

## VIII. Contaminación bacteriana de los componentes sanguíneos

Sandra Quintana-González\*

Desde hace más de 60 años se identificó la contaminación bacteriana de los productos sanguíneos. En 1939, dos años después de que el primer Banco de Sangre de Chicago fue abierto se publicó un artículo especificando los riesgos de la contaminación bacteriana de la sangre, señalando la susceptibilidad de la sangre de contaminarse con bacterias, ellos sugirieron que esta contaminación provenía de la piel del donador, aun con la esterilización de la piel algunas bacterias se escapan de la acción bactericida del antiséptico, por lo que sugirieron agregar a la sangre almacenada el antibiótico sulfanilamida.<sup>1</sup> Posterior a estos reportes existe un gran número de artículos que informan sobre el grave riesgo de la contaminación bacteriana en los productos sanguíneos.

Actualmente, el factor de riesgo infeccioso asociado a muerte más importante de la transfusión es la contaminación bacteriana. (CB)<sup>2</sup> La sepsis bacteriana asociada a transfusión más frecuente es causada por plaquetas contaminadas más que por concentrados eritrocitarios, porque las bacterias crecen principalmente a la temperatura en que las plaquetas son almacenadas (22°C ±2°C), lo que crea un excelente medio para el crecimiento y proliferación de las bacterias. Se estima que el nivel de contaminación al momento de colectarse las plaquetas es relativamente bajo, aproximadamente de 1-10 unidades formadoras de colonias/ml o menor. Cuando el producto esta contaminado, la bacteria inoculada puede proliferar en horas hasta alcanzar un nivel de 10<sup>6</sup>/mL o mayor.<sup>2</sup> Esta cantidad de bacterias en el componente sanguíneo en un corto periodo de tiempo puede producir bacteriemia que puede progresar a sepsis y la muerte. El desenlace de una transfusión contaminada depende de la cantidad de bacterias transfundidas, el tipo de bacterias, la velocidad de la transfusión y el estado clínico del donador.

### Contaminación bacteriana de concentrados eritrocitarios

La transfusión de concentrados eritrocitarios contaminados con bacterias ocurre de manera poco frecuente, la FDA informo que de 1976-1998 hubo 26 muertes secundarias a

la CB de concentrados de eritrocitos de 10-12 millones de unidades transfundidas. La contaminación con *Yersinia Enterocolítica*, como resultado de bacteriemia asintomática en el donador representa aproximadamente el 46% de los casos de sepsis clínica de contaminación con eritrocitos y ocasionalmente ocurre en sepsis asociada a transfusión de unidades autólogas.<sup>3</sup> La *Yersinia* es un bacilo Gram-negativo que puede causar enterocolitis, caracterizada por diarrea, febrícula o fiebre y dolor abdominal en el donador. Los síntomas generalmente son leves o asintomáticos, así que el 75% de los donadores de sangre a quienes se les reinterroga han tenido antecedente de diarrea. La *Yersinia Enterocolítica* crece bien en los concentrados de eritrocitos porque utiliza el citrato y el hierro. Existen algunos estudios que previenen el crecimiento de la *Yersinia Enterocolítica* con la depleción de leucocitos durante el almacenamiento de 1-6°C. Sin embargo, es necesario estudios a futuro que comparen productos leucorreducidos y no leucorreducidos y su efecto sobre el crecimiento de la *Yersinia*. Después de la *Yersinia*, el organismo más prevalente es la *Pseudomona spp* (25%) seguido de la *Serratia spp* (11%) y otros organismos (18%). Aproximadamente el 80% de la sepsis bacteriana asociada a los concentrados de eritrocitos ocurre por organismos capaces de crecer a bajas temperaturas. Todos los casos reportados de sepsis secundaria a la contaminación bacteriana de *Yersinia Enterocolítica* en los Estados Unidos ha ocurrido en unidades de más de 25 días de extracción, por lo que una recomendación fue reducir el tiempo de almacenamiento de los concentrados eritrocitarios de 42 a 25 días.<sup>3</sup>

### Contaminación bacteriana de concentrados plaquetarios

Los organismos implicados en la contaminación bacteriana de las plaquetas incluyen al *Estafilococo spp* (42%), *Streptococo 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.<sup>4</sup>

\* Servicio Clínico Banco Central de Sangre, Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS, México, D.F.

