

Contaminación Bacteriana en Productos Sanguíneos: Riesgos, Prevención y Estrategias

María Antonieta Núñez A.

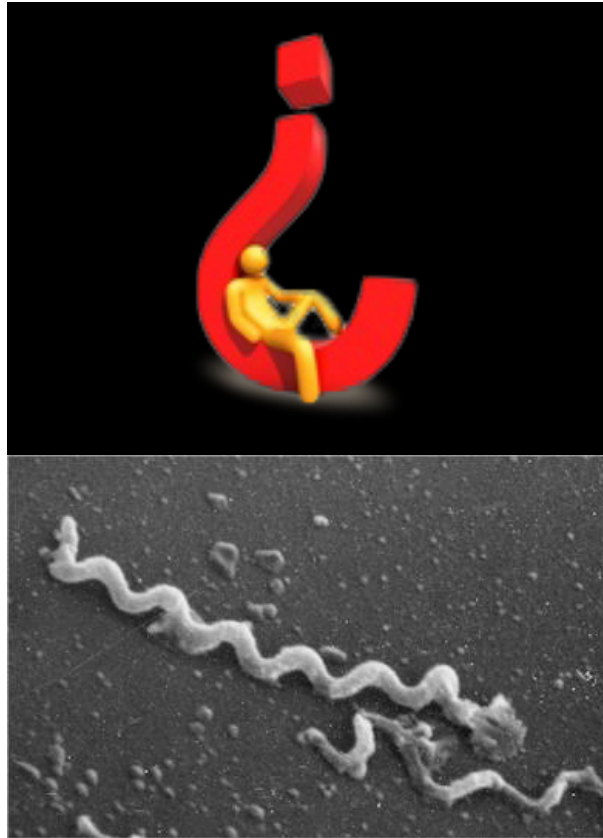
**Tecnólogo Médico, Magíster en Ciencias, mención
Microbiología**

Docente Escuela Tecnología Médica UST

Contaminación bacteriana: Riesgo más antiguo asociados a transfusión

Sífilis: ¿Por qué continuar detectando *Treponema pallidum*?

- Previene transmisión
- Importancia en Salud Pública
- Traspaso de Acs a pacientes
- **Marcador de ETS en ETT**
- Exigencia FDA



- Falsos positivos, donantes alarmados
- Exclusión seropositivos ya tratados
- Infrecuente ETT

Riesgo más antiguo asociados a transfusión

Continúa siendo COMPLEJA su erradicación.

La contaminación bacteriana y las transfusiones asociadas a reacciones sépticas son más comúnmente asociadas con plaquetas.

Sepsis asociada a transfusión de plaquetas es ahora la complicación infecciosa más frecuente asociada a transfusión, *por sobre 2 órdenes de magnitud que la incidencia de transmisión viral.*



¿Porque el problema de la contaminación bacteriana no se ha resuelto en los últimos 70 años?

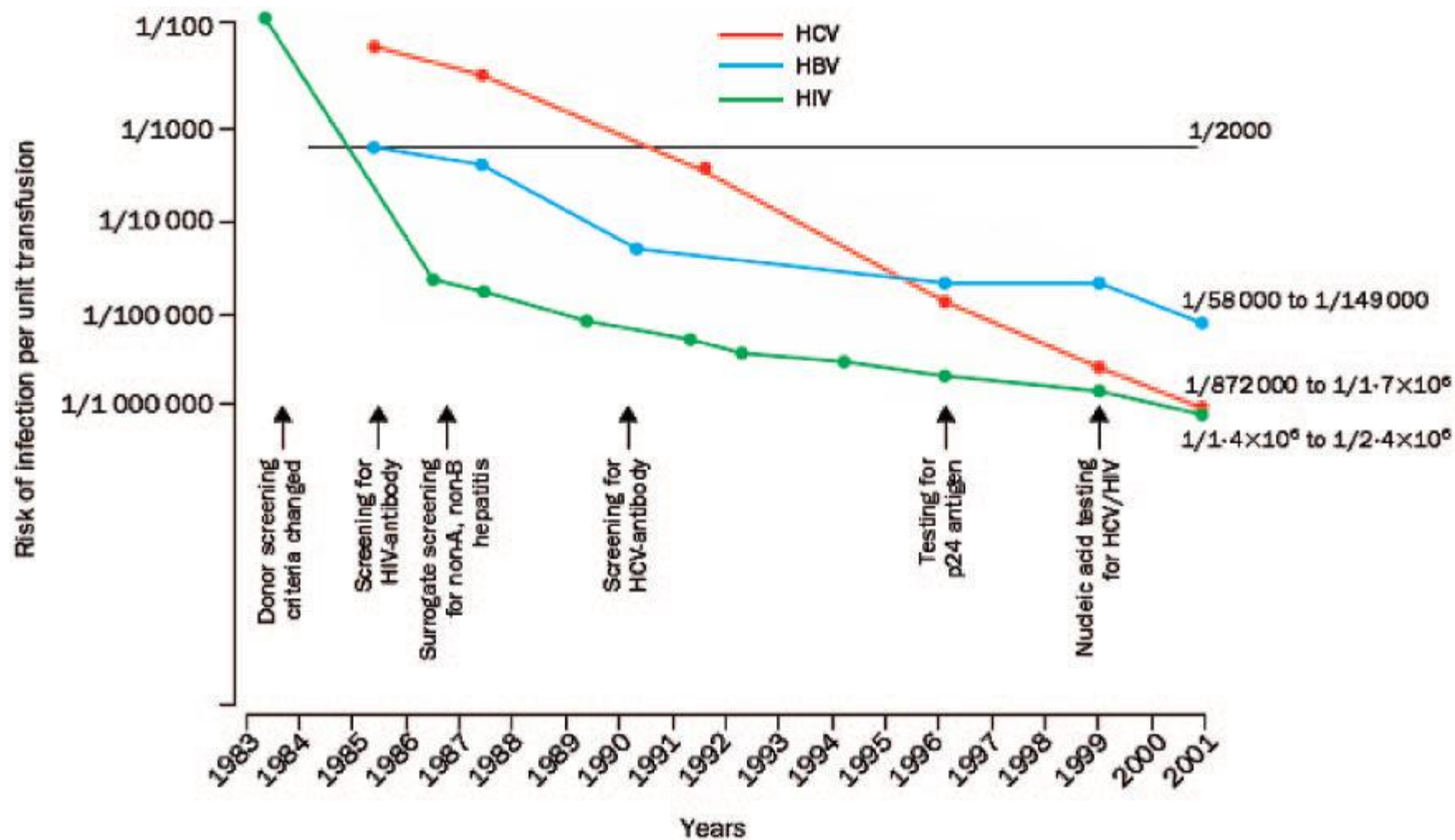
1) Falta reconocimiento de la frecuencia con que ocurre este problema:

Incompleta comprensión de que constituye contaminación clínicamente significativa

No hay un consenso de que métodos es necesario desarrollar e implementar para abordar este problema.

En los últimos años la transmisión de virus por transfusión ha desviado la atención médica y pública.

Brecher et al., Bacterial and parasitic contamination of blood components. 2003. Chapter 1, pag., 1-23.



¿Porque este problema no se ha resuelto en los últimos 70 años?

2) Frecuentemente se confunden los problemas clínicos que enmascaran el reconocimiento de sepsis asociada a transfusión:

Los síntomas y signos clínicos son altamente variables.

Las bacterias no son generalmente detectadas en el momento de donación por estar presentes en muy escasa cantidad y el crecimiento continua en el periodo de almacenamiento, especialmente a TA.

¿Porque este problema no se ha resuelto en los últimos 70 años?

La metodología para la detección presenta enormes dificultades logísticas.



EPIDEMIOLOGÍA:

Ha emergido como el riesgo más común de infección en medicina transfusional.

La incidencia es desconocida. La FDA sólo exige reportes de complicaciones fatales asociadas a transfusión.

Se estima la **contaminación bacteriana en plaquetas 1 en 1.000 unidades a 1 en 3.000**, y se calcula que un **episodio grave de sepsis** por transfusión ocurre aproximadamente **en 1 de 6 plaquetas contaminadas**.

FATALIDADES ASOCIADAS A TRANSFUSIÓN EN EEUU

1976 – 1985 : 10% de 256 fueron por contaminación bacteriana

Sazama K. Transfusion 1990; 30:583-90

1986 – 1991: 16% de 182 debido a contaminación bacteriana

Hoppe Pa. Transfusion 1992;32: 199-201

1998 – 2000: 34 casos confirmados de infección bacteriana transmitida por transfusión (9 fatales).

Este estudio también mostró un gran riesgo de muerte en los pacientes que recibieron componentes que contenían microorganismos gram-negativo.

Summary of recent experiences with culturing of apheresis-derived platelets at three large blood centers^a

Center	No. (rate) of results ^b		
	True positive	False positive	No. tested
New York Blood Center	5 (1/4,101)	5 (1/4,101)	20,506
Florida Blood Services	6 (1/1,790)	5 (1/2,147)	10,737
Puget Sound Blood Center	5 (1/1,800)	15 (1/600)	8,999
Total	16 (1/2,515)	25 (1/1,610)	40,242

^bTrue positive = positive bottles in which an organism was identified and a repeat sample from the bag or a retention sample also contained the same organism. False positive = positive bottles that contained no organism (machine false positive) or from which the organism could not be reisolated from the original bag or a retained sample.

Aislamiento y Fatalidades BACON, SHOT, y BACTEM

Organisms isolated from red cells implicated in transfusion-associated infections^a (*red cells*)

Organism	No. of contaminated units in:			Total no.
	United States	United Kingdom	France (29 isolates, 25 implicated units)	
Gram positive				
Coagulase-negative staphylococci	2 (1)	2	3	7 (1)
Streptococcus spp.			4 ^d	4
Staphylococcus aureus			2 ^b	2
Enterococcus faecalis			1 ^c	1
Bacillus cereus			2	2
Propionibacterium acnes			1	1
Subtotal	2 (1 or 50%)	2 (0 or 0%)	13 (0 or 0%)	17 (1 or 6%)
Gram negative				
Serratia liquifaciens	2 (2)	1	2 (1)	5 (3)
Serratia marcescens	1			1
Yersinia enterocolitica		1 (1)	1	2 (1)
Enterobacter spp.			1 (1)	1 (1)
Acinetobacter spp.			5 (1) ^b	5 (1)
Pseudomonas spp.			2 (1)	2 (1)
Escherichia coli			3 ^c	3
Klebsiella pneumoniae			1	1
Proteus mirabilis			1	1
Subtotal	3 (2 or 67%)	2 (1 or 50%)	16 (4 or 25%)	21 (7 or 33%)
Total	5 (3 or 60%)	4 (1 or 25%)	29 (4 or 14%)	38 (8 or 21%)

^aSummary of organisms identified in the BACON, SHOT, and BACTHEM studies (35, 51, 57). Numbers and percentages of fatalities are given in parentheses.

^bIn one case, *S. aureus* and *A. baumannii* were both isolated from the implicated bag.

^cIn one case, *E. faecalis* and *E. coli* were both isolated from the implicated bag.

^dIn two cases, two isolates of *Streptococcus* were isolated from the implicated bag. Of the eight reported fatalities, seven (87.5%) were due to gram-negative organisms.

