



**Universidad
Norbert Wiener**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
Escuela Académico Profesional de Tecnología Médica**

“PORCENTAJE DE HEMÓLISIS EN CONCENTRADOS DE
HEMATÍES DURANTE SU ALMACENAMIENTO EN EL BANCO DE
SANGRE DE LA CLÍNICA DELGADO, PERIODO AGOSTO -
SEPTIEMBRE 2019”

Tesis para optar el Título Profesional de
LICENCIADAS EN TECNOLOGÍA MÉDICA EN LABORATORIO
CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA

AUTORES: AROCUTIPA CCOPA, MARIA ELENA
YATACO POMA, JESSICA JANE

LIMA – PERÚ

2020

Tesis

“Porcentaje de hemólisis en concentrados de hematíes durante su almacenamiento en el banco de sangre de la Clínica Delgado, periodo agosto - septiembre 2019”

Línea de investigación

Salud, Enfermedad y Ambiente

Asesor(a)

Mg. T.M Palacios Butrón, Fernando Sarco
CODIGO ORCID: 0000- 0002-1199-8182

Dedicatoria:

A Dios, por colmar nuestras vidas de grandiosas bendiciones, por darnos salud, paciencia, tiempo y voluntad para lograr nuestras metas e iluminar nuestro camino con su infinita gracia y bondad.

A nuestras familias, porque con su amor, consejos, paciencia, comprensión y apoyo incondicional han sido nuestro mejor incentivo en esta etapa de nuestras vidas.

A nuestros docentes, por compartir sus conocimientos, experiencias y sobre todo su amistad. Por el tiempo que le dedican a la labor de formar grandes profesionales de éxito.

Agradecimiento:

A Dios, por guiarnos sabiamente y brindarnos la fortaleza necesaria para seguir adelante cuando se presentan adversidades.

A la Clínica Delgado, por abrirnos sus puertas para nuestro desarrollo como profesionales de la salud.

A nuestro asesor, por haber compartido sus conocimientos durante todo el desarrollo de este trabajo de investigación y sobre todo por su paciencia, tiempo y dedicación.

Un agradecimiento especial a la *Dra. Ina Pérez Huaynalaya* y al *Mg. TM. Segundo León Sandoval* por su compromiso, sus valiosos aportes académicos y acertada orientación para la realización de este trabajo de investigación.

Además, agradecemos a *nuestras familias* y a todas aquellas personas que de manera desinteresada nos apoyaron y aportaron en la realización de esta investigación.

Para todos ustedes, nuestra eterna gratitud y que Dios llene de bendiciones sus vidas.

ÍNDICE

	Pág.
PORTADA	i
TÍTULO	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
ÍNDICE	v
LISTA DE CUADROS	viii
LISTA DE TABLAS	viii
LISTA DE GRÁFICOS	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
INTRODUCCIÓN	xi
CAPÍTULO I: EL PROBLEMA	12
1.1. Planteamiento del problema	12
1.2. Formulación del problema	13
1.2.1. Problema general	13
1.2.2. Problemas específicos	13
1.3. Objetivos de la investigación	14
1.3.1. Objetivo general	14
1.3.2. Objetivos específicos	14
1.4. Justificación de la investigación	14
1.4.1. Teórica	14
1.4.2. Metodológica	15
1.4.3. Práctica	15
1.5. Delimitaciones de la investigación	16
1.6. Limitaciones de la investigación	16
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	18
2.1. Antecedentes de la investigación	18
2.2. Bases teóricas	21

2.3. Terminología básica	35
2.4. Formulación de la hipótesis	37
2.4.1. Hipótesis general	37
2.4.2. Hipótesis específicas	37
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	37
3.1. Método de investigación	38
3.2. Enfoque investigativo	38
3.3. Tipo de investigación	38
3.4. Diseño de investigación	38
3.5. Población, muestra y muestreo	38
3.6. Variables y operacionalización	39
3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	41
3.7.1. Técnica	41
3.7.2. Descripción	41
3.7.3. Validación	43
3.7.4. Confiabilidad	44
3.8. Procesamiento y análisis de datos	44
3.9. Aspectos éticos	45
CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	44
4.1. Resultados	46
4.1.1. Análisis descriptivo de resultados	46
4.1.2. Discusión de resultados	54
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	63
5.1. Conclusiones	63
5.2. Recomendaciones	64
REFERENCIAS	65
ANEXOS	74
Anexo 1: Matriz de consistencia.	74
Anexo 2: Instrumento de Investigación: Ficha de recolección de datos.	75
Anexo 3: Formato de selección del postulante.	76
Anexo 4: Sistema HemoCue® Plasma/Low Hb.	78
Anexo 5: Determinación del porcentaje de hemólisis.	80

Anexo 6: Validez del instrumento: Certificado de calibración y control de calidad	83
Anexo 7: Confiabilidad del instrumento: Características de rendimiento específico del HemoCue 301 y del HemoCue Plasma Low	89
Anexo 8: Carta de aprobación del proyecto de tesis.	90
Anexo 9: Autorización institucional del proyecto de investigación.	91
Anexo 10: Informe del asesor de turnitin	92
Anexo 11: Imágenes de Tesis	93

LISTA DE CUADROS

Cuadro N°	Pág.
1. Matriz de operacionalización de variables	40

LISTA DE TABLAS

Tabla N°	Pág.
1. Número de unidades de concentrados de hematíes analizados por periodo de tiempo de conservación.	46
2. Valores promedio de hemoglobina total, hematocrito, hemoglobina libre y el porcentaje de hemólisis, en los diferentes momentos de medición.	53

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico N°	Pág.
1. Incremento de hemoglobina libre (g/dL) en diferentes periodos de tiempo de conservación de concentrados de hematíes.	47
A. Día 2 al día 7 de conservación	47
B. Día 2 al día 21 de conservación	48
C. Día 2 al día 28 de conservación	48
D. Día 2 al día 35 de conservación	49
2. Incremento porcentual de hemólisis en diferentes periodos de tiempo de conservación de unidades de concentrados de hematíes.	50
A. Día 2 al día 7 de conservación	50
B. Día 2 al día 21 de conservación	50
C. Día 2 al día 28 de conservación	51
D. Día 2 al día 35 de conservación	51
3. Correlación entre el tiempo de almacenamiento y la media del porcentaje de hemólisis en los concentrados de hematíes almacenados en el banco de sangre.	52

RESUMEN

Objetivo: Determinar el porcentaje de hemólisis producido en unidades de concentrados de hematíes durante su almacenamiento en el banco de sangre de la Clínica Delgado durante el periodo de agosto a septiembre 2019. **Materiales y métodos:** Se realizó un estudio de tipo descriptivo, prospectivo y observacional, donde fueron seleccionadas 400 unidades sanguíneas, la sangre total se colectó en una bolsa de sangre cuádruple con CPD como anticoagulante y OPTISOL como solución aditiva. Posterior a ello, la unidad sanguínea se fraccionó y los concentrados de hematíes fueron leucorreducidos. Luego se tomó una muestra de sangre de dos fragmentos de la tubuladura los días 2, 7, 21, 28 y 35, se centrifugó y el sobrenadante se midió utilizando el analizador HemoCue® Plasma/Low para la medición de hemoglobina libre, el otro fragmento de la tubuladura se empleó para hallar el hematocrito y la hemoglobina total. Por último, se empleó la fórmula para el cálculo del porcentaje de hemólisis. **Resultados:** El porcentaje de hemólisis se incrementó gradualmente desde el día 2 hasta el día 35 de almacenamiento, observándose el menor porcentaje de hemólisis en el día 2 con una media de 0.12%, mientras que en el día 35 fue en promedio 0.35%. El porcentaje máximo de hemólisis registrado en las 400 muestras fue de 0.76%, con una media general de hemólisis de 0.27% (rango, 0.03-0.76%). **Conclusiones:** El porcentaje de hemólisis aumentó de manera progresiva mostrando una correlación positiva con los días de almacenamiento, sin pasar el límite permisible de 0.8% según el requerimiento de la EDQM, indicando el efecto de las condiciones óptimas de procesamiento y almacenamiento en los concentrados de hematíes.

Palabras clave: Concentrado de hematíes, lesiones de almacenamiento, hemólisis, hemoglobina libre.

ABSTRACT

Aim: To determine the percentage of hemolysis produced in units of red blood cells concentrates during its storage in the blood bank of the Delgado Clinic between August and September 2019. **Methods:** We implemented a descriptive, prospective, and observational study and 400 blood units were selected. Whole blood was collected in a four-units bag with CPD as anticoagulant and OPTISOL as additive solution. All blood units were fractionated, and the red blood cells concentrates were leucocyte-reduced. Then, two blood samples were collected from two fragments of the tubules on days 2, 7, 21, 28 and 35, were spined and the supernatant was measured using the HemoCue® analyzer and the Plasma/Low for the measurement of free hemoglobin. The other fragment of the tubules was used for hematocrit and total hemoglobin measurement. Lastly, a formula was applied for the calculation of the percentage of hemolysis. **Results:** The percentage of hemolysis was gradually increased since day 2 until day 35 of storage, observing the lower percentage of hemolysis in the day 2 with an average of 0.12% while in the day 35 was on average 0.35%. The maximum percentage of hemolysis registered in the 400 samples was 0.27% (rank 0.03 – 0.76%). **Conclusions:** The percentage of hemolysis increased progressively showing a positive correlation with storage days, without surpassing the allowable limits of 0.8% according to the EDQM regulations, indicating the effect of the optimal conditions of processing and storing among the red blood cell concentrates.

Keywords: Red blood cells concentrate, storage lesions, hemolysis, free hemoglobin.

INTRODUCCIÓN

El sistema de almacenamiento de los concentrados de hematíes en un banco de sangre tiene como finalidad, contrarrestar el daño que produce la maquinaria metabólica intrahemática a la membrana del hematíe, para mejorar su viabilidad post-transfusión. En los últimos años se ha enfatizado la necesidad de un control más estricto sobre la calidad de la sangre y sus productos. Es por ello, que la evaluación precisa y objetiva de la hemólisis es importante para mantener la seguridad de los receptores de las transfusiones sanguíneas, así mismo, es un parámetro relevante para evaluar la calidad de los hematíes almacenados. Por tal motivo, la investigación titulada: “Porcentaje de hemólisis en concentrados de hematíes durante su almacenamiento en el banco de sangre de la Clínica Delgado periodo agosto- septiembre 2019”, se desarrolla a continuación.

La estructura de la presente tesis está compuesta por V capítulos:

- En el capítulo I se encuentran claramente definidos el planteamiento, formulación, objetivos, justificación, delimitaciones y las limitaciones de la investigación.
- El capítulo II, está conformado por el marco teórico y los antecedentes relacionados al tema que aportan un sustento científico adecuado al estudio, además, de la formulación de la hipótesis a investigar.
- En el capítulo III se presenta la metodología del estudio, en la cual se indica el método de investigación, enfoque, tipo, diseño, población, muestra, variables y su operacionalización, técnicas e instrumentos de recolección de datos, procesamiento y análisis de los datos obtenidos, así como, los aspectos éticos.
- El capítulo IV hace referencia a los resultados e interpretación de cada una de las tablas y gráficos presentados. Además, de la discusión de los resultados obtenidos.
- Y Finalmente, el capítulo V que presenta las conclusiones y recomendaciones obtenidas del trabajo de investigación.

CAPÍTULO I: EL PROBLEMA

1.1. Planteamiento del problema

En la actualidad, los bancos de sangre tienen por objetivo proveer hemocomponentes adecuados, entre ellos, concentrados de hematíes que suministren oxígeno de manera eficiente a los tejidos, y sobrevivan en la circulación del receptor el tiempo esperado para cumplir sus funciones. Sin embargo, durante la colecta, el procesamiento, el manejo y el almacenamiento podrían ocurrir cambios morfológicos y fisiológicos en la membrana de los hematíes, lo que representa un reto para los bancos de sangre que se esfuerzan en proveer la máxima seguridad y efecto terapéutico de los hemocomponentes, pudiendo producirse hemólisis y con ello la liberación de hemoglobina al plasma y un incremento de la toxicidad dada por la hemoglobina libre, la cual puede tener efectos perjudiciales, como son, daño renal, nervioso, circulatorio y en casos extremos incluso llegar a causar la muerte (1). Diversas investigaciones realizadas a nivel internacional demuestran que los concentrados de hematíes almacenados experimentan cambios bioquímicos y estructurales, denominados "lesiones de almacenamiento", los cuales probablemente influyen en la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, la capacidad del hematíe por cambiar de forma, la estabilidad de la membrana del mismo y otros factores que afectan la función de estas células y la eficacia de la transfusión (2-4).

La Dirección Europea de Calidad de Medicamentos y Atención Sanitaria del Consejo de Europa (EDQM), presenta la guía para la preparación, el uso y la garantía de calidad de los componentes sanguíneos donde se establece como requerimiento según el estándar de calidad, que los concentrados de hematíes deben tener un porcentaje de hemólisis <0.8% en

la muestra control, mientras que para la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de los Estados Unidos (EE.UU) es <1.0% (5).

En Perú, el Ministerio de Salud (MINSA), a través del Programa Nacional de Hemoterapia y Banco de Sangre (PRONAHEBAS), órgano dependiente de la Dirección General de Donaciones, Trasplantes y Banco de Sangre (DIGDOT) regula el uso de la sangre, sus componentes y derivados, y hemos constatado que no existe entre las normas del PRONAHEBAS; una norma que mencione la medición de hemólisis en los concentrados de hematíes a pesar de que se cuenta con un manual de calidad institucional (6).

El banco de sangre de la Clínica Delgado produce un aproximado de 4800 unidades de concentrados de hematíes al año. A la Clínica acude una considerable población de pacientes quirúrgicos, oncológicos y hematológicos, los que requieren de concentrados de hematíes seguros y eficaces, libres de hemólisis. Por ello, vemos la necesidad de evaluar el porcentaje de hemólisis, ya que éste representa uno de los indicadores claves de la calidad e integridad de los productos sanguíneos. Por lo expuesto párrafos arriba, consideramos importante realizar la investigación titulada: “Porcentaje de hemólisis en concentrados de hematíes durante su almacenamiento en el banco de sangre de la Clínica Delgado periodo agosto-septiembre 2019”.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿Cuál será el porcentaje de hemólisis producido en los concentrados de hematíes durante su almacenamiento en el banco de sangre de la Clínica Delgado periodo agosto-septiembre 2019?