Múltiples estudios han demostrado que 1:2,000-3,000 unidades de plaquetas están contaminadas de bacterias (Cuadro I). El riesgo de muerte relacionado a la contaminación bacteriana de las plaquetas es de 1:7,500-1:100,000. En los EUA, la contaminación bacteriana es la segunda causa de muerte secundaria a transfusión (después de errores clericales) con una frecuencia de sepsis relacionada a transfusión de plaquetas de 1:20,000 a 1:85,000 unidades transfundidas.<sup>5</sup> El riesgo de recibir plaquetas contaminadas con bacterias puede ser 50-250 veces más elevado que el riesgo de infección por VIH-1/2, VHC, VHB y HTLV-I/II.

Cuadro I.		
Componente Sanguíneo	Riesgo	
Concentrados	Contaminación bacteriana	1:3,000 unidades
Plaquetarios	Sepsis Clínica	1:20,000 transfusiones
	Mortalidad	1: 60,000 transfusiones
Concentrados	Contaminación Bacteriana	1:500,000 unidades
Eritrocitarios	Sepsis clínica	1:250,000 transfusiones
	Mortalidad	1:1,000,000 transfusiones

No todos los componentes sanguíneos contaminados causan síntomas en el receptor, en caso de que se presenten inicia con fiebre y escalofríos, que usualmente ocurre casi de inmediato después de la transfusión. Los signos que se pueden presentar son hipotensión, náusea, vómito, diarrea, oliguria y choque, otros son síntomas respiratorios (tos, disnea) incluso, coagulación intravascular diseminada y muerte.<sup>3-5</sup>

Las posibles fuentes de contaminación incluyen la contaminación en la bolsa durante la recolección de sangre, el tubo, el anticoagulante y los factores relacionados al donador como la bacteriemia transitoria. Sin embargo, la contaminación de plaquetas se debe principalmente durante la flebotomía.

#### *Métodos disponibles para limitar la contaminación bacteriana de las plaquetas:*

Existen varios métodos para limitar la entrada de organismos bacterianos en los concentrados plaquetarios.

1. Mejorar la Evaluación del donador. Excluir donadores con bacteriemia no aparente; historia clínica enfatizar en los procesos infecciosos síntomas gastrointestinales en el último mes, así como los

procedimientos dentales, etc. y la temperatura del donador.<sup>6</sup>

2. Preparación del sitio de venopunción. Las técnicas de flebotomía reducen la incidencia de CB relacionada a la flebotomía a causa de la flora cutánea. El uso de soluciones con yodo son las más efectivas en reducir el número de bacterias de la piel. En caso de que el donador sea alérgico al yodo se utiliza la clorhexidina. El jabón verde debe evitarse porque tiene mínima eficacia en la desinfección cutánea, que se ha demostrado comparándolo con el yodo, el alcohol isopropílico y la clorhexidina.<sup>7,8</sup>
3. Eliminar los primeros 15-30 ml de la sangre del donador, la mayoría de las bacterias contaminantes pueden ser detectadas en los primeros mililitros de sangre que pasa a través de la aguja de venopunción. Este método puede reducir la proporción de unidades contaminadas por bacterias en el momento de la recolección. Datos de grupos Europeos recomiendan eliminar los primeros 10-40 ml de sangre para disminuir el riesgo de CB.<sup>5</sup>
4. La contaminación bacteriana se reduce por el uso de concentrados plaquetarios de aféresis. La sepsis ocurre de 6-10 veces más en los concentrados plaquetarios unitarios porque existe un incremento en la exposición de donadores de 6-10 veces más.<sup>9</sup>
5. Almacenamiento de los concentrados de plaquetas. La FDA ha reducido el tiempo de almacenamiento de las plaquetas de 7 a 5 días, debido a los reportes de sepsis bacteriana de unidades de plaquetas de mayor t= de extracción.