Aislamiento y Fatalidades BACON, SHOT, y BACTEM

Organisms isolated from red cells implicated in transfusion-associated infections, platelets

Organism	No. of contaminated units in:			Total no.
	United States	United Kingdom	France	
Gram positive				
Bacillus cereus	1	4 (1)	2	7 (1)
Coagulase-negative staphylococci	9	6 (1)	5	20 (1)
Streptococcus spp.	3 (1)	2		5 (1)
Staphylococcus aureus	4	2 (1)		6 (1)
Propionibacterium acnes			3	3
Subtotal	17 (1 or 6%)	14 (3 or 21%)	10 (0 or 0%)	41 (4 or 10%)
Gram negative				
Klebsiella spp.			2 (1)	2 (1)
Serratia spp.	2 (2)		1 (1)	3 (3)
Escherichia coli	5 (1)	2 (1)	1	8 (2)
Acinetobacter spp.			1	1
Enterobacter spp.	2 (1)	1 (1)	1	4 (2)
Providencia rettgeri	1 (1)			1 (1)
Yersinia enterocolitica	1			1
Subtotal	11 (5 or 45%)	3 (2 or 67%)	6 (2 or 33%)	20 (9 or 45%)
Total	28 (6 or 21%)	17 (5 or 29%)	16 (2 or 13%)	58 (11 or 19%)

α Summary of organisms identified in the BACON, SHOT, and BACTHEM studies (35, 51, 57). Numbers and percentages of fatalities are given in parentheses.

FUENTES DE CONTAMINACIÓN

Durante la flebotomía
Bacteremia en el donante
Contaminación del equipo colector de sangre
Contaminación durante el procesamiento de la sangre.



FIGURE 12.—Blood transfusion kits being packed at the British Army Blood Supply Depot.

ANTISEPSIS DE LA PIEL Y DESECHO DE LA MUESTRA INICIAL

- La inadecuada desinfección de la piel contribuye a la contaminación de los productos sanguíneos.



- La flora normal de la piel produce una sustancial proporción de RAT y muertes reportadas en sistemas de hemovigilancia.

Factores que afectan la desinfección de la piel

- Antiséptico usado
 - Alcohol
 - Tintura de yodo
 - Povidona yodada
 - Clorhexidina
- Concentración de antiséptico
- Único agente antiséptico versus múltiples
- Procedimiento de un paso versus de dos pasos
- Método de aplicación del antiséptico
- Tiempo de contacto entre el antiséptico y la piel
- Entrenamiento y experticia del personal



ANTISEPSIS DE LA PIEL

No. of CFU/plate	% of contaminated donors after disinfection with:			
	Povidone iodine × 2	IPA ^b and iodine	IPA × 2 (sponge)	IPA × 2 (swab)
0	39	79	0	29
≤10	57	93	69	50
≤100	75	100	86	68
≤1,000	96	100	97	89

Evaluation of donor arm disinfection techniques, Vox Sanguinis. 80:135-141

Benjamin et al. March, vol. 51, 2011, Transfusion, disminuyeron en un 56% los cultivos positivos iniciales al usar CHX/IPA al 2% en tres centros de sangre comparados con 32 centros de sangre que usaron IPA/PI 70% en dos pasos

BACTEREMIA DEL DONANTE

- La mayoría sintomáticos, por lo tanto —————> **RECHAZADOS**

DONANTES QUE CURSAN CON BACTEREMIA ASINTOMÁTICA

- Bacteremia asintomática
- Infección de bajo grado o recuperación de una enfermedad bacteriana
- Bacteremia transitoria

BACTEREMIA DEL DONANTE

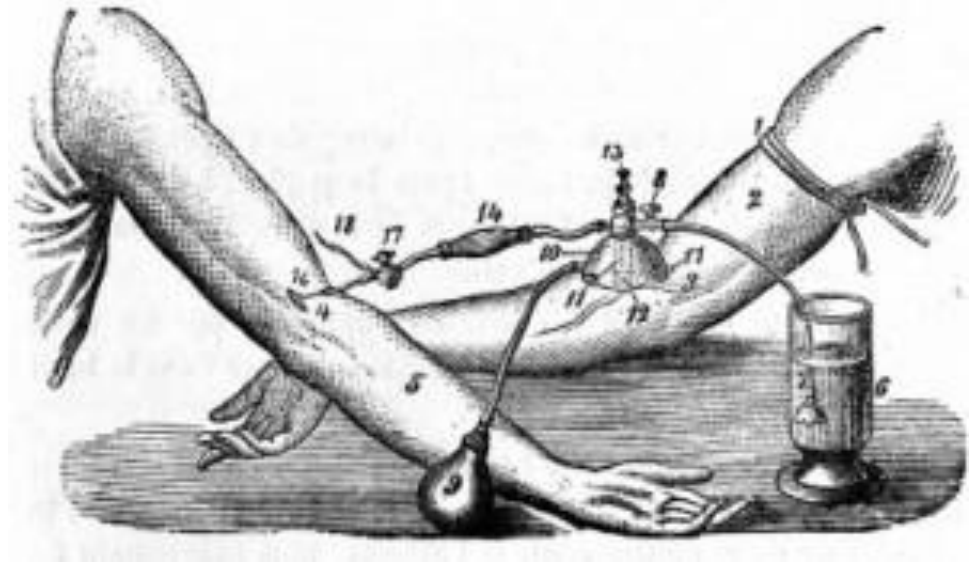
- ***Yersinia enterocolítica*:**
56% de las unidades de GR contaminadas con bacterias
- Otros microorganismos implicados:
Serratia y *Pseudomonas* (principalmente relacionada con contaminación de soluciones desinfectantes, o equipo utilizado, más que con bacteremia asintomática).