1.2.2 Problemas específicos

- ¿Se podrá determinar adecuadamente la concentración de hemoglobina libre mediante fotometría en concentrados de hematíes almacenados en el banco de sangre de la Clínica Delgado, periodo agosto -septiembre 2019?

- ¿Cuál será la relación que existe entre el porcentaje de hemólisis con los días de almacenamiento, en los concentrados de hematíes almacenados en el banco de sangre de la Clínica Delgado, periodo agosto -septiembre 2019?

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. General

Determinar el porcentaje de hemólisis producido en unidades de concentrados de hematíes durante su almacenamiento en el banco de sangre de la Clínica Delgado, periodo agosto-septiembre 2019.

1.3.2. Específicos

- Determinar la concentración de hemoglobina libre mediante fotometría en concentrados de hematíes almacenados en el banco de sangre de la Clínica Delgado, periodo agosto -septiembre 2019.
- Identificar la relación que existe entre el porcentaje de hemólisis con los días de almacenamiento, en los concentrados de hematíes almacenados en el banco de sangre de la Clínica Delgado, periodo agosto-septiembre 2019.

1.4. Justificación de la investigación

1.4.1. Teórica

Con la elaboración de la presente investigación se buscó mediante la aplicación de la teoría y los conceptos básicos relacionados al porcentaje de hemólisis, contribuir a mejorar la calidad de los concentrados de hematíes y aumentar la seguridad transfusional. Teniendo presente que las transfusiones de hematíes proporcionan al paciente un aumento en la concentración de hemoglobina y suministro de oxígeno a los tejidos, evitando la hipoxia tisular, consecuencia de procesos anémicos, por ello, es necesario que la hemoglobina se mantenga intacta en el interior del hematíe para que cumpla su función. Además, se conoce que una unidad de sangre contiene entre 45 y 75 g de hemoglobina (7) y un hematocrito de entre 65 y 75% (5,8) que una vez transfundidos en el receptor producirán un incremento del hematocrito equivalente entre 3 a 5 % (9), empíricamente se ha podido demostrar que una unidad de hematíes transfundida aumenta la hemoglobina en promedio de 1 a 1.7 g/dL, sin

embargo, esto puede verse afectado si el hematíe se hemoliza por diversos factores, lo cual hace que la hemoglobina se libere de su interior y ya no pueda mantenerse dentro del hematíe para que continúe ejerciendo su función de transporte de oxígeno, siendo las lesiones producto del almacenamiento el principal factor que altera el metabolismo intrahemático del hematíe originando causas irremediables de lesiones en la membrana celular y la consecuente hemólisis que conllevaría a una disminución de la hemoglobina y por consecuencia causando un efecto no esperado y quizá, perjudicial para el paciente.

1.4.2. Metodológica

Para lograr los objetivos del estudio se emplearon fichas de recolección de datos, que fueron llenadas eligiendo concentrados de hematíes que cumplieron con los criterios de inclusión necesarios. Donde los puntos a considerar fueron la fecha de ingreso, de salida, el número de donación, el grupo sanguíneo y el tiempo de extracción de la unidad. Así como, los días de almacenamiento, medición del hematocrito, la hemoglobina, hemoglobina libre y el porcentaje de hemólisis de la unidad sanguínea. Por otro lado, la técnica de medición se realizó a partir de la tubuladura del concentrado de hematíes, la hemoglobina libre se midió utilizando el Sistema HemoCue® plasma/ Low Hb, para la medición de la hemoglobina total se empleó el hemoglobinómetro HemoCue® Hb 301, mientras que para la medición del hematocrito se utilizó una centrifuga para microhematocritos. Todas estas mediciones nos permitieron determinar el porcentaje de hemólisis empleando una fórmula matemática.

1.4.3. Práctica

De acuerdo con los objetivos del estudio, este permitió conocer de manera indirecta sí el manejo y procesamiento de la sangre es el adecuado, a su vez medir si la metodología empleada en este estudio es aplicable en el banco de sangre y con ello mejorar la calidad del componente sanguíneo que se está entregando al paciente. La detección de hemólisis excesiva también es importante para minimizar la transfusión de concentrados de hematíes contaminados con bacterias. Además, se conoce que el nivel de hemoglobina libre es un indicador de hemólisis, la misma que es el resultado de una alteración en la membrana de los hematíes durante el almacenamiento, por consiguiente, el porcentaje de hemólisis se vuelve un parámetro importante para evaluar la calidad del producto sanguíneo (1,4).

1.5. Delimitaciones de la investigación

1.5.1. Temporal

El desarrollo de este estudio de investigación se llevó a cabo en los meses de agosto hasta septiembre del año 2019.

1.5.2. Espacial

Esta investigación se desarrolló en el servicio de banco de sangre de la Clínica Delgado en la ciudad de Lima, Perú.

1.5.3. Recursos

Para la realización del presente trabajo de investigación se contó con recursos humanos (autores y asesor), bienes (materiales de escritorio y computadoras) y servicios (internet, movilidad, fotocopias e impresiones entre otros) los cuales fueron solventados por las investigadoras.

Por otro lado, aquellos equipos, materiales de procesamiento, consumibles y reactivos empleados de manera rutinaria en el servicio de Banco de Sangre fueron solventados por la Clínica Delgado. No obstante, los equipos e insumos pertenecientes al Sistema HemoCue Plasma Low fueron adquiridos por la clínica para la realización del presente estudio y solventados en su totalidad por la misma, sin necesidad de su compra por parte de las tesis.

1.6. Limitaciones de la investigación

Entre las principales limitaciones del estudio encontramos:

- No existe bibliografía nacional sobre el tema en mención, por lo que se tuvo que recurrir a fuentes internacionales para desarrollar el marco teórico y dar sustento científico al estudio.
- No se pudo realizar la medición de otros indicadores de hemólisis como la concentración de potasio y LDH, debido a que no se tuvo acceso a los reactivos y equipos necesarios para la medición.
- A todas las unidades de concentrados de hematíes no se midió el porcentaje de hemólisis los días 7,21,28 y 35; puesto que, el banco de sangre de la Clínica Delgado abastece constantemente con unidades sanguíneas a una considerable población de pacientes tanto en Lima como en otras ciudades.

- No se pudo estudiar la extensión del porcentaje de hemólisis hasta por 42 días de almacenamiento, debido a, que la mayoría de nuestros concentrados de hematíes se entregan y transfunden dentro de los 35 días.
- La medición de los hematocritos en los concentrados de hematíes necesario para hallar el porcentaje de hemólisis no se realizó mediante un equipo automatizado, ya que, el servicio de Banco de Sangre solo cuenta con una microcentrífuga calibrada de manera rutinaria para realizar dicha medición.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

López, Y. y col. realizaron un estudio en el año 2017 titulado “Control de calidad de sangre desplammatizada: Evaluación de la hemólisis” en Uruguay, cuyo objetivo fue comparar la hemólisis medida del centro de la bolsa de sangre desplammatizada con respecto a los segmentos de las tubuladuras, después de escurrirlos y mezclarlos minuciosamente para asegurar su homogeneidad. Su estudio fue descriptivo y comparativo en 138 concentrados de hematíes que fueron analizados empleando muestras obtenidas de las tubuladuras y del centro de la bolsa. Los principales resultados fueron que la hemólisis aumentó progresivamente en función a los días de almacenamiento del producto sanguíneo, mientras que el promedio de hemólisis al día de vencimiento fueron 0.79% en los segmentos de las tubuladuras y 0.54% en el centro de la bolsa. Los autores concluyeron que la hemólisis medida en las tubuladuras de los concentrados de hematíes no refleja de manera confiable el mismo parámetro que en el interior de la bolsa y en realidad la sobreestimó y, por ende, no son una fuente confiable para la medida de hemólisis (10).

Sayeedul, A. y col. realizaron una investigación en el año 2016 titulada “Study of Hemolysis During Storage of Blood in the Blood Bank of a Tertiary Health Care Centre” en la India, cuyo objetivo fue ver la extensión de la hemólisis durante el procesamiento y el almacenamiento de los hematíes en diferentes intervalos de tiempo en condiciones del banco de sangre, junto con el nivel plasmático de LDH y potasio. Su estudio fue prospectivo en una muestra de 46 donantes después de obtener su historia clínica detallada, el examen físico necesario y la estimación de hemoglobina. Los principales resultados del estudio fueron que el nivel de hemoglobina libre y el porcentaje de hemólisis aumentaban progresivamente con

el almacenamiento junto con el nivel de LDH y potasio, sin embargo, la extensión de la hemólisis no excedió el límite permitido de 0.8% hasta 42 días de almacenamiento y 15 bolsas de sangre que mostraron hemólisis visual en el día 28, no excedieron el umbral del 0.8% de hemólisis. Los autores concluyeron que la hemólisis reducida obtenida en este centro puede explicarse por el uso de la solución de aditivos SAGM y DEHP como plastificante utilizados en las bolsas de sangre para el almacenamiento prolongado (11).

Uwe, N. y col. realizaron un estudio en el año 2015 denominado “Non-invasive detection of free hemoglobin in red blood cell concentrates for quality assurance”, en Alemania, cuyo objetivo fue implementar un nuevo dispositivo óptico que permita la medición de la concentración de hemoglobina libre en las bolsas de concentrado de hematíes y con ello implementar un método que aumente la seguridad de las transfusiones. Su estudio fue transversal en muestras diluidas de concentrados de hemoglobina libre las cuales se repitieron tres veces. Los resultados fueron que los cálculos de desviación estándar obtenidos dieron un límite de detección de 2.3 g /dL y un error promedio de 1.0 a 2.4 g/dL. En conclusión, el sensor óptico de mano utilizado para medir la hemólisis permite la determinación no invasiva de hemoglobina libre en hematíes con un alto grado de precisión, así como también se prevé un uso adicional del sensor para la determinación de hematíes residuales en plasma y plaquetas (12).

Makroo, RN. y col. realizaron un estudio en el año 2011 denominado “Evaluation of the red cell hemolysis in packed red cells during processing and storage”, en la India, cuyo objetivo fue evaluar la extensión de la hemólisis en los hematíes durante su almacenamiento y el efecto de la leucorreducción y la composición de la solución de aditivos en el mismo. Su estudio fue prospectivo con un muestreo de 80 unidades de sangre entera, 40 almacenadas en SAGM después de la leucorreducción y 40 en ADSOL sin filtros de leucorreducción entre mayo y octubre del 2009. Entre los principales resultados se observó un aumento en el porcentaje de hemólisis de una media de 0.10% en el día 0 a 0.55% en el día 42 con SAGM, y de 0.09% en el día 0 a 0.54% en el día 42 con ADSOL, a pesar de ello en el día 42 del almacenamiento, la hemoglobina libre en todas las unidades de hematíes estaba dentro del nivel permitido, el porcentaje medio de hemólisis fue ligeramente mayor en las bolsas que contenían SAGM con un filtro de leucorreducción integral en comparación con las bolsas que contenían ADSOL. En conclusión, la hemólisis presentada en los hematíes aumenta con el almacenamiento, sin embargo, la hemólisis no superó los límites permisibles en ningún

momento, lo que indica el efecto de las condiciones óptimas de procesamiento y almacenamiento de los hematíes (13).

Sawant, RB. y col. realizaron una investigación en el año 2007 titulada “Red cell hemolysis during processing and storage”, en la India, cuyo objetivo fue investigar el impacto de diversos procedimientos de preparación de hematíes con el grado de hemólisis y cuantificar los niveles de hemoglobina plasmática en concentrados de hematíes con dos soluciones aditivas diferentes durante el almacenamiento. Su estudio fue prospectivo en la cual se colectaron 25 bolsas de sangre con CPDA-1, SAGM y ADSOL. Los principales resultados fueron que las unidades almacenadas en ADSOL tenían hemólisis mínima (media = 0.29%, rango: 0.14 a 0.50%), la hemólisis máxima (media=0.35%, rango: 0.12 a 0.70%) se asoció con las unidades que tenían SAGM, mientras que las unidades de CPDA-1 mostraron una hemólisis media de 0.31% (rango: 0.07 a 0.68%). En conclusión, la inspección visual de la hemólisis conduce a un descarte involuntario de concentrados de hematíes y por tal motivo la rutina para la hemólisis de componentes sanguíneos se debe realizar utilizando métodos como el analizador de hemoglobina con plasma de TMB o HemoCue (14).

Janatpour, KA. y col. realizaron una investigación en el año 2004 titulada “Visual assessment of hemolysis in red blood cell units and segments can be deceptive”, en California, cuyo objetivo fue comparar tres métodos para evaluar los niveles de hemoglobina libre. Su estudio fue prospectivo, en él se emplearon 10 unidades de hematíes recogidos en CPDA-1 y 10 unidades de hematíes almacenados en ADSOL, utilizando para ello los métodos de inspección visual, método químico con TMB, y un método fotométrico con HemoCue Plasma Low. En los principales resultados se observaron que la evaluación visual tendió a sobrestimar la hemólisis, mientras que los resultados del HemoCue fueron ligeramente superiores a TMB ($n = 400$, $r^2 = 0.894$, $\text{Hemocue} = 0.043 + [0.770 \times \text{Sigma}]$), y que ninguna unidad se habría descartado en base a un nivel de hemólisis de al menos 0.6 g/dL (aprox. 1%) si se midiera por un método químico, sin embargo, el 50 % de concentrados de hematíes con CPDA-1 y el 10% de concentrados de hematíes con ADSOL se habrían descartado si solo se usaran criterios visuales. En conclusión, la evaluación visual de la hemólisis puede dar lugar a un desperdicio innecesario de componentes de la sangre. El método fotométrico empleado en este estudio ofrece una alternativa para evaluar la hemoglobina plasmática en el control de calidad de rutina y la validación de procesos, y así

ayudar en el desarrollo de criterios objetivos para la hemólisis excesiva en componentes sanguíneos (15).