#### *Métodos disponibles para detectar la contaminación bacteriana*

La CB de la sangre requiere tiempo para que los organismos proliferen antes de que sean detectables, varios métodos se han investigado para detectar bacterias en los productos plaquetarios previos a la transfusión. Los métodos más sensibles son recomendados si las muestras se realizan dentro de los días 1 o 2 de la recolección de sangre, los métodos menos sensibles pueden ser aceptados si las muestras son realizadas una pocas horas antes de la transfusión. El nivel de contaminación de  $10^6$  se ha asociado con reacciones graves, por lo tanto, la prueba ideal es aquella que pueda detectar un bajo nivel de contaminación de bacterias en el componente sanguíneo.<sup>2</sup>

1. Pruebas de detección visual. Algunas técnicas de baja especificidad y sensibilidad son aquellas que detectan cambios de apariencia en el producto como el swirling plaquetario o el color en los concentrados de eritrocitos, Las plaquetas cuando se encuentran contaminadas se tornan esféricas y no producen el

swirl porque el metabolismo de las bacterias produce una disminución del pH y causa asimetría de las plaquetas. Son métodos rápidos, visuales y se han usado para detectar una gran cantidad de bacterias con niveles de  $>10^7$  unidades formadoras de colonias (UFC)/mL.<sup>3,6,7</sup>

2. Determinación del pH o los niveles de glucosa son métodos rápidos pero detectan bacterias a un nivel  $>10^7$  UFC/mL de bacterias y requiere solo unos segundos para realizarse. Para aumentar los niveles de sensibilidad se recomienda hacer los dos parámetros.<sup>3,6</sup>
3. Otro método es la tinción directa con la tinción de Gram (detecta  $>10^6$  UFC/mL de bacterias) o el naranja de acridina (detecta  $>10^5$  UFC/mL de bacterias) todas estas pruebas no son de gran utilidad debido también a su baja sensibilidad cuando son comparadas con las concentraciones de bacterias que causan sepsis.<sup>7</sup>
4. Detección de  $\text{CO}_2$ , algunos investigadores han detectado la caída del pH e incremento de la  $\text{pCO}_2$  con métodos no invasivos como la sensibilidad del  $\text{CO}_2$  a adherirse a los indicadores de color, detectando niveles de bacterias de  $>10^6$  UFC/mL.<sup>7</sup>
5. Métodos inmunológicos. Dos métodos inmunológicos están en desarrollo para la detección de bacterias en los concentrados de plaquetas casi en el momento de la transfusión. Uno de los métodos (verax Biomedical, Worcester, MA) emplea anticuerpos conjugados con oro con ácido lipoteicoico para detectar bacterias Gram-positivas o contra lipopolisacáridos para detectar bacterias Gram-negativas, logrando detectar un nivel de bacterias de  $10^3$ - $10^4$  UFC/mL en aproximadamente 20 min. El otro método (Inmunetics Inc., Cambridge, MA) emplea anticuerpos contra los peptidoglicanos de organismos Gram-positivos y Gram-negativos son utilizados en una sola incubación, detectando un nivel de  $10^3$  UFC/mL de especies Gram-positivas y Gram-negativas, aproximadamente en 1 hora.<sup>7</sup>
6. Métodos de Biología Molecular. Un método de biología molecular basado en la detección de RNA ribosomal puede detectar  $>10^4$  UFC/mL de bacterias en 60-90 min. La prueba amplificada requiere varias horas para su detección porque frecuentemente se contaminan con niveles bajos de RNA.<sup>3</sup>

**Cultivos de Bacterias.** Los cultivos se pueden realizar de manera manual o automatizada, sin embargo, en ambos pueden existir dificultades en mantener un microambiente aséptico durante la transferencia de la muestra causando falsas positivas. Los estudios más cuidadosos realizan cultivos repetidos para diferenciar entre un falso positivo y un positivo verdadero. Existen dos sistemas que resiente han sido aprobados por la FDA para