Microorganismo emergentes???

Las preguntas de la encuesta aplicada a donantes son suficientemente exhaustivas para detectar primeros síntomas de una bacteremia?

Medidas para reducir el riesgo de transmisión de microorganismos:

- ✓ Exhaustivo screening del donante para evaluar posibles causas de bacteremias.
- ✓ Correcta y efectiva desinfección de la piel.
- ✓ Remoción de los primeros 20 a 30 ml de sangre colectada.



10 Years Experience with Bacterial Screening of Platelet Concentrates in the Netherlands

- Más del 95% de CP son preparados de pool de buffy coats de 5 diferentes donantes.
- Desde 2001 todos los CP son testeados para contaminación bacteriana en el Bact/Alert (aeróbico y anaeróbico, 7,5 ml c/u, 2h p. producción).
- Los CP son liberados con resultado negativo del cultivo en ese momento, pero el cultivo continúa hasta 7 días.
- Si un PC es positivo los 5 CGR son cultivados y éstos sólo se liberan con cultivo de 7 días negativos.

10 Years Experience with Bacterial Screening of Platelet Concentrates in the Netherlands

- 2001 0,95% positivos, CP de aféresis 0,3%
- 2002 introducción método desinfección doble a 0,85%
- 2004 introducción diversión de 10 a 20 primeros ml, esto en conjunto a doble desinfección disminución a 0,37% de contaminación

PC liberados con cultivo negativo, y positivos post transfusión

- 2001-2005: 230 unid. Promedio por año
- 2006-2009: 435 (prom 110 unid/año)...solo 3 casos reportados rx. post transfusional

10 Years Experience with Bacterial Screening of Platelet Concentrates in the Netherlands

IBTT (Infecciones bacterianas transmitidas por transfusión)

- 2003 sistema nacional de hemovigilancia con reporte voluntario.
- Desde 2005 más del 95% de los hospitales participan en el sistema de RTP (reacciones transfusionales en pacientes)
- En los primeros cuando se implementó el screening se reportaron casos severos de IBTT relacionadas a PCs liberados con el dato inicial de cultivo negativo.
- 2007-2009: sólo dos casos de IBTT asociadas a Pcs con screening negativo fueron reportados, con seria o alta severidad (www.tripnet.nl).

DETECCIÓN BACTERIANA

- Diversos métodos se están investigando para la detección de contaminación bacteriana.
- Muchos hacen énfasis en las plaquetas, que tiene mayor riesgo de contaminación bacteriana.
- Varios métodos para detectar contaminación bacteriana son usados en áreas de los Estados Unidos y Europa.

Un método ideal para detectar contaminación bacteriana debe ser rápido, sensible, específico y simple.