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Lesiones de almacenamiento en los concentrados de hematíes

El almacenamiento de los concentrados de hematíes, aun siendo, éste a temperatura controlada y dentro de los rangos que permiten solo la minimización del metabolismo intrahemático, induce consecuentemente de manera paulatina a que se produzcan lesiones en sus células a causa de mecanismos interrelacionados que se caracterizan por la modificación en la forma de los hematíes, las lesiones oxidativas de los lípidos y proteínas, las alteraciones en la afinidad y el suministro de oxígeno, el aumento de la adhesión de los hematíes a las células endoteliales y la acumulación de sustancias bioactivas en los medios de almacenamiento (2). Las posibles consecuencias clínicas de estos efectos son numerosas e incluyen, mayor riesgo de infección debido a la activación o disfunción de los macrófagos, liberación de citoquinas, isquemia tisular por disfunción endotelial, trastorno de la lesión oxidativa, toxicidad e inflamación inducida por hemólisis y hierro libre, daño renal, hepático, eventos cardíacos, mayor tasa de morbimortalidad y mortalidad dependiente de transfusiones, entre otros (16).

La unidad sanguínea utilizada para transfusión es colectada generalmente en una solución anticoagulante y preservante (ACD, CPD, CPDA-1) que contienen una combinación de diversas sustancias como, citrato, fosfato, dextrosa, adenina, entre otros. Los concentrados de hematíes obtenidos después del fraccionamiento, se suspenden en soluciones aditivas (SAGM, OPTISOL, ADSOL) para mejorar la calidad de las células y proporcionar una mayor duración del almacenamiento hasta por 42 días (17). Los hematíes no poseen mitocondrias, por ende, tienen que depender de la glucólisis anaeróbica para generar primordialmente adenosina trifosfato (ATP) que es la principal fuente de energía para las numerosas reacciones bioquímicas de las células. La glucólisis constante da como resultado la acumulación de ácido láctico en el sobrenadante, la acidosis y la conservación de los concentrados de hematíes a 4°C en un medio ácido inhibe la glucólisis dando como resultado, que la sangre almacenada tenga características bioquímicas y funcionales particulares, dependiendo de los días de conservación que ésta tenga al momento de ser utilizada. Por la inhibición de la glucólisis se ocasiona una reducción progresiva de la mayor

parte de los metabolitos, como el 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG) provocando un aumento en la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, por lo tanto, una menor liberación de oxígeno hacia los tejidos desviando la curva de disociación de la hemoglobina (16, 18). Los niveles de 2,3-difosfoglicerato después de dos semanas de almacenamiento de los hematíes está agotado lo que altera el suministro de oxígeno, sin embargo, esta alteración no tiene una importancia decisiva en la transfusión, ya existe una recuperación rápida de la mitad de los niveles de 2,3-difosfoglicerato a las 12 horas de transfundidos los concentrados de hematíes, mientras que a las 24 horas se restablecen los niveles normales (19-22). No obstante, en pacientes críticamente enfermos o politransfundidos, su pronóstico se ve afectado negativamente no sólo por la disminución de la capacidad de los hematíes para liberar el O₂ a los tejidos, también, por el aporte de O₂ disminuido dado que, los hematíes menos deformables pueden producir daño microvascular. (3, 11, 22). Por otro lado, la inhibición de la glucólisis también ocasiona la reducción progresiva del ATP y del dinucleótido de nicotinamida y adenina reducida (NADH) que es un cofactor importante que revierte la oxidación espontánea de la oxihemoglobina a la metahemoglobina dentro de los hematíes (16, 23), agravando el estrés oxidativo, que es la causa predominante del daño de la membrana de los hematíes (22).

Las bajas temperaturas de almacenamiento también alteran la función de las bombas iónicas de Na⁺/K⁺ en la membrana del hematíe por la inhibición reversible de la Na⁺/K⁺ ATPasa lo que origina un aumento del potasio extracelular y del sodio intracelular, además, el aumento de potasio se produce debido a la misma lisis de los hematíes (24-26). En situaciones normales, la concentración de potasio dentro de los hematíes se mantiene en aproximadamente 90 mmol, en tanto, que las concentraciones de sodio en 5 mmol; mientras que, en el exterior, son aproximadamente 5 y 140 mmol, respectivamente. Por la sexta semana de almacenamiento, el contenido de potasio de los hematíes se reduce en aproximadamente el 40% y el contenido de sodio se incrementa alrededor de 300%. Al mismo tiempo, el contenido de potasio en el sobrenadante de las unidades almacenadas se acrecienta notablemente, lo que puede conducir a hipercalemia después de la transfusión (11, 27, 28). El aumento del contenido de sodio intracelular afecta el volumen y la forma del hematíe, de modo que el volumen corpuscular medio de los mismos aumenta después de tres semanas de almacenamiento. Este efecto se ve acentuado en los hematíes más viejos, afectando su deformabilidad y viabilidad. La hiperpotasemia suele ser pasajera, ya que es regulada cuando los hematíes transfundidos recomienzan el metabolismo activo con

captación intracelular del potasio, además de su consecuente excreción urinaria. El riesgo de arritmia a causa de los altos niveles de potasio se presenta principalmente con transfusiones sanguíneas de gran volumen que son administradas rápida y habitualmente por vías centrales. En los recién nacidos y bebés pequeños se ha informado inclusive paro cardíaco letal, debido a que el potasio extracelular puede llegar al corazón (28, 29).

El metabolismo del hematíe al verse reducido considerablemente durante su almacenamiento, produce además una disminución de forma progresiva del pH por la acumulación de ácido láctico y pirúvico, pudiendo alcanzar después de seis semanas un pH por debajo de 6.5, el ácido producido está en gran parte amortiguado por los grupos lisina y amina de la hemoglobina de los hematíes, alrededor de una cuarta parte del ácido producido se pierde a medida que el dióxido de carbono se difunde fuera de la bolsa de sangre. En el momento de la transfusión, la carga de ácido excedente se transfiere al receptor, sin embargo, el contenido de ácido de una sola unidad de hematíes es pequeño, en cambio, para un paciente gravemente herido que llega en estado de shock con un pH de 6.6, la carga de ácido adicional de varias transfusiones es mayor pudiendo ocasionar repercusiones serias en el paciente (16, 30).

Conforme aumenta el tiempo de almacenamiento, el efecto más importante es la pérdida progresiva de la viabilidad, existiendo un daño en la membrana del hematíe, porque se pierden los fosfolípidos, aumentando la fragilidad osmótica, disminuyendo además el ATP, el cual ayuda a mantener la integridad de la membrana, del mismo modo se ve afectado todas las actividades metabólicas de dichas células como son, la formación de antioxidantes citosólicos, la deformabilidad celular y la alteración de la forma discoide. La membrana de los hematíes está formada por una bicapa lipídica que está entremezclada con proteínas. La bicapa lipídica contiene fosfolípidos, colesterol y ácidos grasos que se distribuyen asimétricamente entre las capas interna y externa (16, 22). La fosfatidilserina es un componente fundamental, que en circunstancias normales está presente por completo en la capa interna del hematíe, pero en los hematíes senescentes se expresa en la capa externa de la membrana. Cuando la fosfatidilserina se expresa en la capa externa, es altamente trombogénica y además actúa como una señal de senescencia relevante que conduce a la eliminación de los hematíes por los macrófagos reticuloendoteliales (31, 32). El colesterol es otro componente crucial de la capa lipídica, puesto que el aumento de la relación colesterol/fosfolípido altera la viscosidad y deformabilidad de los hematíes, promoviendo

las alteraciones en su forma. Entre las proteínas de membrana importantes tenemos la banda 3 y las proteínas estructurales primarias del citoesqueleto, la espectrina y la anquirina. La banda 3 es una proteína de transporte, que regula el intercambio de cloruro y bicarbonato a través de la membrana, además, une la bicapa lipídica al citoesqueleto mediante la unión a la anquirina, que a su vez se une a la espectrina. Asimismo, está involucrado en la señalización de senescencia, ya que, su descomposición origina un neo-antígeno que resulta en la rápida eliminación de los hematíes de la circulación. La organización normal de proteínas es valiosa para mantener la estabilidad, deformabilidad y forma de los hematíes (11, 16, 31).

La relación de la superficie y el volumen de los hematíes, así como, la forma de disco permite mermer la resistencia durante el cambio de las condiciones de flujo y el paso a través de capilares más pequeños de 3 a 8 μm . Durante su vida útil *in vivo*, los hematíes pierden área, volumen y hemoglobina a través de la vesiculación de partículas de 50 a 200 nm. Después de abandonar la médula ósea, se pierde de 10 a 14% del área de la membrana durante la maduración de los reticulocitos, seguido por el 16 a 17% durante la vida útil restante (31, 33). La expulsión del material de desecho oxidativo de la hemoglobina desnaturalizada, junto con la pérdida del área de superficie, parecen ser un proceso limitado para proteger al hematíe de una eliminación prematura (34). El agotamiento de este potencial puede anunciar el final de la vida útil de los hematíes, debido a que la hemoglobina desnaturalizada acumulada en la membrana de los hematíes puede ser un signo de unión a autoanticuerpos naturales, que en combinación con el complemento promueven la fagocitosis parcial y producen una mayor pérdida del área superficial (35, 36).

La formación y acumulación de microvesículas en el sobrenadante aumenta aceleradamente durante el almacenamiento, luego de cinco semanas de almacenamiento los dos tercios de la hemoglobina están en microvesículas que pueden precipitarse (11,37). Los hematíes desprenden microvesículas como parte del desarrollo normal, para mantener la función de la membrana y el proceso programado de muerte celular (38,39). El uno por ciento de los hematíes recolectados son reticulocitos que perduran durante el almacenamiento, pero arrojan vesículas ricas en receptores de transferrina. Las células normales a mitad de su vida arrojan vesículas que son ricas en lípidos oxidados, los hematíes apoptóticos arrojan vesículas que tienen fosfatidil serina externalizada (37, 40). Las microvesículas acumuladas que están repletas con hemoglobina externalizan la fosfatidilserina, produciendo

perturbaciones fisiológicas posteriores a la transfusión al beneficiar a la sobresaturación de los sistemas de depuración del cuerpo (38). El flujo sanguíneo en la microcirculación está regulado por el óxido nítrico (NO), como éste se descompone casi inmediatamente después de la extracción de sangre y no se restablece, los hematíes almacenados actúan como un suministro de óxido nítrico, aumentando la capacidad vasodilatadora del receptor (18-23). Asimismo, el óxido nítrico derivado del endotelio, es un potente vasodilatador, antioxidante e inhibidor de la agregación plaquetaria. Cuando la hemoglobina entra en contacto con el óxido nítrico, casi instantáneamente lo consume para formar metahemoglobina y nitrato. En circunstancias normales, la encapsulación de hemoglobina dentro de los hematíes evita esta reacción porque el óxido nítrico no se difunde bien a través de la membrana de los hematíes (41). Esto quiere decir, que las microvesículas acumuladas en el sobrenadante pueden reducir la biodisponibilidad de óxido nítrico derivada del endotelio en el receptor, eliminando la membrana de los hematíes y reduciendo su deformabilidad, interfiriendo con el paso de los hematíes a través de los capilares y el bazo. La señal de muerte, se expresa en 30 a 70% de las microvesículas y el 50% está recubierto con inmunoglobulinas, lo que da como resultado una eliminación acelerada por parte de las células de Kupffer del hígado (31, 34). Las microvesículas pueden ser procoagulantes y proinflamatorias y se utilizan como medida del daño del hematíe durante el almacenamiento y el daño potencial después de la transfusión (42, 43).

Durante el almacenamiento *in vitro* los hematíes también experimentan un cambio de forma debido al agotamiento del ATP. Inicialmente, este es un proceso reversible, pero hacia el final de la vida útil *in vitro*, se forman esferocitos irreversibles (23, 30). La disminución de la deformabilidad de estas células puede causar una reducción de la eficacia de la transfusión y un incremento de los efectos nocivos post-transfusionales. Los hematíes poco deformables dan como resultado una mayor depuración del bazo y se sabe que contribuyen a la dificultad respiratoria y la sepsis sistémica (2, 41, 45, 46). Investigaciones clínicas también han identificado una serie de afecciones, como la isquemia esplácnica, que se desarrollan en pacientes que han sido transfundidos con hematíes más viejos. La isquemia tisular, que se cree que es causada parcialmente por una oclusión microcirculatoria, que es causada por hematíes poco deformables. Por otro lado, la sepsis se agrava entre los pacientes críticamente enfermos a los que se les transfunde hematíes más viejos. Dado que los pacientes sépticos poseen vasos estrechos, los hematíes poco deformables pueden quedar atrapados en la

microcirculación, lo que origina hipoxia tisular, agravando las condiciones de salud de los pacientes (23, 47).

2.2.2. Hemólisis

Una vez realizada la donación de sangre, la unidad sanguínea es separada mediante diversos procedimientos que permiten la obtención de componentes sanguíneos, siendo el concentrado de hematíes uno de los hemocomponentes principales, cuya función es la de aumentar la capacidad transportadora de oxígeno del receptor. Cuando se realiza la flebotomía al donador, en la sangre recolectada se inician una serie de cambios que alteran sus propiedades, los cuales se denominan lesiones de almacenamiento. Los hematíes se someten a varios cambios bioquímicos y biofísicos durante su existencia, aproximadamente cien mil veces (32). Dichos cambios ocasionan la disminución de la deformabilidad del hematíe produciendo la alteración de la integridad de la membrana celular, provocando la liberación de hemoglobina (hemólisis). Por ende, se produce una disminución en la eficacia de la transfusión y un incremento de los efectos nocivos para el receptor (48).

La vía final común de la lesión de almacenamiento de los hematíes es la hemólisis previa a la transfusión que conduce a la liberación del contenido de los hematíes en el sobrenadante, lo que produce un aumento de aproximadamente ocho veces los niveles de hemoglobina libre después de seis semanas de almacenamiento (49). Como resultado, parte de la hemoglobina libre en el sobrenadante sufre una oxidación espontánea, lo que resulta en la acumulación de metahemoglobina, hemina, hierro y oxígeno reactivo en el sobrenadante, agravando así el estrés oxidativo al que los hematíes están expuestos durante el almacenamiento (50). Los niveles de metahemoglobina, que normalmente constituyen <1% de la hemoglobina total en el sobrenadante, aumentan dos veces después de tres semanas de almacenamiento (51). El hierro libre, que es esencialmente indetectable durante los primeros días de almacenamiento, está en todas partes en el sobrenadante después de tres semanas de almacenamiento. Sin embargo, el contenido del sobrenadante también puede reducir la biodisponibilidad de óxido nítrico y contribuir a la sobresaturación de los sistemas de depuración de los hematíes hemolizados en el receptor. No obstante, dado que la cantidad de hemoglobina libre en el sobrenadante conforma <1% de la hemoglobina total en una unidad de sangre, es probable que esta no genere gran repercusión en el receptor.

