/ μ l o Hemoglobina de 0.015-0.03mg/dL en muestras de orina con contenido de ácido ascórbico de <50 mg/dl.

Las características y desempeño del examen de Urianálisis en tiras (orina) han sido determinadas en Laboratorios y mediante exámenes clínicos. Para el usuario los parámetros de importancia son la sensibilidad, especificidad, exactitud y precisión. Generalmente, estas pruebas han sido desarrolladas para ser específicas para los parámetros ha ser medidos con las excepciones de interferencia que se mencionan. Favor lea la sección de "Limitaciones" del folleto. La interpretación visual de los resultados depende de diversos factores: La variabilidad de la percepción del color, la presencia o ausencia de factores de inhibición, y las condiciones de luz al leer la tira. Cada bloque de color en la tabla corresponde a un rango de concentración

ANEXO 10

Medios para el control microbiológico del CP

IVD

Britania

britannialab.com

Código B0720581: HEMOCULTIVO NEONATAL (AERÓBICO):
100 frascos x 10 ml. Envase Hospitalario.
Código B0720483: HEMOCULTIVO PEDIÁTRICO (MULTIPROPÓSITO):
6 frascos x 20 ml.
Código B0720489: HEMOCULTIVO PEDIÁTRICO (MULTIPROPÓSITO):
60 frascos x 20 ml. Envase Hospitalario.
Código B0720484: HEMOCULTIVO ADULTO (MULTIPROPÓSITO):
6 frascos x 50 ml.
Código B0720490: HEMOCULTIVO ADULTO (MULTIPROPÓSITO):
60 frascos x 50 ml. Envase Hospitalario.

Cada frasco de Hemocultivo contiene los siguientes componentes:

- **Medio basal:** Preparado a partir de medio infusión cerebro corazón, extracto de levadura, cistina, y una mezcla de cofactores, vitaminas y minerales. Su composición permite el desarrollo de bacterias nutricionalmente exigentes que puedan ser causa de bacteriemias.
- **Polianetol sulfonato de sodio (PSS): 0,03%:** Anticoagulante con actividad anticomplementaria que inhibe parcialmente la capacidad fagocitaria de los leucocitos y a ciertos antibióticos aminoglucósidos y polipeptídicos.
- **Menadiona: 0,5 ug/ml. Hemina: 5 ug/ml:** Requeridos para el desarrollo de ciertas especies de Bacteroides y Prevotella.
- **Cisteína: 0,05%:** Ayuda a mantener un reducido Eh y permite el desarrollo de microorganismos que exigen tiol, como ciertos mutantes de Streptococcus spp.
- **Agua purificada:**
pH FINAL: 7.3 ± 0.2.

ANEXO 11

Medios para el control microbiológico del CP

Además los frascos de Hemocultivos contienen una cuidadosa y controlada atmósfera inerte en el espacio aéreo que está en contacto con el medio de cultivo del frasco. Esta atmósfera está desarrollada y formulada según los agentes etiológicos de bacteriemias según los grupos etarios, que se describe a continuación:

- Los frascos de Hemocultivo Neonatal son aeróbicos y su atmósfera presenta una cantidad controlada de anhídrido carbónico (CO_2).
- Los frascos de, Hemocultivo Adulto Multipropósito y Hemocultivo Pediátrico Multipropósito contienen una atmósfera controlada de nitrógeno (N_2) y anhídrido carbónico (CO_2) que asegura el desarrollo de cepas anaerobias estrictas, CO_2 dependientes y facultativas (Eh menor de -250 mV).

INSTRUCCIONES

Producto listo para usar.

CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO

Medio de cultivo color amarillo - ámbar, transparente, límpido.

Nota: la presencia de polianetol sulfonato de sodio y la atmósfera de CO_2 pueden otorgar al producto una ligera opalescencia o contener cristales en suspensión.

ALMACENAMIENTO

Los frascos de hemocultivo se conservan a 10-35 °C.

PROCEDIMIENTO

Información previa:

Debe requerirse información acerca del diagnóstico presuntivo, curva térmica y antibioticoterapia recibida. En este último caso interesa conocer la hora de administración del antibiótico ya que conviene obtener las muestras cuando el nivel de antibiótico circulante sea mínimo (valle), es decir antes de la administración de la nueva dosis del mismo.

Preparación de la piel:

El desinfectante de elección es tintura de yodo al 2% o solución de yodo-povidona al 10%. Cuando existe hipersensibilidad al yodo conviene emplear alcohol 70°. El merthiolate no es adecuado. Una vez determinado el sitio de punción, desinfectar la piel de la zona elegida y el tapón de goma del frasco de Hemocultivo. En todos los casos el desinfectante debe actuar durante 1 minuto. No efectuar una nueva palpación luego de desinfectada la piel a menos que el dedo haya sido similarmente descontaminado o se utilicen guantes estériles (procedimiento ideal).

ANEXO 12

Medios para el control microbiológico del CP

Extracción:

La muestra puede obtenerse por punción arterial o venosa empleando jeringa y aguja estériles. Si no da resultado la primera punción, el nuevo intento debe efectuarse con una aguja nueva. A los efectos de descartar contaminaciones, las muestras sucesivas de un hemocultivo seriado tienen que obtenerse de distintas zonas de punción. Luego de efectuada la extracción de sangre, es conveniente remover la tintura de yodo con alcohol para evitar fenómenos tóxicos locales.

Volumen de sangre:

Según ensayos sobre medios con polianetol sulfonato de sodio (PSS), las diluciones de sangre en el medio recomendadas, fluctúan entre 1:5 a 1:10. En el caso de lactantes o niños pequeños, pueden ser necesarias diluciones mayores. Por lo tanto, y respetando la concentración de PSS presente en el medio, los volúmenes aconsejados son los siguientes:

HEMOCULTIVO NEONATAL (contiene 10 ml de medio de cultivo):

Inocular 0,5-1 ml de sangre del paciente.