DETECCIÓN BACTERIANA

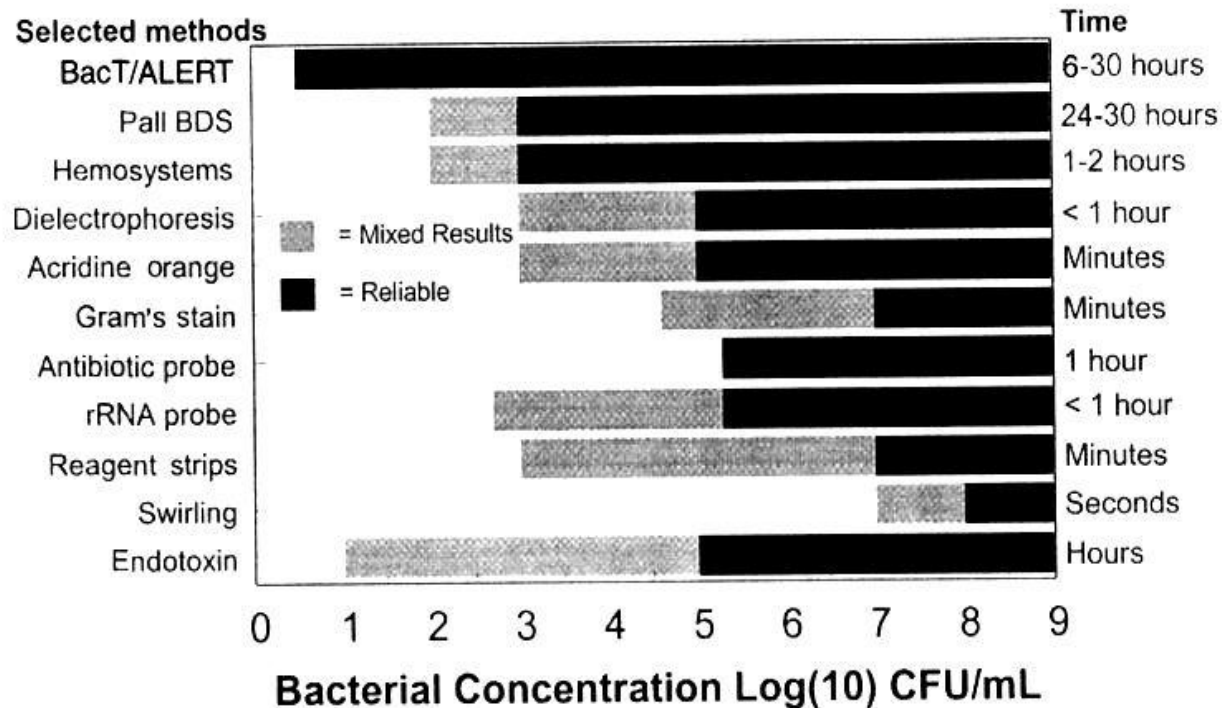
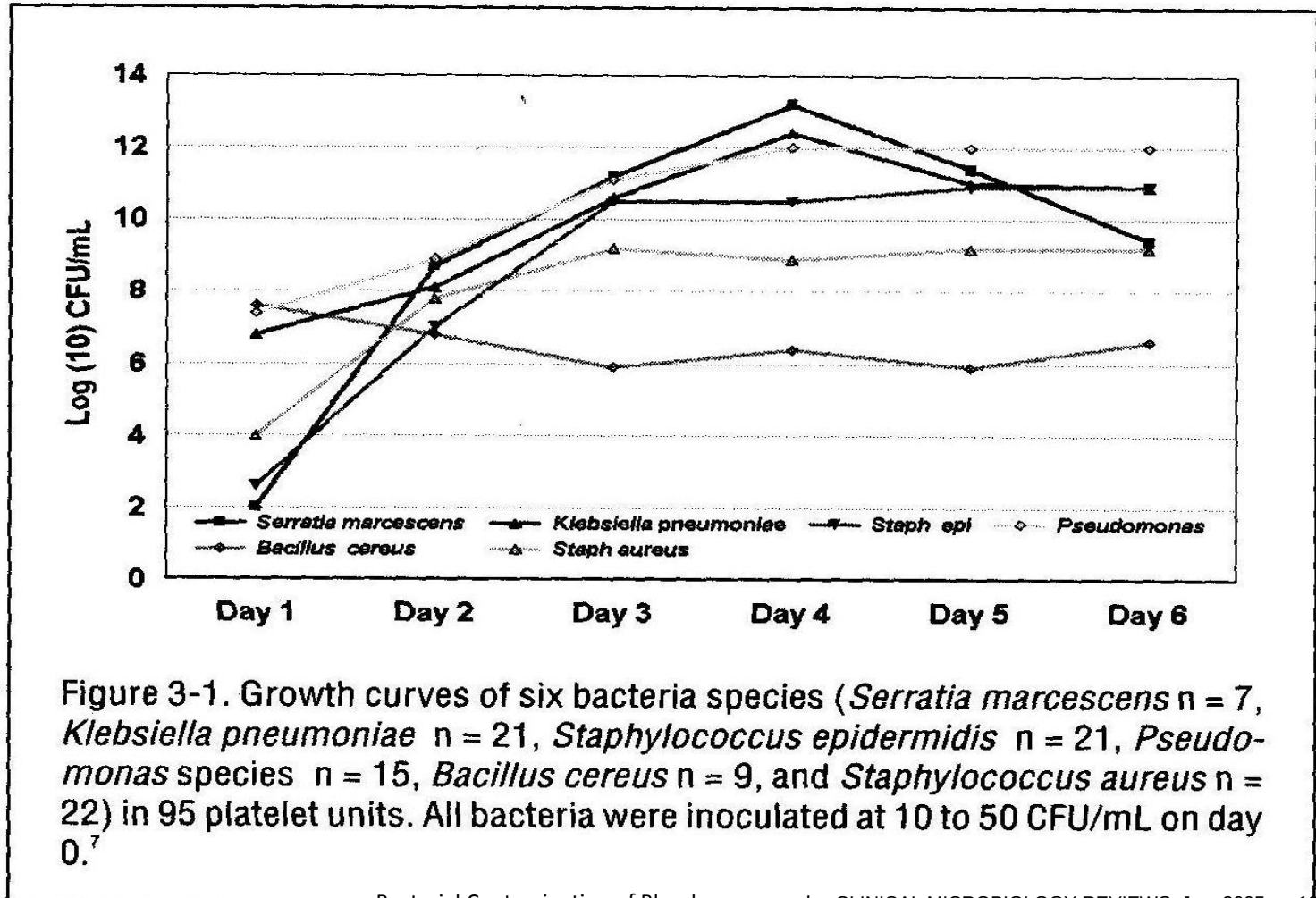


Figure 3-7. Selected detection methods for bacterial contamination of blood components. Approximate limits of detection as reported in current literature. Black areas represent ranges over which each method is considered reliable. Gray shaded areas represent concentrations (CFU/mL) at which some, but not all, bacteria are detected by methodology. Approximate time from beginning to end of assay is reported.

Detección Bacteriana: a los cuantos días posterior al cultivo?



Detección: a los cuantos días posterior al cultivo?