Posiblemente, una carga para el receptor sea el número cada vez mayor de hematíes que se vuelven senescentes, pero no se someten a una hemólisis durante el almacenamiento. Estos alcanzan casi el 25% del total de células en una unidad de sangre en la cuarta semana de almacenamiento (52), que se hemolizan y se extraen de la circulación del receptor dentro de una hora de la transfusión. Esta rápida remoción puede agobiar a los sistemas normales de hemólisis que incluyen varias vías altamente eficientes pero saturadas para eliminar el contenido de hematíes de la circulación, reduciendo así sus efectos tóxicos.

En circunstancias normales, aproximadamente el 1% de los 2.5×10^{13} hematíes circulantes del cuerpo ($5 \times 10^6 \mu\text{l}$ de sangre) se vuelven senescentes y se eliminan de la circulación cada día (lo que equivale a aproximadamente 1×10^{10} células por hora), la mayoría (80 a 90%) sufren hemólisis extravascular en los macrófagos del sistema reticuloendotelial y el 10 a 20% restante sufren hemólisis intravascular. Cuando los hematíes se destruyen en el espacio intravascular, la hemoglobina liberada se une rápidamente a la haptoglobina y se elimina de la circulación mediante macrófagos a través de la endocitosis mediada por receptores (52,53). La hemoglobina luego se degrada de forma segura dentro de los macrófagos. Una vez que se ha excedido la capacidad de eliminación de haptoglobina, la hemoglobina libre restante elimina el óxido nítrico derivado del endotelio para formar metahemoglobina (42, 54), la biodisponibilidad reducida de óxido nítrico puede causar disfunción endotelial, agregación plaquetaria y lesión oxidativa, lo que puede conducir a isquemia tisular. La metahemoglobina formada se convierte a su vez en hemina libre, que luego se elimina rápidamente de la circulación y se transfiere al hígado mediante hemopexina y albúmina, protegiéndolo así de sus potentes efectos prooxidantes y proinflamatorios (53, 55).

Por consiguiente, una sola unidad de sangre que se ha almacenado durante más de cuatro semanas contiene aproximadamente $1,5 \times 10^{12}$ hematíes, de los cuales alrededor del 25% o aproximadamente 4×10^{11} , se volverán senescentes durante el almacenamiento y se eliminarán de la circulación dentro de una hora de transfusión (44). Asimismo, cada unidad de sangre contiene un gran número de microvesículas cargadas de hemoglobina, hemoglobina libre, hemina y hierro en el sobrenadante que también deben eliminarse rápidamente de la circulación. Dado que el número de hematíes senescentes solo es un orden de magnitud mayor que el número que se elimina por hora en circunstancias normales, es posible que la transfusión de una sola unidad de sangre vieja pueda sobresaturar los sistemas

de protección de la hemólisis extravascular e intravascular en algunos pacientes, lo que conlleva a una reducción de la biodisponibilidad derivada del endotelio y la presencia de hemoglobina, hemina y hierro libres en la circulación del receptor, así como, en los macrófagos reticuloendoteliales (56,57).

Normalmente, no hay hemólisis visible en las unidades de concentrados de hematíes leucorreducidos al inicio del procesamiento, y la cantidad medible es aproximadamente $<0.02\%$. Este valor aumenta en promedio a 0.30% al final de las seis semanas de almacenamiento cuando es visible en el sobrenadante una coloración rojiza. La hemólisis a las seis semanas tiende a ser aproximadamente cuatro veces más que la hemólisis a la tercera semana. Este aumento de la tasa de hemólisis con el tiempo de almacenamiento se produce a medida que las condiciones de almacenamiento dentro de la bolsa de sangre se deterioran continuamente. Los límites de hemólisis para los sistemas reguladores de EE. UU. (1%) y europeos ($0,8\%$) se pueden cumplir fácilmente con los actuales sistemas de almacenamiento de los hematíes (43). Sin embargo, dentro de la población de donantes, se observa una gran variabilidad en la hemólisis al final del almacenamiento a pesar de que los hematíes de diferentes donantes se almacenen en condiciones idénticas (4, 30). El nuevo requisito de la FDA es de que, al final del almacenamiento, el 95% de las unidades de los concentrados de hematíes tengan $<1\%$ de hemólisis con un 95% de confianza estableciéndose la media de hemólisis al final del almacenamiento de alrededor de 0.35% (43).

2.2.2.1. Factores que producen hemólisis

Durante la recolección, procesamiento, conservación y transporte de sangre y sus productos, la ruptura del hematíe es producida por varias razones, principalmente por las condiciones inadecuadas de conservación en el proceso de la cadena de frío (11, 58). Aunque se ha conseguido un gran avance para optimizar la estabilidad de los hematíes durante el procesamiento, almacenamiento y transfusión, al estar estos fuera del cuerpo se acentúa el riesgo de hemólisis. Además, influye en el proceso de la hemólisis otros factores como son, la contaminación bacteriana, activación del complemento, activación plaquetaria, temperatura, defectos en la membrana del hematíe, cambios de pH, duración del almacenamiento de la sangre, presencia de leucocitos, irradiación de los concentrados de hematíes, fármacos, variaciones biológicas entre otros (13,15,59).

La finalidad del sistema de almacenamiento es contrarrestar el daño de la maquinaria metabólica y la membrana del hematíe, manteniendo una concentración de ATP adecuada para mejorar la viabilidad post-transfusión. Las bolsas de plástico son permeables a pequeñas moléculas de gas, por lo que la difusión externa de CO₂ proporciona aproximadamente una cuarta parte del tampón con soluciones de aditivos convencionales, eliminando aproximadamente 2 de los 8 mEq de protones formados en la glucólisis (4, 43). Las bolsas colectoras de uso común para el almacenamiento de la sangre poseen sustancias extraíbles y no extraíbles plastificantes como el di-(2-etilhexilo) ftalato (DEHP) y tri-(2-etilhexilo) trimellitate, respectivamente. El cloruro de polivinilo (PVC) plastificado con DEHP es el material estándar utilizado para la fabricación de las bolsas colectoras de hematíes pues mejora el almacenamiento al disminuir la hemólisis y la pérdida de la membrana por microvesiculación, además, es un compuesto extremadamente soluble en lípidos y puede intercalarse con la membrana celular del hematíe y actuar como un estabilizador de membrana (11,60, 61).

Los medios de almacenamiento también contienen anticoagulantes y aditivos que poseen varias combinaciones de sustancias de beneficio potencial, por ejemplo, poseen fosfato inorgánico para el mantenimiento de compuestos de fosfato orgánico y para el tamponamiento, citrato para amortiguar e influir en la anticoagulación manteniendo el pH intracelular (39) y manitol utilizado para el soporte osmótico y para contrarrestar hemólisis espontánea asociada al almacenamiento, entre otras. Por estas razones, los anticoagulantes que se utilizan son el ACD (adenina, citrato y dextrosa), CPD (citrato, fosfato y dextrosa) y CPDA-1 (citrato, fosfato, dextrosa y adenina) (40, 62). La solución aditiva comúnmente utilizada para el almacenamiento del hematíe es SAG-M (solución salina, adenina, glucosa y manitol), dicha solución aditiva no solo aumenta la vida útil de los hematíes concentrados, sino que también reduce la tasa de hemólisis y vesiculación porque probablemente actúa como eliminador de radicales libres y estabilizador de membrana (14,39,63-65).

Los procedimientos que se utilizan en los bancos de sangre para recoger y procesar la sangre entera en sus diferentes componentes también pueden causar ruptura de hematíes y liberar la hemoglobina en el plasma sobrenadante. Por ejemplo, tenemos el retraso entre la recolección y separación, anticoagulación rápida donde se incluye la mezcla del anticoagulante con la sangre, variación en las velocidades de centrifugación, resuspensión rápida de los concentrados de hematíes en soluciones aditivas, y variaciones en las bolsas de

almacenamiento de sangre (66). En algunas ocasiones se lavan los hematíes en solución salina antes de la transfusión, esta manipulación adicional puede contribuir al daño de las capas protectoras de las proteínas plasmáticas que lo cubren, produciendo su ruptura.

La hemólisis a veces es causada de manera mecánica, lo que puede ocurrir en los siguientes casos, bordes de la tubuladura torcida, abertura parcial de los cierres de los tubos de transferencia y de los puertos de entrada de las bolsas de sangre o en un segmento de la tubuladura, entre otros (59,67). Por otro lado, se puede producir daño en los hematíes durante la resuspensión forzosa del concentrado de hematíes o agitación de la bolsa de sangre durante la mezcla antes de la filtración, esto puede causar también que los hematíes más frágiles y viejos se lisen por la tensión originada en un rango de 1000 - 1500 dinas/cm², similar a la fuerza que se produce durante el cebado por gravedad o filtración (68). No obstante, en situaciones de flujo turbulento los contenedores de almacenamiento con rugosidad superficial anormal o imperfección, pueden conllevar a la producción de hemólisis (59).

La hemólisis excesiva en una unidad de hematíes además puede ser producida por contaminación bacteriana, observándose la presencia de coágulos, cambios en el color como coloración marrón a púrpura, masas anormales en el plasma, plasma opaco o fangoso, presencia de gas u olor peculiar en el concentrado de hematíes. La presencia de microagregados pueden pasar a la circulación sanguínea del pulmón del receptor y provocar una desviación de la sangre hacia áreas pulmonares no ventiladas por la lesión que ocurre en las células endoteliales, alveolo pulmonares y epiteliales ocasionando edema y un cuadro respiratorio agudo. (3,11, 59).

La activación de las plaquetas o leucocitos pueden conducir a la liberación de sustancias químicas que pueden dañar los hematíes y hacerlos más susceptibles a la lisis durante el almacenamiento, manipulación o manejo adicional. Del mismo modo, la activación de proteínas del complemento en la sangre también puede ocasionar daño significativo en los hematíes (59,69).

La temperatura de la sangre y sus componentes durante el almacenamiento, filtración o procesamiento es un factor muy importante en la hemólisis (3). El almacenamiento en frío de los hematíes a $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ayuda a mantener la funcionalidad y la viabilidad de los mismos al reducir la tasa metabólica. Por cada descenso de un grado en la temperatura de

almacenamiento, hay aproximadamente un 10% de disminución en la tasa metabólica de los hematíes, y a 4°C, la tasa metabólica es diez veces más baja que a 25°C (4, 16). Durante el procesamiento los hematíes pueden ser lisados por congelación accidental por ejemplo cuando la sangre es almacenada en un refrigerador en el que la temperatura no es controlada adecuadamente o colocada en un congelador sin un agente crioprotector. Los hematíes resultan dañados si son calentados a una temperatura de 40°C, por lo tanto, el calor excesivo de un sellador térmico que se utiliza para hacer segmentos de tubos de muestra pueden dañarlo (59). Incluso, las condiciones de frío extremo o la colocación de las bolsas de sangre a una temperatura inferior a 1°C también pueden resultar en hemólisis (3). La sangre además puede congelarse involuntariamente durante el envío; por ello, los componentes de la sangre deben ser transportados de una manera en la que se asegure el mantenimiento de la temperatura de 1 a 10 °C (70).

Los defectos intrínsecos de la membrana y la capacidad de los hematíes para deformarse son requisitos importantes para que estas células atraviesen capilares estrechos *in vivo*. Sin embargo, una disminución en la deformabilidad o defecto de la membrana puede jugar un papel significativo produciendo hemólisis durante el almacenamiento (71). Algunos ejemplos incluyen, la esferocitosis hereditaria, la eliptocitosis relacionada con hematíes de donantes de sangre con deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, anemia de células falciformes u otras formas de hemoglobinopatías que poseen anomalías por defectos de membrana (72). Por otro lado, los hematíes de pacientes urémicos y diabéticos tienen poca deformabilidad, haciéndolos más susceptibles a los daños mecánicos.

La exposición repentina de los hematíes a soluciones hipotónicas o hipertónicas y los cambios extremos de pH de los anticoagulantes y soluciones aditivas en las bolsas de almacenamiento de sangre pueden causar daños o lisis de las poblaciones más frágiles de hematíes (45). El umbral en el que se dañan los hematíes cuando se colocan en soluciones hipotónicas o hipertónicas, pueden ser disminuidos por cambios en la temperatura de los medios de suspensión.

El almacenamiento durante 35 a 42 días, dependiendo de la composición del anticoagulante y soluciones conservantes ha mostrado alteraciones significativas en los hematíes, en la integridad de la membrana, propiedades de flujo y un incremento en los niveles de hemoglobina libre. Una típica unidad de concentrados de hematíes sin filtrar de dos días de

almacenamiento tiene un plasma con una concentración de hemoglobina de 0.017 g/dL (rango 0.004 a 0.046 g/dL), a los 26 días de almacenamiento sin filtrar, la unidad de hematíes empaquetados tiene una hemoglobina plasmática de 0.090 g/dL (con un rango de 0.047 a 0.152 g/dL), estos niveles hacen que el plasma aparezca con un color pajizo. Finalmente, a los 40 días de almacenamiento, en una unidad de hematíes sin filtrar, el plasma presenta aproximadamente 0.193 g/dL (con un rango de 0.049 a 0.414g/dL). Estos niveles de hemoglobina en el día 40 de almacenamiento hacen que el plasma varíe de un color paja a ligeramente rojo en el extremo inferior y visiblemente rojo en el extremo superior del rango de concentración (59).

La presencia de leucocitos en las unidades de sangre de concentrados de hematíes sin filtrar también puede contribuir significativamente al aumento de la hemólisis durante el almacenamiento, ya que, los leucocitos se descomponen y liberan una serie de sustancias químicas y enzimas como el peróxido de hidrógeno y las proteasas (11,13), las cuales se han reportado que pueden causar la lisis de los hematíes durante el almacenamiento y, por ende, son perjudiciales para su metabolismo y viabilidad (69). Estos efectos perjudiciales de los leucocitos se reducen o eliminan con el uso de filtros de reducción (3, 11, 13, 73-75).