uso en el control de calidad del proceso de la recolección de plaquetas. El sistema Bact/Alert (BioMerieux, Durham, NC) detecta a las bacterias basado en la producción de  $\text{CO}_2$  y es capaz de detectar  $< 10^2$  UFC/mL de bacterias y el otro sistema de Pall (Pall BDS: Pall Medical, East Hills, NY) detecta la elaboración de.<sup>5,7</sup> El sistema no han sido específicamente aprobado para el uso en la liberación de plaquetas para transfusión porque la efectividad de los sistemas para detectar la contaminación bacteriana en la clínica no han sido aun establecido. Estos métodos pueden detectar de 1-10 UFC/mL de bacterias *in vitro*. Los cultivos automatizados requieren grandes volúmenes de los componentes sanguíneos (10 mL) lo que mejora la sensibilidad de la detección de bacterias. Un periodo de cuarenta de 24-48 hrs después de la inoculación dentro de los tubos para cultivo es usado en países europeos y en algunos de estos países las autoridades regulatorias han aceptado la extensión de las bacterias de 5 a 7 días, con la finalidad de obtener los resultados de los cultivos. La FDA ha propuesto que para la validación de los sistemas de detección de bacterias se requiere realizar un ensayo diseñado para obtener dos muestras para la detección de bacterias, la primera, al principio del periodo de almacenamiento y una segunda muestra al final del periodo de almacenamiento o en el momento de la liberación de las plaquetas. Los resultados de ambos cultivos deberán ser comparados para determinar si el primer cultivo predijo los resultados del segundo cultivo. Si la unidad esta contaminada al momento de la recolección, entonces las bacterias tiempo de crecer entre la primera y segunda muestra detectada fácilmente en la segunda muestra. Estos estudios podrán demostrar la proporción de falsos positivos y el grado de contaminación.

#### *Métodos disponibles para evitar la contaminación bacteriana*

1. Reducir la exposición a los receptores de los componentes sanguíneos. Las recomendaciones son optimizar las indicaciones de la transfusión sanguínea e incrementar el número de productos derivados de aféresis, reduciendo de manera sustancial el número de exposiciones a múltiples donadores.<sup>9</sup>
2. Filtración de leucocitos. En algunos países se utiliza la reducción universal de leucocitos en los productos sanguíneos y en algunos otros es voluntaria. El mecanismo por el cual la reducción de leucocitos remueve bacterias es multifactorial. Las bacterias que han sido fagocitadas, pero no destruidas, son removidas con los leucocitos. Alternativamente, los organismos pueden ser adsorbidos a los leucocitos

o activar el complemento, uniéndose indirectamente a las fibras de los filtros (las bacterias pueden también adherirse directamente a las fibras de los filtros. En el caso de la *Yersinia enterocolitica*, la leucodepleción prealmacenamiento por filtración disminuye el crecimiento bacteriano en los concentrados eritrocitarios. En relación a las plaquetas, la leucodepleción prealmacenamiento no tiene efecto sobre el crecimiento de bacterias. Los filtros en los concentrados eritrocitarios remueve del 88-100% las bacterias, mientras que los filtros en los concentrados de plaquetas son removidas del 67-97%.<sup>3</sup>

3. Antibióticos. El agregar los antibióticos a las bolsas no es una opción debido a la resistencia de las bacterias a los antibióticos.<sup>3</sup>
4. Inactivación de patógenos. Por más de 10 años, un número de métodos fotodinámicos o fotoquímicos se han reportado que pueden conducir a la reducción de virus, bacterias y protozoarios que están presentes en los productos sanguíneos. Estos métodos de reducción de patógenos incluyen; la combinación de un psoraleno con luz ultravioleta A (UVA); riboflavina y luz visible; irradiación ultravioleta B; y la adición de azul de metileno con ftalocianinas con luz visible. Se ha comprobado que un psoraleno, el amotosaleno S-59 combinado con luz UVA expuesto a los concentrados plaquetarios tiene un papel efectivo en la inactivación de las bacterias. Estos compuestos químicos que pueden agregarse a los productos de transfusión interactúan con los ácidos nucleicos de los patógenos, de manera espontánea o a través de la activación inducida por la energía de la luz, este compuesto se liga de manera cruzada con los ácidos nucleicos y previene la transcripción y la replicación de los patógenos. Estos tratamientos son eficaces si el nivel de reducción es de 6-10 log de reducción de bacterias.

Sin embargo, la perspectiva de la FDA es la evaluación de los aspectos de seguridad, incluyendo el posible daño por el tratamiento a los productos de transfusión (función y sobrevivencia de las células) y la toxicidad de cualquier químico residual al receptor. Se debe de vigilar la seguridad de estos productos en relación a los componentes químicos que pueden producir mutagenicidad y por lo tanto, su potencial causa de producir carcinogénesis y genotoxicidad.