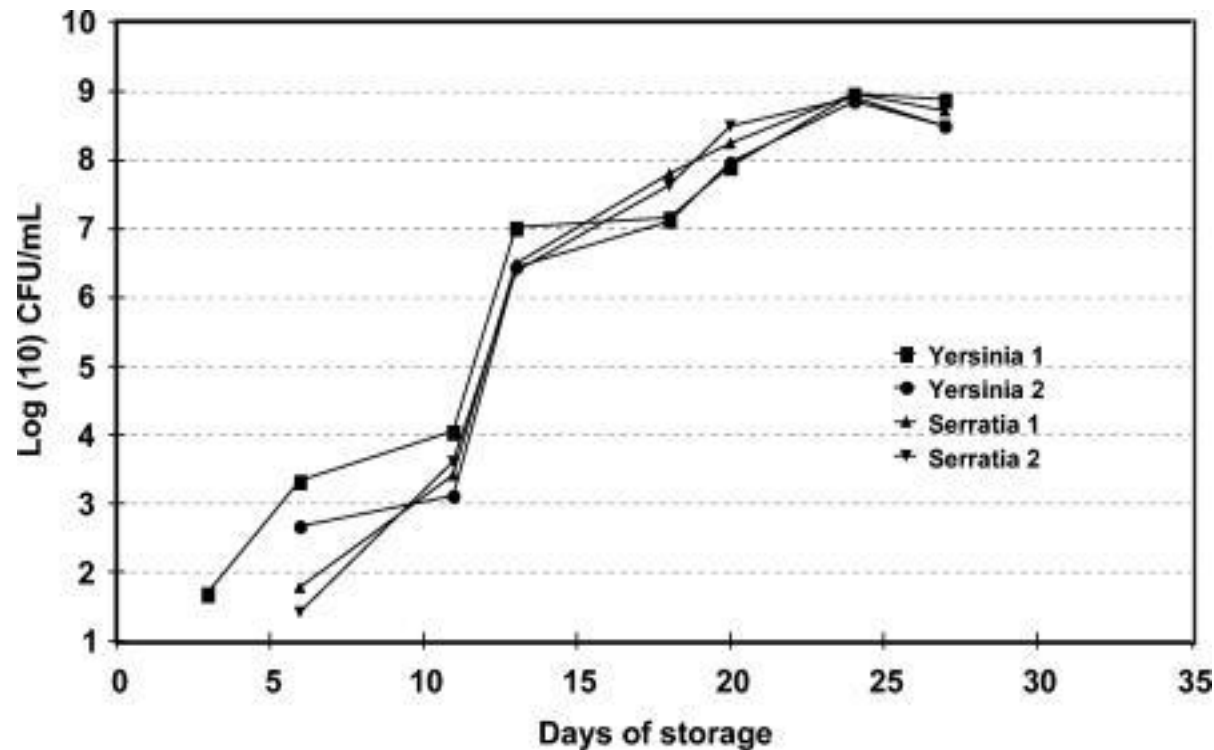


FIG. 2.

Growth curves of four units of AS-3 red blood cells inoculated with *S. liquefaciens* (two units inoculated to 4.2 CFU/ml) and *Y. enterocolitica* (two units inoculated to 11.6 CFU/ml) (5a). Bacteria were not detectable by culture until days 3 to 6. Isolates were from strains actually implicated in post-red-blood-cell-transfusion sepsis (the isolates were kindly provided by M. Arduino, María Antonieta Núñez, Control and Prevention, Atlanta, Ga.).