HEMOCULTIVO PEDIÁTRICO (contiene 20 ml de medio de cultivo):

Inocular 1-2 ml de sangre del paciente.

HEMOCULTIVO ADULTO (contiene 50 ml de medio de cultivo):

Inocular 5 ml de sangre del paciente.

Inoculación de los frascos:

Una vez retirada la parte central de la tapa metálica del frasco de Hemocultivo y efectuada la desinfección del tapón de goma, inyectar la sangre cuidando especialmente no introducir aire. Mezclar de inmediato por inversión para permitir la acción anticoagulante.

Importante:

- La cantidad y frecuencia de las muestras a extraer debe ser dispuesta por el médico y sobre la base del cuadro clínico presentado por el paciente.
- Nunca una sola muestra puede servir para descartar una bacteriemia.
- Tampoco son útiles numerosos especímenes. Se considera que tres son suficientes en la mayoría de los casos.
- La extracción debe hacerse tan pronto como sea posible, al aparecer el cuadro febril.
- Es aconsejable efectuar la recolección de la muestra, media a una hora antes del pico febril, cuando éste pudo ser detectado, y siempre previamente a la terapia antibiótica.

ANEXO 13

Medios para el control microbiológico del CP

Incubación

A 35-37 °C.

El tiempo de incubación lo establece el laboratorio según las características del paciente en estudio y microorganismos que se intenten recuperar.

Como regla general recomendamos incubar los frascos durante 7 días. Incubaciones prolongadas por más de 7 días, son necesarias para gérmenes difíciles de detectar, como *Actinobacillus*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, *Haemophilus*, *Neisseria* spp. También en endocarditis causada por levaduras o cuando el paciente ha recibido terapia antibiótica.

Importante: si los frascos inoculados no pueden llevarse a la estufa de incubación de inmediato, tienen que conservarse a temperatura ambiente hasta el momento de remitir al laboratorio. En ningún caso se deben colocar en heladera.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Al menos una vez al día observar los frascos de los Hemocultivos inoculados con la muestra del paciente. La notable transparencia de los Hemocultivos Britania permite visualizar a través del frasco la turbidez, el cambio de color, la hemólisis o burbujas de gas. Estos datos permiten sospechar la existencia de un desarrollo microbiano incipiente. Para que estas características puedan ser observadas fácilmente debe evitarse la agitación del frasco cuando se retira de la estufa.

Coloraciones y subcultivos:

Ante sospecha o evidencia de desarrollo microbiano en alguno de los frascos, se debe realizar la coloración de Gram y subcultivos. Cuando no existieran evidencias de desarrollo, este procedimiento debe efectuarse de igual forma a diferentes tiempos y previo al descarte de los hemocultivos. La técnica operatoria es la siguiente:

- Desinfectar el tapón de goma del frasco.
- Extraer aproximadamente 0,25 ml de medio con jeringa y aguja estériles. Cuando se introduce la aguja debe sujetarse fuertemente el émbolo de la jeringa por si existiera presión de gas debida a productos de fermentación. Invertir el frasco y retirar la muestra.
- Transferir la muestra a un tubo estéril intermedio o subcultivar directamente en Sangre Agar (Britania), Chocolate Agar (Britania).
- Depositar una gota de la muestra en un portaobjetos y efectuar la coloración de Gram. Actualmente se considera más útil la coloración con naranja de acridina, para el examen rápido por microscopía de fluorescencia de extendidos de sangre o de hemocultivos donde pueden estar presentes escasos microorganismos, o bien para facilitar su diferenciación respecto de la tinción de base del material proteico de la muestra. Permite la detección temprana de cantidades tan pequeñas como 10^7 microorganismos por ml de caldo. Los subcultivos deben incubarse preferentemente en atmósfera con tensión de CO_2 aumentada (5-10%) y en anaerobiosis (jarras anaeróbicas). Si no se dispone de sistema de anaerobiosis se podrá sospechar bacteriemias debidas a bacterias anaerobias cuando habiendo observado gérmenes en la coloración de Gram no se obtenga desarrollo en los subcultivos efectuados.

ANEXO 14

Medios para el control microbiológico del CP

Un hemocultivo es positivo en los siguientes casos:

- Cuando el mismo germen se aísla en dos o más muestras.
 - Cuando se lo encuentra en una sola muestra pero simultáneamente se lo recupera en otro material extraído al paciente (por ejemplo orina, L.C.R., entre otros).
 - Cuando se lo recupera de una o más muestras y el título de anticuerpos frente a la cepa aislada es significativo o asciende durante la evolución del proceso.
 - En aquellos casos en que el microorganismo sea recuperado de una sola muestra y el germen hallado no corresponde a la flora habitual de piel, siempre que el hallazgo esté relacionado con el cuadro clínico. Por ejemplo: *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Salmonella spp.*, *Brucella spp.*, etc.
 - Se considera como posible contaminación el hallazgo de un germen habitual de la flora cutánea en una sola de las muestras obtenidas, siendo el título de anticuerpos no significativo. Pero es necesario tener en cuenta el estado del paciente.
- Importante:** el hallazgo de un microorganismo en muestras de hemocultivos, aún en aquellos casos que se presume contaminación debe ser motivo de evaluación por el equipo de profesionales para definir la situación.

CONTROL DE CALIDAD

- Claridad del medio preparado: Transparente.
- pH Final: 7.3 ± 0.2 .
- Coagulación: Negativa.
- Desempeño microbiológico: crecimiento de inóculos 10-100 UFC/frasco.