La irradiación de sangre entera y componentes celulares, actualmente, es la única metodología aceptada para prevenir la enfermedad de injerto contra huésped asociada a la transfusión. Sin embargo, diversas investigaciones han reportado cambios significativos en la integridad de la membrana de los hematíes después de la irradiación gamma como son, el aumento de la fragilidad osmótica, lisis celular, fuga de potasio, y reducción en 24 horas de la supervivencia *in vivo*. Producto de los rayos gamma, los hematíes son más propensos a lisarse y liberar hemoglobina. Otras formas de irradiación como la UV-A, UV-B y UV-C que se utilizan para la inactivación de patógenos en la sangre, también pueden causar un daño extenso a los componentes sanguíneos sobre todo en los hematíes (76).

Ciertos medicamentos cuando se toman en altas concentraciones por los donantes de sangre antes de la donación pueden causar la lisis de los hematíes a través de la osmosis oxidativa o también esta puede ser mediada por mecanismos del sistema inmune. Ejemplos de tales drogas son la penicilina, vitamina C, quinidina y alfa metildopa. Los donantes de sangre que usan estos tipos de drogas no son excluidos en la donación. Por consiguiente, es útil revisar la historia clínica del donante en casos de hemólisis de los hematíes (59).

Finalmente, hay algunas situaciones en las que la causa de la hemólisis no se puede atribuir a ninguno de los factores descritos anteriormente. Hay conocimiento que las muestras de sangre de diferentes donantes considerados sanos pueden mostrar diferentes tendencias hemolíticas. Las tasas de hemólisis también varían según el momento en que la sangre del donante se recoge. Por ejemplo, muestras de sangre que se extraen de los donantes después de las comidas son más susceptibles a la hemólisis en comparación con las muestras tomadas después de un ayuno (59).

2.2.2.2. Importancia de la determinación del grado de hemólisis

El contenido de hemoglobina libre en la sangre almacenada está presente en diversas formas, incluyendo oxihemoglobina, desoxihemoglobina y metahemoglobina; en los concentrados de hematíes ésta puede expresar la magnitud del daño de la membrana. A medida que transcurre el tiempo, el consumo de energía (ATP) dentro de los hematíes ocasiona cambios en su morfología, función y viabilidad, dichos cambios se ven acrecentados luego que la hemoglobina sale de la célula (23); lo que conlleva, a una concentración de hemoglobina libre en aumento y hemólisis. Cuando se produce hemólisis, la hemoglobina libre se rompe en un dímero que se combina con la haptoglobina la cual se elimina posteriormente por el sistema reticuloendotelial del receptor; sin embargo, la sangre transfundida no sólo contiene hemoglobina libre además posee hematíes frágiles que producen hemoglobina libre de manera adicional (58, 77-79). Por ende, los pacientes obtendrán hemoglobinemia en las transfusiones.

La hemólisis producida durante el procesamiento y el almacenamiento de los hematíes tienen serias implicancias clínicas para los pacientes transfundidos pudiendo ocasionar reacciones adversas que afectan la función del sistema nervioso, sistema circulatorio y función renal especialmente (23, 58). Detectar hemólisis excesiva también es importante para minimizar la transfusión de concentrados de hematíes contaminados con bacterias (14). Por consiguiente, los hematíes almacenados durante más de 14 días se asocian con un riesgo mayor de complicaciones postoperatorias y reducción de la supervivencia posterior a una cirugía cardíaca (45,78). Diversas investigaciones han demostrado que la hemoglobina libre es un nuevo predictor importante de supervivencia en sepsis severa y una prueba diagnóstica novedosa para evaluar la profundidad de lesión por quemadura, entre otros. Por estas razones, es relevante detectar hemoglobina libre en concentrados de hematíes; de manera

que, se tomen todas las medidas posibles para evitar transfundir unidades sanguíneas con hemólisis, siendo este un parámetro importante para evaluar la calidad del concentrado de hematíes (79).

2.2.2.3. Determinación del grado de hemólisis

Existen diversos métodos para la determinación de la hemoglobina libre, la cual es de gran valor en la medición del grado de hemólisis de la sangre. Hoy en día, los métodos de análisis para determinar el grado de hemólisis se estiman por métodos cualitativos donde tenemos la inspección visual y métodos cuantitativos los cuales pueden ser químicos, fotométricos o espectrofotométricos (11, 13,80). Sin embargo, los bancos de sangre aún presentan dificultades para implementar los métodos analíticos y evaluar el grado de hemólisis de sus componentes sanguíneos (79).

Para determinar si los niveles de hemólisis en las unidades sanguíneas son superiores al 0.8 o al 1%, se sugiere que se utilicen métodos analíticos cuantificables, con el fin de evitar el rechazo innecesario de las unidades que están dentro del nivel aceptable y permitir un adecuado control de calidad. De manera que, el establecimiento instaure criterios de rechazo para aquellas unidades de hematíes que no serán transfundidos (59). Por lo tanto, cuando el plasma aparece visiblemente de color rojo se requiere de una investigación más detallada en cuanto a las circunstancias que rodean la donación de la sangre, preparación de los hematíes, proceso de filtración sanguínea, entre otros.

Las evaluaciones visuales (método cualitativo), se realizan utilizando un comparador visual para demostrar la presencia de hemólisis, antes de ser emitidas por el Banco de sangre; así como, antes de proceder a la transfusión (15,70). En la mayoría de los bancos de sangre y hospitales, la inspección visual se realiza de las muestras procedentes de la tubuladura de las bolsas utilizándose como método rápido y fácil para detectar hemólisis. Por otro lado, en la actualidad no hay un umbral específico para el nivel de hemólisis evaluado por inspección visual de los componentes de la sangre antes de su liberación para transfusión, siendo este un método sesgado, impreciso, engañoso y que da como resultado una sobreestimación de la hemólisis en unidades de concentrados de hematíes (10, 11, 14). La coloración rosada del plasma es muy visible con niveles de hemoglobina libre tan bajos como 0.025 g/dL (\cong 0.09% hemólisis) (14,15).

Hoy por hoy, el mejor método para evaluar los niveles de hemólisis en concentrados de hematíes es utilizar ensayos cuantitativos. Diferentes técnicas han sido desarrolladas para este fin, aunque pocos bancos de sangre lo utilizan, entre ellos tenemos, los ensayos químicos, los espectrofotométricos (65, 79,81) y fotométricos, siendo estos últimos más seguros, más fáciles y precisos. En los métodos químicos todas las formas de hemoglobina excepto la sulfahemoglobina forman una reacción coloreada como producto, esto se origina cuando la cianmetahemoglobina se mezcla con productos químicos tales como ferrocianuro de potasio, ortholidina (80) o tetrametilbencidina, siendo ésta última el método tradicional (Patrón de oro) para la medición de la hemoglobina libre (10, 59, 65, 79, 82). Los métodos espectrofotométricos son técnicas ópticas cuya cuantificación se basa en la detección de oxihemoglobina con picos de absorbancia de 415, 541 o 576 nm. Dichas mediciones están fuertemente sujetas a interferencias de fondo, como los niveles elevados de bilirrubina en el plasma, proteínas plasmáticas como la albúmina, lípidos y otros pigmentos absorbentes. Sin embargo, estos son tediosos operacionalmente, dado que requieren mucha atención y estabilidad. Actualmente, el método fotométrico mediante el Sistema HemoCue representa una alternativa cuantitativa y portátil, empleando para ello el método modificado de metahemoglobina azida (15). Cabe señalar que, para la determinación del grado de hemólisis es necesario el empleo de una fórmula (**Ver anexo 5**), por ello, es imprescindible realizar la medición no solo de la cantidad de hemoglobina libre, sino también de la hemoglobina total y el hematocrito presente en el concentrado de hematíes.

2.3. Terminología básica

- Hematíes

Son las células sanguíneas más abundantes de la sangre, su número varía en función de la edad, sexo y la ubicación geográfica, con un promedio de $4 \text{ a } 5 \times 10^6/\text{mm}^3$. Su vida en la circulación sanguínea es de alrededor 120 días, tiene forma de disco bicóncavo, anucleado, de $7.5 \mu\text{m}$ de diámetro, y un volumen aproximado de 90 fL.

- Sangre total

Es el volumen de sangre obtenida a partir de un donante, mezclada con anticoagulante, conservada en un contenedor estéril y que no se ha fraccionado.

- **Concentrado de hematíes**
Es el componente sanguíneo obtenido al separar la mayor parte del plasma de la sangre total, por centrifugación o sedimentación en cualquier momento antes de la fecha de caducidad.

- **Hematíes leucorreducidos**
Es el componente sanguíneo obtenido tras la eliminación de la mayor parte de los leucocitos de la sangre total por filtración, < 1 x 10 leucocitos / unidad).

- **Soluciones preservantes anticoagulantes**
Son sustancias que permiten preservar viable la sangre por un período de tiempo.

- **Lesiones de almacenamiento en los concentrados de hematíes**
Son una serie de cambios bioquímicos y biomecánicos en los hematíes que se producen posterior a su colección, procesamiento y almacenamiento previo a la transfusión, que reducen la subsiguiente supervivencia y función in vivo de los hematíes.

- **Hemólisis**
Es la ruptura de la integridad de la membrana o pérdida de microvesículas de la superficie de los hematíes aún intactos que va acompañada de liberación de la hemoglobina intracelular.

- **Hematocrito**
Es el volumen de los hematíes con relación al total de la sangre; se expresa de manera porcentual. El valor normal de hematocrito está normalmente entre el 40 y el 50% .

- **Hemoglobina**
Es un pigmento especial que da a los hematíes su color rojo característico, su molécula posee hierro, y su función es el transporte de oxígeno.

- **Hemoglobina libre**
Es la hemoglobina que se encuentra fuera de los hematíes.

2.4. Formulación de hipótesis

2.4.1. Hipótesis general

A mayor tiempo de almacenamiento los concentrados de hematíes presentaran porcentaje de hemólisis mayor al 0.8%.

2.4.2. Hipótesis específicas

- Es posible determinar adecuadamente la concentración de hemoglobina libre mediante fotometría en concentrados de hematíes almacenados en el banco de sangre de la Clínica Delgado, periodo agosto -septiembre 2019.
- Existe una correlación entre el porcentaje de hemólisis con los días de almacenamiento, en los concentrados de hematíes almacenados en el banco de sangre de la Clínica Delgado, periodo agosto-septiembre 2019.

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1. Método de investigación

Deductivo

3.2. Enfoque de la investigación

Cuantitativo

3.3. Tipo de investigación

Aplicada, de nivel o alcance descriptivo y prospectivo.

3.4. Diseño de investigación

Observacional: longitudinal

3.5. Población, muestra y muestreo

3.5.1. Población

La población de estudio fueron todas las unidades obtenidas en el banco de sangre de la Clínica Delgado.

3.5.2. Muestra

La muestra estuvo conformada por 400 unidades de concentrados de hematíes obtenidas en el banco de sangre de la Clínica Delgado, del 01 de agosto al 30 de septiembre del 2019.

Criterio de inclusión

- Tener grupo sanguíneo identificado.
- Haber sido colectadas en el banco de sangre de la Clínica Delgado.
- Tener marcadores serológicos no reactivos.
- Tener un tiempo de colecta menor a 15 min.
- Haber sido fraccionada dentro de las seis horas de obtención.

Criterio de Exclusión

- Tener un volumen final de colecta menor a 450 mL.
- Presencia de microagregados.
- Hematocrito menor a 50% y/o mayor a 70%.
- Haber sido irradiadas.

3.5.3. Tipo de muestreo

- No probabilístico por conveniencia, consecutivo.

3.6. Variables y operacionalización

3.6.1. Variables

- Variable independiente: Tiempo de almacenamiento de los concentrados de hematíes.
- Variable dependiente: Porcentaje de hemólisis.
- Variables intervinientes: Concentración de hemoglobina libre, hemoglobina total, hematocrito, unidades filtradas, tiempo de extracción, volumen total de sangre obtenida, días transcurridos desde la extracción.

Cuadro 1
Matriz de operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE MEDICIÓN	INDICADOR	TÉCNICA O INSTRUMENTO DE MEDICIÓN
Porcentaje de hemólisis	Proporción de los hematíes con alteraciones de la integridad de las membranas.	Porcentaje de hemólisis de los concentrados de hematíes.	Cuantitativa	Continua	Normal: 0 - 0.8% Fuera de Rango: >0.8% a más.	Fotometría medida con el Sistema HemoCue plasma/ Low Hb para determinar hemoglobina libre. Medición de la hemoglobina total empleando el hemoglobinómetro HemoCue Hb 301. Medición del hematocrito utilizando una centrifuga para microhematocritos. Empleo de la fórmula matemática para hallar el porcentaje de hemólisis.
Tiempo de almacenamiento de los concentrados de hematíes	Tiempo que dura el proceso en la que la sangre es segura antes de utilizarse en transfusiones u otros procedimientos.	Número de días en los que la sangre esta almacenada en una conservadora.	Cuantitativa	Discreta	Número de días (día 2, 7, 21, 28 y 35).	Observación y recuento.

Fuente: Matriz de operacionalización de variables propuesto por los investigadores.

3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.7.1. Técnica

La técnica de medición se realizó de la tubuladura del concentrado de hematíes, la hemoglobina libre se midió mediante fotometría utilizando el Sistema HemoCue® plasma/ Low Hb. Para la medición de la hemoglobina total se empleó el hemoglobinómetro HemoCue® Hb 301, mientras que para la medición del hematocrito se utilizó una centrifuga para microhematocritos. Todas estas mediciones permitieron determinar el porcentaje de hemólisis empleando una fórmula matemática (**Ver anexo 5**).

Para la técnica de recolección de datos se elaboró una ficha de registro de recolección de datos, la misma que estuvo dividida en dos partes. En primera parte se identificó la unidad sanguínea en estudio, donde los puntos a considerar fueron la fecha de ingreso, de salida, el número de donación, el grupo sanguíneo y el tiempo de extracción de la unidad. En la segunda parte se consideró los días de almacenamiento, donde se anotaron cada día las mediciones del hematocrito, la hemoglobina, hemoglobina libre y el porcentaje de hemólisis de la unidad sanguínea (**Ver anexo 2**). Para ello, se solicitó al jefe del servicio de hemoterapia y banco de sangre de la Clínica Delgado la autorización para el acceso a la información necesaria para el estudio. Así mismo, se solicitó al comité de ética de la Clínica Delgado el permiso correspondiente para poder desarrollar el estudio. Cabe señalar que para el proceso de selección se eligieron los concentrados de hematíes que cumplieron con los criterios de inclusión necesarios para la recolección de los datos, los cuales se llenaron en la ficha de recolección.