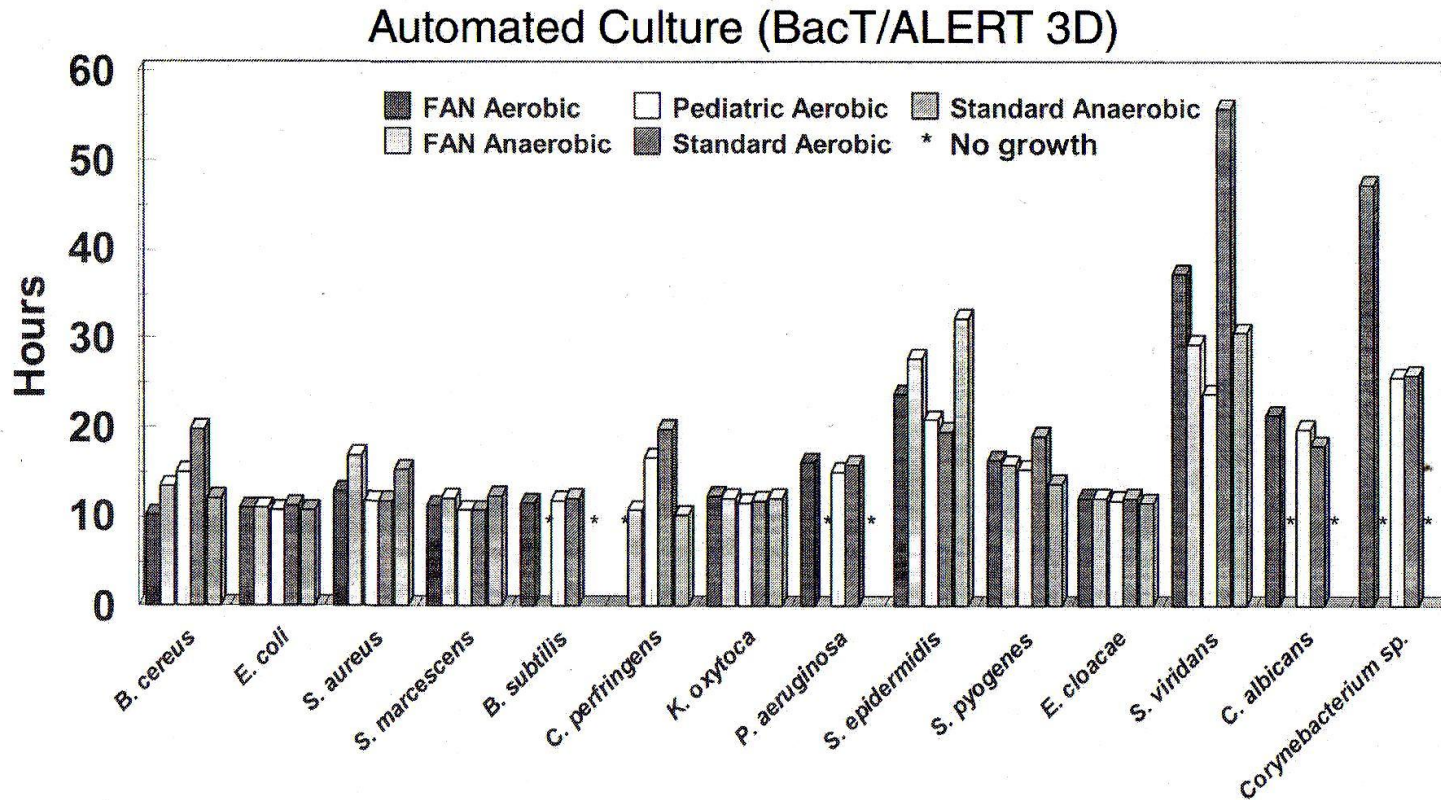
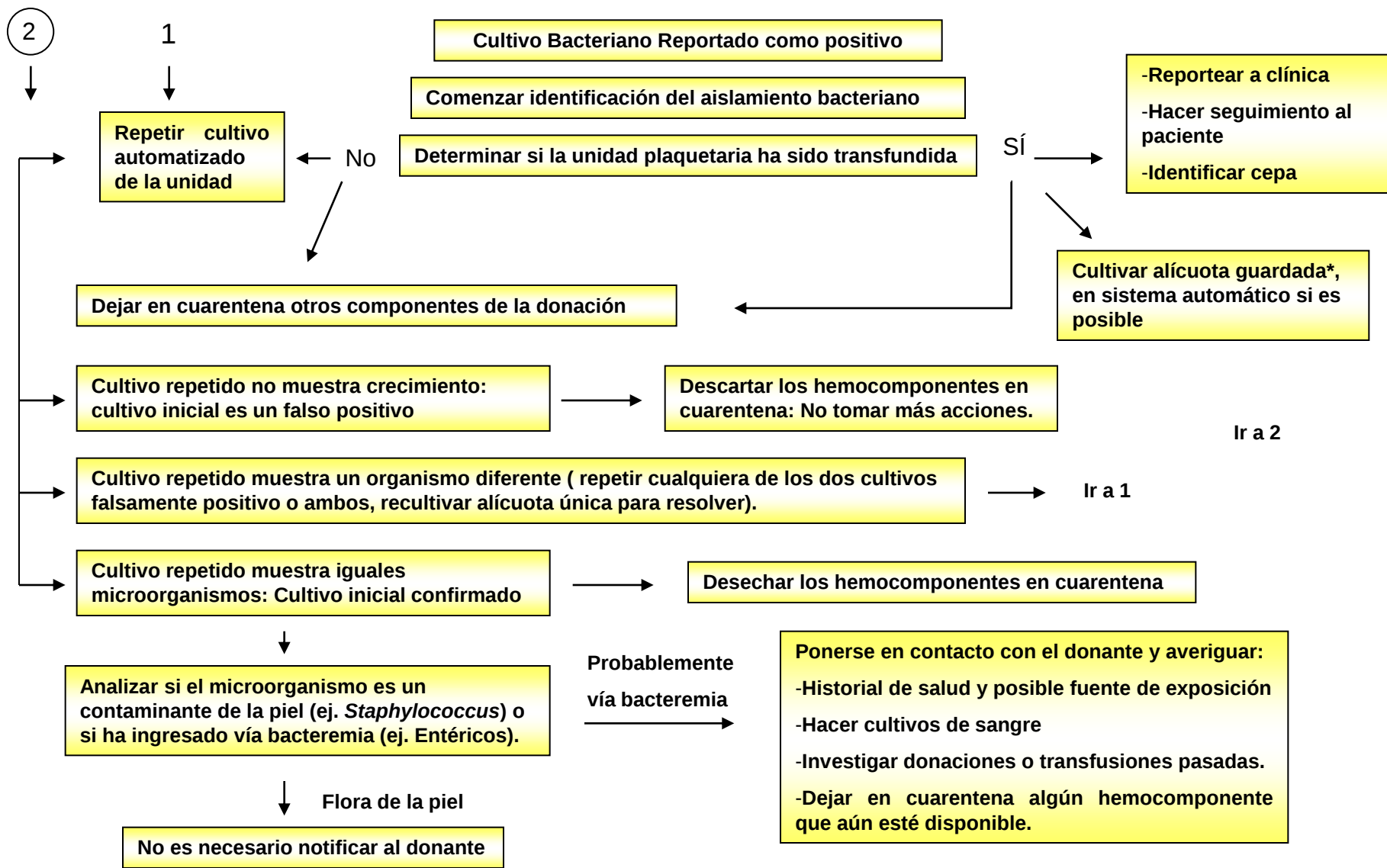


Figure 3-4. Mean time to detection by BacT/ALERT 3D of 14 microbial organisms inoculated at 10 CFU/mL (actual mean = 10.9 CFU/mL), shown by bottle type. (Used with permission from Brecher et al.¹⁰)

EJEMPLO DE UN ALGORITMO DE DETECCIÓN BACTERIANA



* Si el cultivo fue de un pool, re-cultivar unidades individuales o sus alícuotas, si es posible.

MÉTODOS INACTIVADORES DE PATÓGENOS

En 1948 la pasteurización en albúmina sérica.

Minúsculos filtros que no permiten el paso de algunos patógenos.

MIP pueden matar o inactivar a los patógenos.

Varias estrategias: usar como target la membrana lipídica, o interfiriendo con los ácidos nucleicos.

VIH y VHC están envueltos por una membrana como las células. Hay líquidos solventes y detergentes IP especialmente formulados que pueden destruir estas membranas, destruyendo a estos MO.

MÉTODOS INACTIVADORES DE PATÓGENOS

BENEFICIOS Y RIESGOS

Amplia variedad de
microorganismos
contaminantes

No debe afectar la
función celular, no
debe ser tóxico

- En EEUU están permitidos pero no son ampliamente usados.
- Existe preocupación del potencial efecto tóxico, mutagénico y carcinogénico que podrían producir algún residuo de los IP.
- También preocupa que algunos IP químicos podrían unir no solo proteínas y lípidos de virus, sino que también de GR.