En vista de la gravedad del problema y aún con la mejora de las técnicas de recolección y estudio del donador existe el riesgo potencial de contaminación bacteriana por los productos sanguíneos, principalmente por los concentrados plaquetarios, por tal razón la FDA (Food and Drug Administration) ha promovido el desarro-

llo de intervenciones técnicas para prevenir la contaminación bacteriana de la sangre a transfundir. Adicionalmente, el Centro de Control de Enfermedades (CDC) dirigió un estudio de vigilancia sobre la contaminación bacteriana de los productos sanguíneos y por la magnitud y relevancia de los resultados en una carta abierta para; "los centros de colección de sangre inmediatamente están iniciando un programa para detectar la presencia de bacterias en unidades de plaquetas", después de esto la AABB (American Association of Blood Banks) ha propuesto nuevos estándares para ayudar a mitigar la transfusión de unidades que estuvieran contaminadas con bacterias, con una implementación a partir del 1 de marzo, 2004.(5) tándar de la AABB 5.1.5.1:

5.1.5.1 El Banco de Sangre o Servicio de Transfusión tendrá métodos para limitar y detectar la contaminación bacteriana en todos los componentes de plaquetas.

La contaminación bacteriana es un grave problema de transmisión por los componentes sanguíneos, principalmente por la transfusión de concentrados plaquetarios, ocurriendo de 1:2000 a 3:000 Unidades de plaquetas, esto ha provocado nuevas regulaciones por la FDA y la AABB de esta manera el 100% de los componentes de plaquetas obtenidos deberán denominación bacteriana. En México, las regulaciones vigentes determinan que se debe de realizar detección de probable contaminación bacteriana al 1% de la producción, sin embargo, es importante realizar estrategias para limitar y detectar la contaminación bacteriana de los componentes sanguíneos, evaluando siempre las indicaciones de los componentes sanguíneos, la valoración estricta del donador y evitar que donen aquellos con bacteriemia aparente. Durante el procedimiento de recolección debemos ser más efectivos en la esterilización del sitio de la flebotomía, el uso adecuado de desinfectantes, mejorar las técnicas, etc. Un segundo paso es eliminar la sangre inicialmente colectada (10-40 mL) reduciendo el grado de contaminación de bacterias provenientes de la piel del donador. Es importante señalar que estos pasos solamente reducen el nivel de contaminantes cutáneos en los productos sanguíneos pero no son eliminados. Realizar un estudio de costo beneficio entre los métodos que existen para detectar y eliminar la posible contaminación bacteriana, así mismo, utilizar mayor número de aféresis de plaquetas y concentrados leucorreducidos.

## Referencias

1. **Fantus B.** Landmark Article July 10, 1093: Therapy of the Cook County Hospital By Bernard Fantus. JAMA 1984;251:647-9.
2. **Murphy WG, Smyth J.** Testing for bacteria in platelet concentrates: defining the parameters. Transf Apher Science 2001;24:347-349.

3. **Depcik-Smith ND, Hay SN, Brecher ME.** Bacterial contamination of blood products: Factors, options, and insights. *J Clin Apher* 2001;16:192-201.
4. **Wagner SJ.** Transfusion transmitted bacterial infection: risks, sources and interventions. *Vox Sang* 2004;86:157-163.
5. **Hillyer CD, Josephson CD, Blajchman MA, Vostal JG, Epstein JS, Goodman JL.** Bacterial contamination of blood components: Risks, strategies, and regulation. Joint ASH and AABB educational session in transfusion medicine. *Hematology* 2003;575-589.
6. **Blajchman MA, Goldman M, Baeza F.** Improving the bacteriological safety of platelet transfusions. *Transf Med Rev* 2004;18:11-24.
7. **Lee CK, Ho PL, Chan NK, Hong J, Lin CK.** Impact of donor arm skin disinfection on the bacterial contamination rate of platelet concentrates. *Vox Sang* 2002;83:204-208.
8. **McDonald CP, Roy A, Mahajan P, Smith R, Charlett A, Barbara AJ.** Relative values of the interventions of diversion and improved donor-arm disinfection to reduce the bacterial risk from blood transfusion. *Vox Sang* 2004;86:178-182.
9. **Ness PM, Braine HG, King K.** single donor platelets reduce the risk of septic transfusion reaction. *Transfusion* 2001;41:857-861.
10. **Bell CF, Botteman MF, Xin Gao, Weissfeld JL, Postma MJ, Pashos CL, Triulzi D, and Staginnus U.** Cost-effectiveness of Transfusion of Platelet components prepared with pathogen inactivation treatment in the United States. *Clinical Therapeutics*. 2003;2464-2486.