3.7.2. Descripción

Para realizar el presente estudio de investigación fueron seleccionados 400 donantes, después de haberles realizado una historia clínica detallada, el examen físico necesario, la estimación de su hemoglobina y cuyo tamizaje posterior a la colecta diera un resultado no reactivo (**Ver anexo 3**). La sangre total se colectó en una bolsa de sangre cuádruple (450 ml) marca TERUMO BCT con CPD como anticoagulante estándar en la bolsa primaria y OPTISOL como solución aditiva en la bolsa secundaria, hechas de PVC y de DEHP como plastificante, esta solución permite el almacenamiento de los hematíes hasta por 42 días.

Para la preparación de los hematíes, se utilizó una centrifuga refrigerada de bolsas de sangre marca HETTICH, procediéndose a realizar una centrifugación rápida de la unidad de sangre total a 3800 RPM por 8 minutos a 22°C, retirándose con cuidado la bolsa de sangre del depósito de la centrifuga y colocándose la bolsa madre en la posición central del fraccionador automático TERUMO BCT, para ello, se escogió previamente el programa requerido, se situó la bolsa satélite con solución aditiva OPTISOL en la posición derecha a la ubicación de la bolsa madre, además, se colocó las demás bolsas satélites en sus posiciones respectivas y se dispuso las tubuladuras según como indica la gráfica en la pantalla del equipo, se cerró la puerta del equipo automático y se esperó la señal del mismo para posteriormente romper el seguro superior de la bolsa madre y el de la bolsa satélite con OPTISOL. Concluido este procedimiento, se verificó que las bolsas hayan sido selladas correctamente, enseguida se retiraron las bolsas del equipo, quedando el concentrado de hematíes en la bolsa satélite con OPTISOL, luego se pesó manualmente en la balanza y se restó 36 mL, ingresándose estos datos obtenidos en el formato de control de procesos de calidad de colecta y fraccionamiento.

Posterior a ello, el concentrado de hematíes fue leucorreducido, el objetivo de este procedimiento fue reducir a un nivel mínimo residual la cantidad de leucocitos en una unidad de concentrado de hematíes obtenida dentro de las 48 horas a partir del fraccionamiento de una bolsa de sangre total. Para ello, se aperturó una bolsa leucorreductora TERUMO y se registró las tubuladuras en formato físico de modificación de hemocomponentes, pegándose la etiqueta del número de la unidad correspondiente, inmediatamente se realizó la conexión estéril entre la bolsa madre con la bolsa leucorreductora, se colgó el concentrado de hematíes hacia abajo y se abrió la conexión, con el objetivo que por gravedad la sangre pase a través del filtro, se esperó a que la totalidad del contenido de la bolsa haya pasado a la bolsa leucorreductora, se eliminó el aire que pueda haber quedado dentro de ésta bolsa y se cortó ambas tubuladuras con ayuda del sellador de bolsas TERUMO, se pesó la unidad y el volumen obtenido fue restado con 27 mL. Seguidamente, todas las unidades de concentrados de hematíes leucorreducidos se almacenaron en una conservadora de bolsas de sangre de 14 L HELMER a 4°C (+/- 2°) con monitoreo gráfico continuo de la temperatura.

La primera muestra utilizada para el estudio se recolectó al día siguiente de la obtención de los resultados del tamizaje serológico no reactivo día dos de extracción, todos los concentrados de hematíes se almacenaron a temperatura de 4°C (+/- 2°), realizándose una evaluación adicional los días 7, 21, 28 y 35 después de la colecta. Para realizar la medición

del porcentaje de hemólisis, primeramente se tomaron dos fragmentos de la tubuladura del concentrado de hematíes de 6cm cada uno, cada tubuladura de la bolsa previamente fue escurrida, homogenizada de manera uniforme 3 veces y selladas con calor, luego se centrifugó y dicho sobrenadante se midió en un analizador portátil llamado HemoCue® Plasma/Low Hb (Danaher Corp. Suecia) (**Ver anexo 4**) el cual se utilizó para la medición cuantitativa de bajas concentraciones de hemoglobina libre empleando un método de fotometría diseñado especialmente para ello, y unas microcubetas especialmente diseñadas, las HemoCue® Plasma/Low Hb Microcuvettes, el otro fragmento de tubuladura se empleó para hallar el hematocrito y la hemoglobina total las cuales se procesaron en una centrifuga para microhematocritos y en un hemoglobinómetro marca HemoCue® Hb 301 respectivamente, los equipos utilizados fueron validados con controles comerciales. Por último, se empleó la fórmula para el cálculo del porcentaje de hemólisis (**Ver anexo 5**).

3.7.3. Validación

El formato utilizado para registrar la información no necesitó de validación puesto que no es un instrumento para medir variables que estén sujetas a evaluación; el formato solo se utilizó para registrar la información colectada en el seguimiento de las unidades del banco de sangre. Por otro lado, se presenta el documento de calibración de los equipos empleados en la medición del porcentaje de hemólisis como la microcentrífuga para la medición de los hematocritos de las unidades de concentrados de hematíes (**Ver anexo 6A**). Sin embargo, se debe mencionar que los equipos HemoCue Hb 301 para la determinación de hemoglobina total y HemoCue Plasma/Low Hb para la determinación de hemoglobina libre vienen calibrados en fábrica de acuerdo al método de hemoglobincianuro (HiCN), que es el método de referencia internacional para la determinación de la concentración de hemoglobina en sangre documentados por el Consejo Internacional de Normalización en Hematología (ICSH), además, no necesita calibraciones adicionales. No obstante, el día de su utilización se recomienda realizar el control de calidad empleando dos niveles de control de líquido o seguir las directrices locales referentes a los procedimientos de control de calidad utilizando solo los controles recomendados por HemoCue. (**Ver anexo 6B y 6C**).

3.7.4. Confiabilidad

Las características de rendimiento específicas del HemoCue Hb 301, así como la precisión intraensayo y la precisión total (**Ver anexo 7A**) se han determinado en origen, según el documento EP5-A de NCCLS. Los resultados provienen de tres grupos de HemoCue Hb 301 Microcuvettes, cinco HemoCue Hb 301 Analyzers y cinco operadores. No se han realizado recalibraciones durante el periodo de análisis, sin embargo, se utilizaron controles disponibles en el comercio en tres niveles diferentes. La concentración de hemoglobina se midió por duplicado dos veces al día, en la mañana y en la tarde, durante 20 días consecutivos. Además, para la determinación de la exactitud (**Ver anexo 7B**) los resultados de comparación entre el sistema HemoCue Hb301 y el método del ICSH se realizó en tres grupos de HemoCue Hb 301 Microcuvettes, cuatro HemoCue Hb 301 Analyzers y por ocho operadores, no obstante, no se realizó recalibración durante el periodo de análisis.

Las características de rendimiento específico del HemoCue Plasma/Low Hb han sido normalizadas según el método HiCN-(ICSH). Los resultados proporcionados en fábrica proceden de la precisión intra-ensayo (repetibilidad) (**Ver anexo 7C**), calculadas en cinco fotómetros mediante el uso de soluciones plasmáticas y acuosas preparadas a nivel interno. La precisión inter-ensayo (reproducibilidad) (**Ver anexo 7D**), se calculó mediante el uso de soluciones preparadas a nivel interno. Las muestras se analizaron durante 20 días laborables consecutivos, dos veces al día, por duplicado. Por otro lado, se realizaron estudios de correlación (**Ver anexo 7E**), de: 1) muestras acuosas procedentes de intervenciones quirúrgicas, analizadas en el sistema HemoCue Plasma/Low Hb con el método HiCN-(ICSH) como referencia. 2) Suspensiones de eritrocitos, analizadas en el sistema HemoCue Plasma/Low Hb con el método HiCN-(ICSH) como referencia y 3) Suspensiones de eritrocitos, analizadas en el sistema HemoCue Plasma/Low Hb con el método HiCN-(ICSH) como referencia.

3.8. Procesamiento y análisis de datos

Una vez recolectada la información se almacenó en una base de datos en Microsoft Excel® (Microsoft Corp. Seattle), la cual se encriptó para proteger la información. El análisis bivariado se hizo mediante tablas de contingencia de 2x2, el mismo programa se utilizó para

todos los análisis mostrados en la sección resultados. Además, se prepararon curvas de correlación entre la variable independiente y la variable dependiente para cada uno de los tiempos establecidos de medición, mediante el programa Software Stata (Stata 12, StataCorp, Texas).

3.9. Aspectos éticos

En la presente investigación, participaron todas las unidades de sangre de manera anónima, los donantes al ser anónimos para esta investigación no recibieron resultados de ninguno de los análisis obtenidos en el estudio, tampoco se utilizaron los resultados del estudio para fines de manejo del receptor de la unidad sanguínea y por último se aseguró la confidencialidad de los datos de los donantes empleando códigos alternos al número de donante.

El presente estudio fue sometido para revisión del comité de ética de la Universidad Privada Norbert Wiener y se solicitó autorización a la Clínica Delgado.

CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1. Resultados

4.1.1. Análisis descriptivo de resultados

La edad promedio de los 400 donantes fue de 38 años, con edades que fluctúan desde los 18 hasta los 65 años (previa evaluación médica), 277 (69%) fueron varones y 123 (31%) mujeres. El grupo sanguíneo más común entre los donantes fue A 172 (43%) seguido de O 164 (41%), siendo los menos B 53 (13%) y AB 11 (3%).

Tabla 1

Número unidades de concentrados de hematíes analizados por periodo de tiempo de conservación (n=400)

Días	Número (n)	%
2	400	43%
7	337	36%
21	159	17%
28	31	3%
35	8	1%
Total	935	100%

Nota: el (n) muestra las unidades que alcanzaron cada periodo de tiempo.

Más de una unidad tuvieron más de una medición.

Fuente: Elaborado por los investigadores

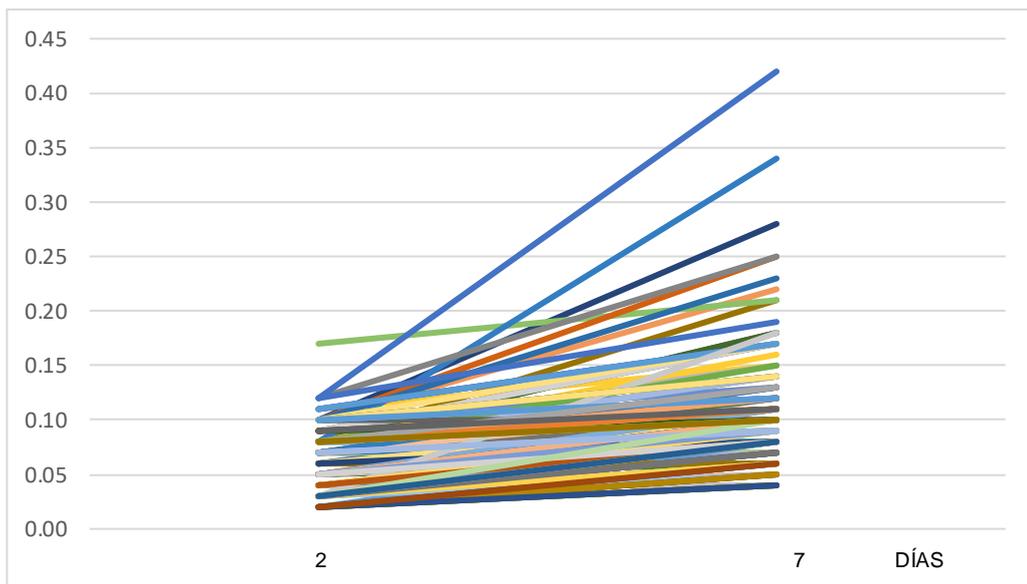
Interpretación:

Se analizaron 400 muestras provenientes de un número similar de unidades de sangre, las mismas fueron analizadas después de estar conservadas hasta por 35 días. La mayor cantidad de unidades se conservaron por dos (43%) y siete días (36%), las demás se conservaron por periodos de 21, 28 y 35 días. El siguiente grupo que se conservó en gran porcentaje (17%) fue el de 21 días.