MÉTODOS INACTIVADORES DE PATÓGENOS

- Hay MIP para GR, plaquetas y plasma.
- No hay un método común para los tres.
- Generalmente la IP es por adición de una sustancia química al producto sanguíneo.
- Esta sustancia es activada por exposición a la luz o por un cambio en el pH, la sustancia química es capaz de destruir al patógeno.
- También hay sust. químicas. que no requieren activación.

MÉTODOS INACTIVADORES DE PATÓGENOS

- MIP actualmente son usados alrededor del mundo para la conservación de productos seguros.
- Más de 6 millones de unidades de plasma han sido tratadas con IP y transfundidas sin ninguna toxicidad aparente.
- En Europa la inactivación de patógenos ha sido usada por más de década.

MÉTODOS INACTIVADORES DE PATÓGENOS

- Solvente-Detergente
- Azul de Metileno
- Psolarenos
- Rivo flavina



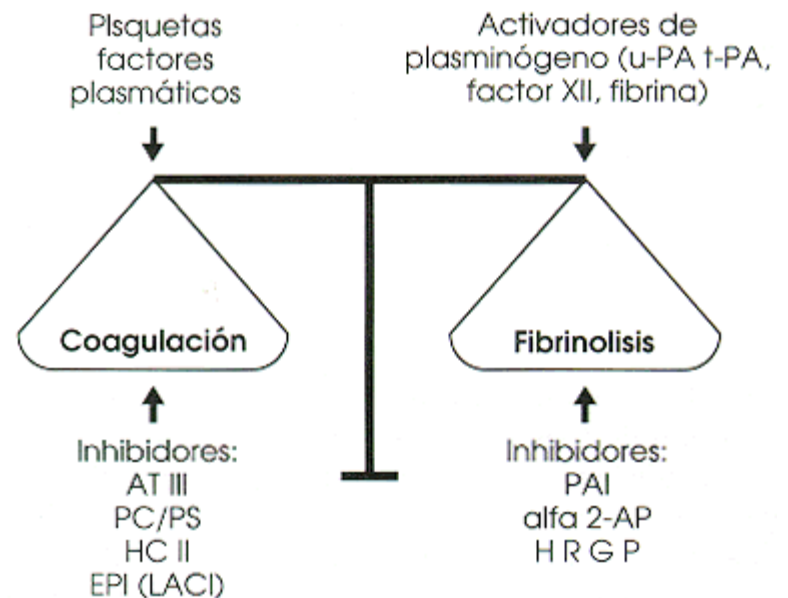
MIP: TRATAMIENTO CON SOLVENTES-DETERGENTES

- Elimina virus por destrucción de la envoltura que lo protege usando un solvente y detergente.

Incubación por 4 horas de un pool de plasma con Tri-n-butyl fosfato (1%) con triton X-100

Remoción de solvente y detergente por adsorción cromatográfica, antes de almacenar el plasma.

- **Destruye VIH, VHB, VHC, VE-B, CMV**
- **Se pueden perder importantes proteínas anticoagulantes del plasma: proteína S y α 2-antiplasmina.**
- **No puede usarse con GR y plaquetas**



MIP: AZUL DE METILENO

- Es un colorante fotoactivo que se usa para inactivar patógenos en unidades simple de plasma.
- Se agrega el colorante a la unidad de plasma y esta se ilumina con una lámpara de sodio de alta intensidad por 15-20 minutos. Luego se realiza filtración.
- El azul de metileno inactiva virus envueltos por unión a los ácidos nucleicos.

MIP: RIVOFLAVINA

- Vitamina B₂.
- Usado para inactivación de patógenos en plaquetas y plasma.
- Hay investigaciones para ver su uso en GR.
- Es disuelto en plaquetas o plasma y expuesto a luz UV, la rivoftavina une DNA o RNA y crea cross-link, rompiendo las cadenas o modificando las bases cuando es fotoactivado.
- Ha sido efectivo en la inactivación de VIH y virus del Nilo, como de algunas bacterias y protozoos.

MIP: PSOLARENOS

- Son pequeñas moléculas encontradas en varias plantas, como en el apio. Tienen la habilidad de cruzar membranas y cápsides virales.
- El psolareno amotosalen (S-59) usado en productos sanguíneos cuando es iluminado se une al DNA o RNA formando cross-links.
- Por ejemplo, cuando une dos hebras de DNA bloquea la replicación, causando muerte de un eventual patógeno.
- S-59 es usado con luz UV-A como IP en plaquetas y plasma.
- Ventaja: corto tiempo de exposición a luz UV (3 minutos)
- Posterior a fotoactivación se degrada a subproductos toxicológicamente seguros

MÉTODOS INHIBIDORES DE PATÓGENOS

El beneficio de la disminución de los riesgos no justifica la introducción de nuevos riesgos por aumento en la frecuencia de las transfusiones.

The dutch Health Council, 2004

RPT: Por otra parte, existen indicios que apuntan a una inesperada toxicidad cardíaca del plasma-Intercept®, riesgo que deberá tenerse en cuenta ala hora de sopesar las ventajas e inconvenientes de utilizar estos nuevos productos plasmáticos.

Eficacia de los distintos tipos de plasma en el tratamiento de la PTT, Simposio S3-3A. Pereira.
Servicio de Hemoterapia y Hemostasia, Hospital Clinic.

Riesgos

Falta determinar y cuantificar el riesgo de contaminación bacteriana: ¿cómo?...mediante cultivo universal de CP (pool y aféresis)

Exhaustivo screening Incluir nuevos riesgos, MO estacionales???. Flebotomía por personal capacitado y experimentado, doble desinfección, eliminación 20 ml iniciales, hemovigilancia de procedimientos.

Prevención

Estrategias

Transfusión con cultivo negativo (cultivo positivo aviso al médico, ATB, cuarentena)

MIP.....