Gráfica 1

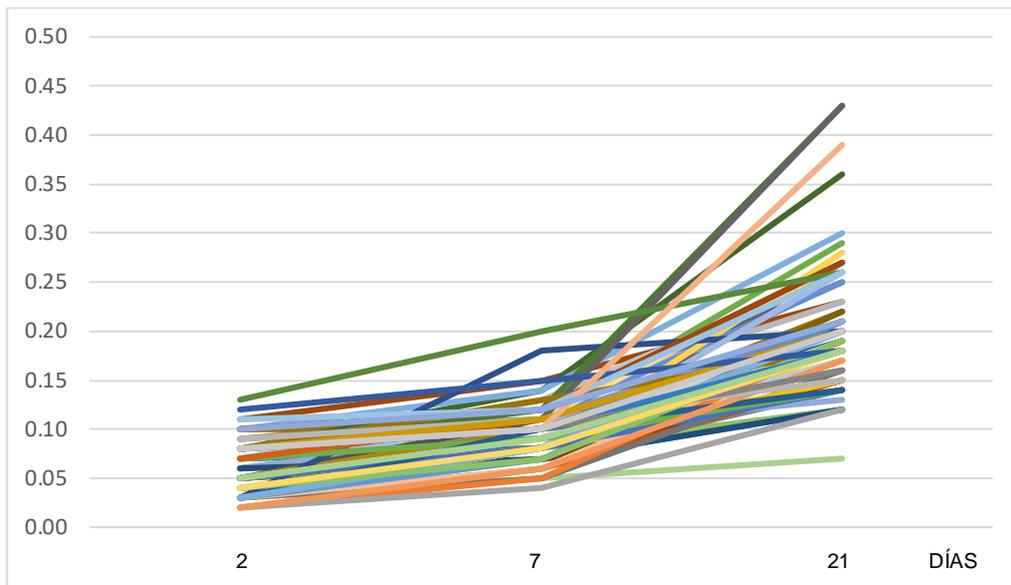
Incremento de hemoglobina libre (g/dL) en diferentes periodos de tiempo de conservación de concentrados de hematíes (A-D)

A. Día 2 al día 7 de conservación (n=337 unidades)



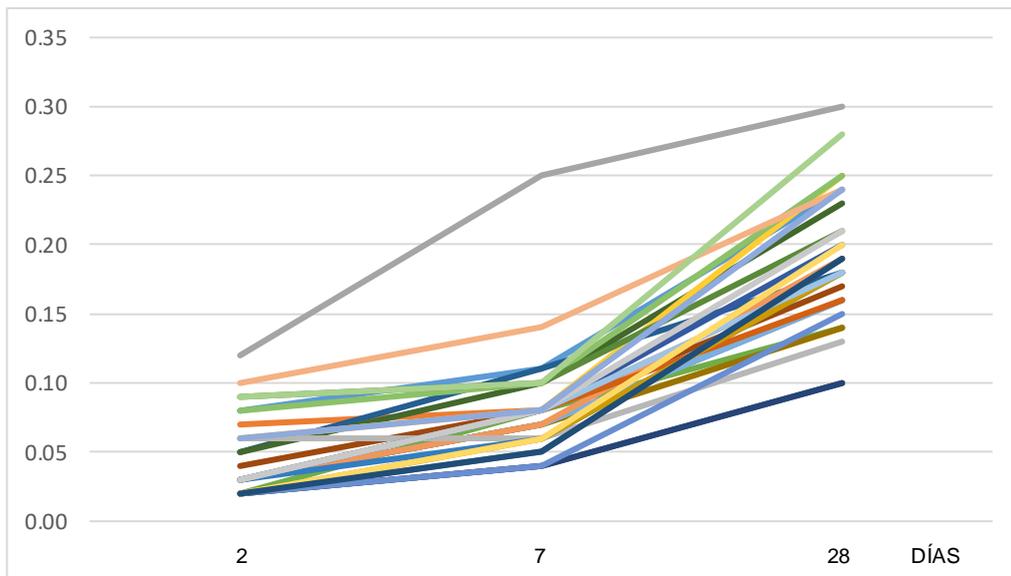
Fuente: Elaborado por los investigadores

B. Día 2 al día 21 de conservación (n=159 unidades)



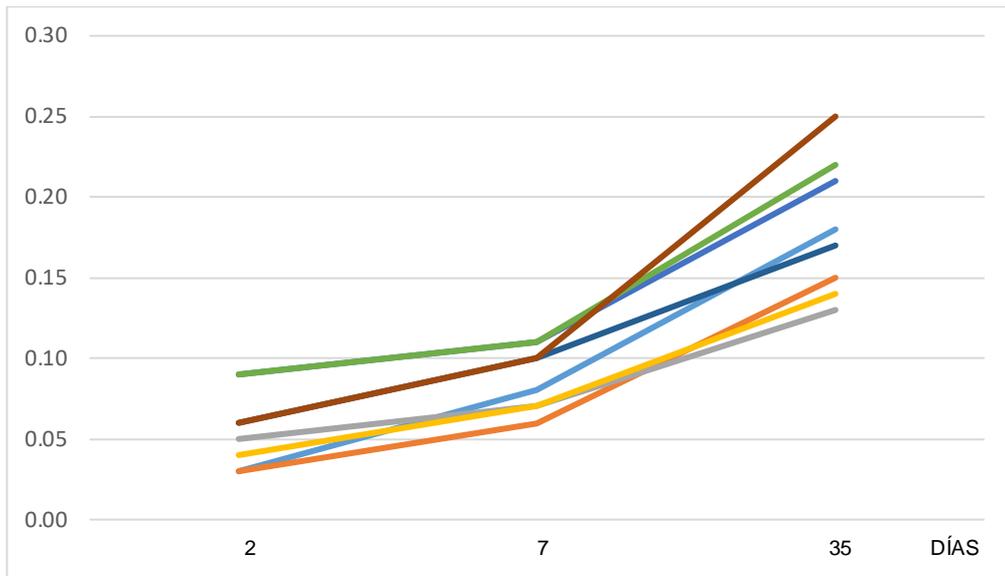
Fuente: Elaborado por los investigadores

C. Día 2 al día 28 de conservación (n=31 unidades)



Fuente: Elaborado por los investigadores

D. Día 2 al día 35 de conservación (n=8 unidades)



Fuente: Elaborado por los investigadores

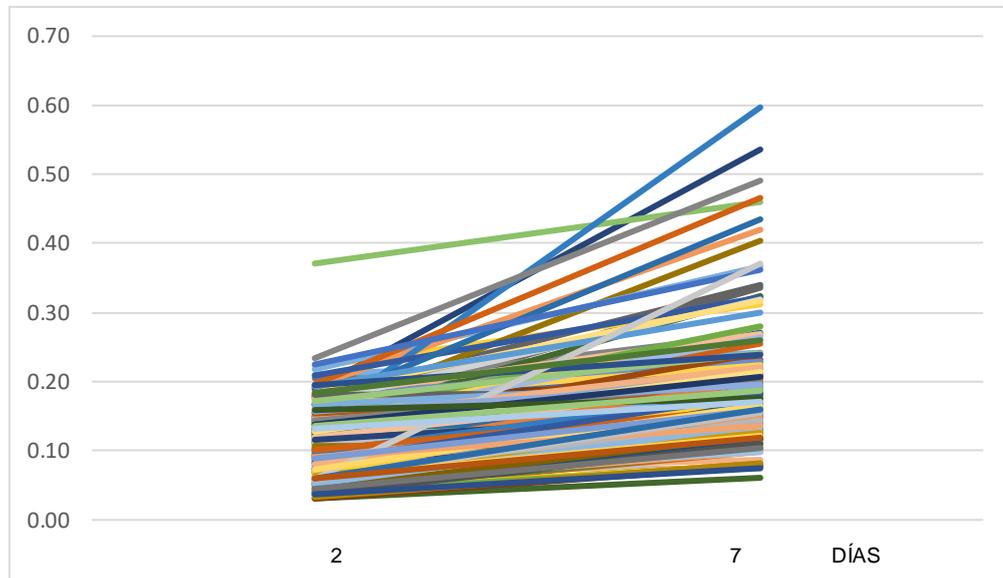
Interpretación:

Esta gráfica está compuesta por 4 figuras, cada una de ellas muestra las curvas de concentración de hemoglobina libre para cada uno de los periodos estudiados. A) Días 2 al 7, se observa una clara tendencia al aumento de la hemoglobina libre, algunas hasta aumentan 8 veces la concentración de hemoglobina libre en el día 7, en comparación con el día 2. B) Días 2, 7 y 21, en tres diferentes puntos de medición, la concentración de hemoglobina libre aumenta sostenidamente. C) Días 2, 7 y 28, continúa el incremento de la hemoglobina libre, pero el incremento final es menor que aquellas unidades con menor tiempo de conservación. D) El grupo pequeño que llegó a 35 días muestra un patrón similar a la gráfica C.

Gráfica 2

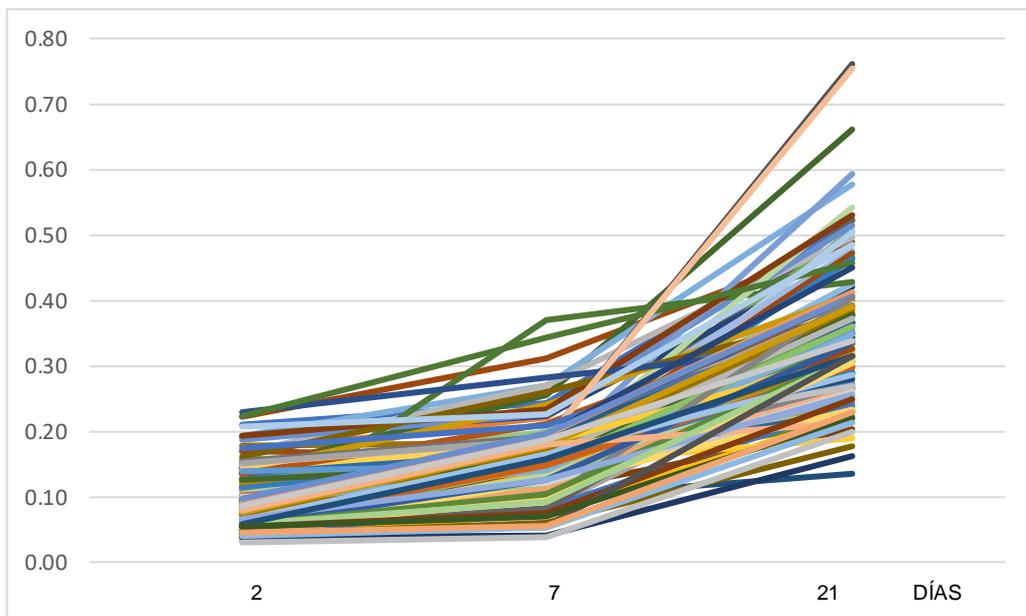
Incremento porcentual de hemólisis en diferentes periodos de tiempo de conservación de unidades de concentrados de hematíes (A-D)

A. Día 2 al día 7 de conservación (n=337 unidades)



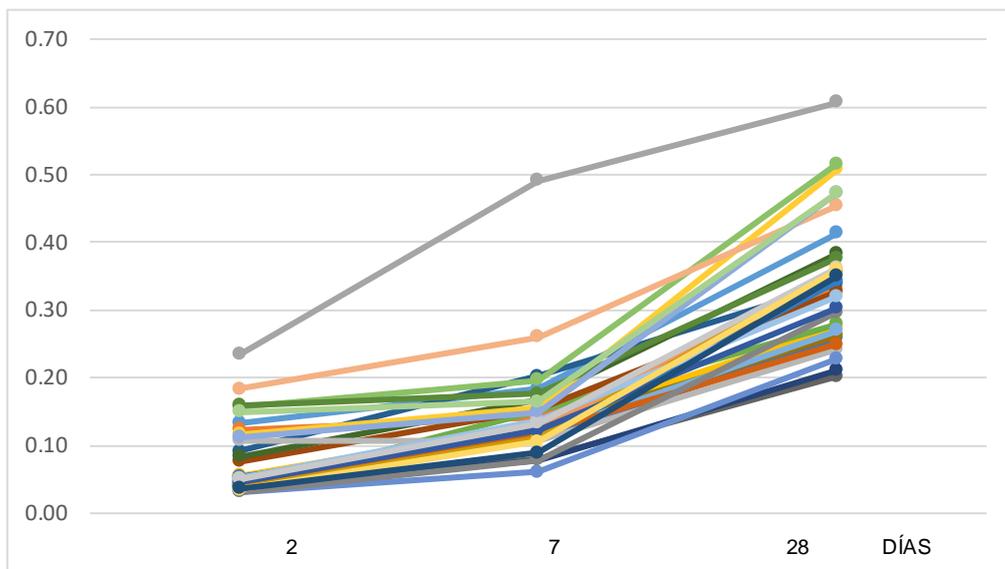
Fuente: Elaborado por los investigadores

B. Día 2 al día 21 de conservación (n=159 unidades)



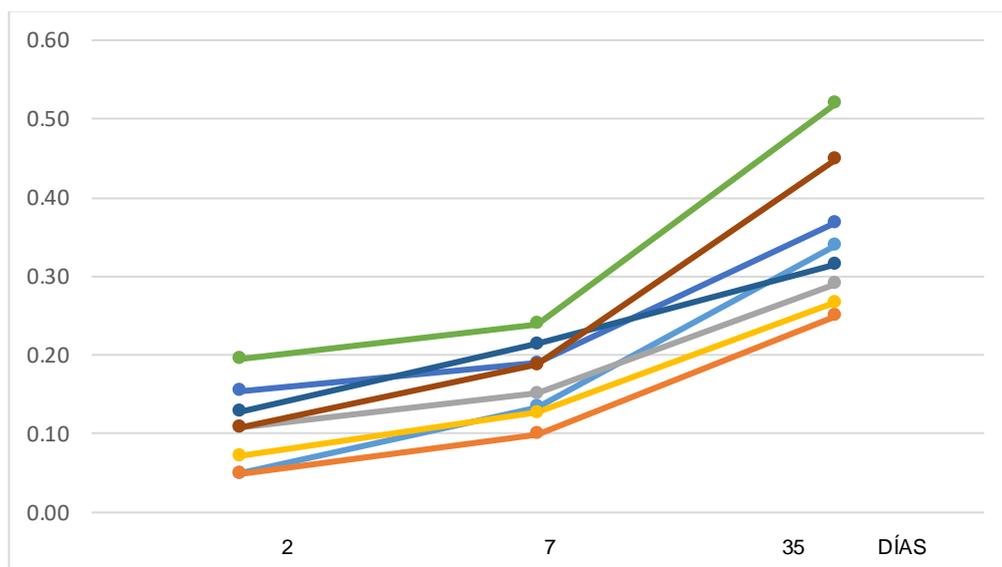
Fuente: Elaborado por los investigadores

C. Día 2 al día 28 de conservación (n=31 unidades)



Fuente: Elaborado por los investigadores

D. Día 2 al día 35 de conservación (n=8 unidades)



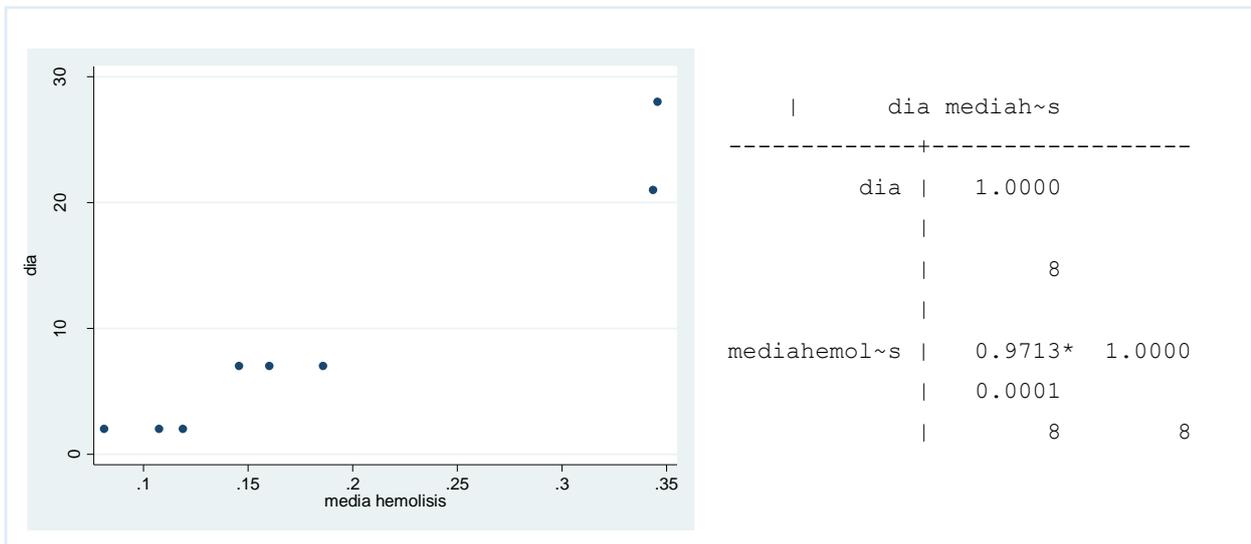
Fuente: Elaborado por los investigadores

Interpretación:

Esta gráfica está compuesta por 4 figuras, cada una de ellas muestra las curvas de porcentaje de hemólisis para cada uno de los periodos estudiados. A) Días 2 al 7, se observa una clara tendencia al aumento porcentual de hemólisis, algunas hasta triplican el porcentaje de hemólisis en el día 7, en comparación con el día 2. B) Días 2, 7 y 21, se muestran tres puntos de medición, la curva se incrementa bruscamente del día 7 al 21. C) Días 2, 7 y 28, continúa el incremento del porcentaje de hemólisis, pero estas unidades muestran menos incremento que lo observado en la gráfica A y B a pesar del tiempo. D) El grupo pequeño que llegó a 35 días muestra un patrón similar a la gráfica C.

Gráfica 3

Correlación entre el tiempo de almacenamiento y la media del porcentaje de hemólisis en los concentrados de hematíes almacenados en el banco de sangre.



Fuente: Elaborado por los investigadores

Interpretación:

La gráfica 3 muestra el análisis de correlación entre la media del porcentaje de hemólisis y el tiempo de almacenamiento. Se observa un $p=0.0001$ mostrando una correlación positiva entre el tiempo de almacenamiento y la media del porcentaje de hemólisis.

Tabla 2

Valores promedio de hemoglobina total, hematocrito, hemoglobina libre y el porcentaje de hemólisis, en los diferentes momentos de medición.

DÍA	HEMOGLOBINA TOTAL (g/dL)	HEMATOCRITO (%)	HEMOGLOBINA LIBRE (g/dL)	HEMÓLISIS (%)
2	21.8	60	0.06	0.12
7	21.7	60	0.10	0.18
21	21.6	60	0.19	0.34
28	21.5	60	0.19	0.35
35	21.5	59	0.20	0.35

Fuente: Elaborado por los investigadores

Interpretación:

La tabla 2 muestra la variación media del nivel de hemoglobina total, hematocrito, hemoglobina libre y porcentaje de hemólisis desde el día 2 hasta el día 35 de almacenamiento. El contenido de hemoglobina total en las 400 unidades de concentrados de hematíes osciló de 17.6 a 25.6 g/dL, con una media de 21.8 g/dL en el día 2 de almacenamiento y 21.5g/dL en el día 35. El porcentaje de hematocritos en los 400 concentrados de hematíes fluctuaron de 51 a 70%, con una media de 60% en el día 2 de almacenamiento y 59 % en el día 35.

En esta misma tabla también se puede apreciar el nivel de hemoglobina libre y el porcentaje de hemólisis, como era esperado producto de la lesión de almacenamiento, la hemoglobina libre y el porcentaje de hemólisis se incrementan gradualmente después de la separación del hemocomponente y procesamiento según pasen los días de almacenamiento hasta el día 35. Se observó la menor cantidad de hemoglobina libre los días próximos a la recolección (día 2), el nivel más alto de hemoglobina libre observado en este día de almacenamiento es de 0.17 g/dL, con una media de 0.06 g/dL, mientras que el nivel más alto de hemoglobina libre observado en el día 35 de almacenamiento es de 0.25 g/dL, con una media de 0.20 g/dL. Por otro lado, el menor porcentaje de hemólisis observado en el día 2 de almacenamiento es 0.03% con una media de 0.12%, mientras el porcentaje de hemólisis con el pico máximo

observado es 0.52% con un promedio 0.35% en el día 35 de almacenamiento. El porcentaje máximo de hemólisis registrado en las 400 muestras es de 0.76%, con una media general de hemólisis de 0.27% (rango, 0.03-0.76%), que se encuentra muy por debajo del nivel permitido del 0.8% según la normativa Europea y límite de 1% según la FDA.

4.1.2. Discusión de resultados

En el presente estudio, para la determinación del porcentaje de hemólisis fueron analizados 400 concentrados de hematíes, realizándose la medición en muestras obtenidas de los fragmentos de la tubuladura. Los análisis de hemoglobina se realizaron con el analizador portátil HemoCue® Plasma/Low Hb (HemoCue®, Danaher Corp., Suecia) con el cual medimos la hemoglobina libre los días 2, 7, 21, 28 y 35, para posteriormente emplear la fórmula del cálculo del porcentaje de hemólisis. Este estudio se ejecutó durante los meses de agosto y septiembre 2019, teniéndose como referencia a la Dirección Europea de Calidad de Medicamentos y Atención Sanitaria del Consejo de Europa (EDQM), donde se establece como requerimiento según el estándar de calidad, que los concentrados de hematíes deben tener un porcentaje de hemólisis <0.8%, debido a que se constató que no existe entre las normas del PRONAHEBAS, una directiva que mencione la medición del porcentaje de hemólisis en los concentrados de hematíes a pesar que se cuenta con un manual de calidad. Optamos por estudiar la extensión del porcentaje de hemólisis desde el día 2 hasta el día 35 a pesar de que la solución aditiva utilizada permite el almacenamiento de los hematíes hasta por 42 días, solo porque la mayoría de nuestras unidades de concentrados de hematíes se entregan y transfunden dentro de este período. Para disminuir riesgos potenciales por agentes infecciosos presentes en la unidad sanguínea, la primera muestra utilizada para determinar el porcentaje de hemólisis se recolectó al día siguiente de la obtención de los resultados del tamizaje serológico no reactivo (día dos de extracción). Cabe resaltar que a todas las unidades de concentrados de hematíes no se le midió el porcentaje de hemólisis en los días 7, 21, 28 y 35; las 400 unidades se conservaron por dos días, 337 por siete días, las demás se conservaron por periodos de 21, 28 y 35 días, siendo el otro grupo que tuvo mayor tiempo de conservación el de 21 días con 159 unidades. Esto se debió a que en nuestro centro acude una considerable población de pacientes quirúrgicos, oncológicos y hematológicos, que requieren de concentrados de hematíes seguros y eficaces de manera constante, además que nuestro centro abastece con unidades sanguíneas a otras sedes ya sea en Lima u otras ciudades.

En relación a los hematocritos de los concentrados de hematíes y la hemólisis, podemos mencionar que el promedio de los hematocritos de las unidades de concentrados de hematíes hallados en nuestro estudio disminuyó de 60% en el día 2 de almacenamiento al 59% en el día 35 que representa el 95.5% de las unidades sanguíneas; esto puede explicarse debido a la ruptura de la membrana del hematíe. No obstante, hay unidades 18 (4.5%) en las cuales el promedio de hematocrito aumentó de 60.3% en el día 2 de almacenamiento a 61.6% en los días posteriores, concordando con los resultados obtenidos por Sayeedul y col. donde se registró un hematocrito promedio de 69.1% en el día 1 de almacenamiento a 71.5% en el día 42. Este aumento puede explicarse debido a los cambios morfológicos que sufre la membrana de los hematíes. Cuando los hematíes pierden partes de su membrana como las microvesículas debidas a las lesiones de almacenamiento, se produce una disminución de la relación área superficie-volumen originando esferocitos microcíticos. Además, gran parte de las poblaciones de hematíes son equinocitos con muchas proyecciones en sus membranas, las cuales sobresalen hacia el exterior, impidiendo la agrupación uniforme de los hematíes (11, 37). Sumado a ello, que los concentrados de hematíes obtenidos en nuestro centro presentan un rango de hematocrito del 51 al 70%, ya que con un hematocrito de 80% se presentan ínfimas cantidades de plasma, siendo más viscosos y difíciles de infundir en situaciones de emergencia. Por tal motivo, para superar el problema de concentración de hematíes se tiene que mantener una cantidad de plasma adecuada que permita la nutrición del hematíe y mejore sus propiedades de flujo, esto se logra usando soluciones aditivas que permitan la recuperación de la máxima cantidad de plasma y la preparación de unidades de concentrados de hematíes con un hematocrito final de aproximadamente 60% (11, 39).

En cuanto a la medición de los niveles de hemoglobina libre en el medio de suspensión (plasma) y la hemólisis, esta se realizó después del procesamiento, separación de hemocomponentes y adición del OPTISOL como solución aditiva desde el día 2 hasta el día 35. Se observó un aumento progresivo en el nivel de hemoglobina libre conforme transcurre el tiempo de almacenamiento muy similar al de otros estudios (11, 14, 40, 62). En el día 2 de almacenamiento los niveles medios de hemoglobina libre en los concentrados de hematíes fueron 0.06g/dL (rango, 0.02 - 0.17 g/dl), siendo este nivel semejante al reportado por Sayeedul y col. (11) y Sawant y col. (14). Así mismo, se observó que los niveles medios de hemoglobina libre en el día 35 de almacenamiento fueron 0.20 g/dL (rango, 0.13 - 0.25 g/dl), sin embargo, este nivel reportado fue más bajo en comparación con los otros estudios que no usaron OPTISOL como solución aditiva (40, 62, 64). No obstante, los niveles de

hemoglobina libre reportados fueron similares al obtenido por Sayeedul y col, donde utilizaron como anticoagulante CPDA-1 y SAGM como solución aditiva, informando un nivel de hemoglobina libre de 0.19 g/dL en el día 35 de almacenamiento (11). Mukherjee y col. también realizaron un estudio del nivel de hemoglobina libre presente en los concentrados de hematíes utilizando como anticoagulante CPDA-1, sin añadir solución aditiva (SAGM), informando un aumento en el nivel de hemoglobina libre desde el día 1 hasta el día 21 (64). Mientras que el nivel de hemoglobina libre en otro estudio utilizando CPDA-1 como anticoagulante y sin añadir solución aditiva a los concentrados de hematíes en el día 28 fue 0.21 g/dL (40).

En lo referente al porcentaje de hemólisis, el porcentaje máximo registrado en las 400 muestras fue 0.76%, con una media general de hemólisis de 0.27% (rango, 0.03-0.76%), además el porcentaje promedio de hemólisis al final de las 5 semanas de almacenamiento en el presente estudio fue 0.35% (rango 0.25 a 0.52%), siendo aproximadamente 2 veces la hemólisis con respecto a las semanas 1 y 2, coincidiendo con el resultado de otros investigadores (10, 11, 13, 14, 64, 74, 75). Este aumento de la tasa de hemólisis con el tiempo de almacenamiento se produce a medida que las condiciones de almacenamiento dentro de la bolsa de sangre se deterioran continuamente. En nuestro estudio, nuestra hipótesis sugería que a mayor tiempo de almacenamiento los concentrados de hematíes presentarían un porcentaje de hemólisis mayor al 0.8%. Sin embargo, el porcentaje máximo de hemólisis encontrado fue 0.52% que está muy por debajo del umbral permisible establecido por el Consejo Europeo de 0.8% y del límite de 1% recomendado por la FDA al final del período de almacenamiento de los concentrados de hematíes; por tanto, si bien no se ha comprobado nuestra hipótesis, es bueno saber que las unidades de sangre tienen un porcentaje de hemólisis por debajo de estándares internacionales; si hay que tener en cuenta que nuestros resultados arrojaron una correlación positiva entre el tiempo de almacenamiento y el porcentaje de hemólisis. Además, el estudio cumplió con el nuevo requisito de la FDA de que, al final del almacenamiento, el 95% de las unidades de hematíes tienen <1% de hemólisis estableciendo de manera efectiva la media necesaria de hemólisis de fin de almacenamiento en alrededor de 0.35%. Un dato importante a tener en cuenta mencionado en diversos estudios es que, dentro de la población de donantes, se observa una gran variabilidad en el porcentaje de hemólisis al final del almacenamiento cuando los hematíes de diferentes donantes se almacenan en condiciones idénticas. La distribución de la

población de tales valores es sesgada y la mayoría de los valores caen por debajo del umbral permisible, no obstante, hay gran cantidad de valores más altos que se vuelven cada vez más raros y no se agrupan (4). Es importante mencionar que en el estudio realizado por Zimmermann y col. se informaron tasas más altas de hemólisis in vitro en unidades de concentrados de hematíes con bajo contenido de hemoglobina. En nuestro estudio, no pudimos demostrar tal correlación, ya que todos nuestros concentrados de hematíes en OPTISOL como solución aditiva estaban dentro de los rangos de hemoglobina aceptados de 40 a 60g por unidad.

Los principales problemas que surgen en los bancos de sangre durante el almacenamiento de los concentrados de hematíes son la hemólisis y los cambios bioquímicos y biomecánicos (lesiones de almacenamiento) que sufren los hematíes con el tiempo y que hacen que se pierda de manera progresiva la capacidad de los mismos por sobrevivir en la circulación después de la transfusión ocasionando implicaciones clínicas relevantes en algunos pacientes (11). La hemólisis se considera un marcador obvio del fallo en el sistema de almacenamiento de los hematíes, además, permite minimizar la transfusión de unidades sanguíneas contaminadas por hongos y/o bacterias. Puede darse en forma de ruptura de la integridad de la membrana o como pérdida de microvesículas de la superficie de células hemáticas aún intactas que causan liberación de hemoglobina. Por ende, es un indicador importante de la integridad celular y un parámetro de calidad. La calidad de los concentrados de hematíes almacenados es dependiente de la naturaleza del anticoagulante, la composición de la solución aditiva, las deficiencias en la colecta, en el procesamiento durante la separación de hemocomponentes, en las condiciones del almacenamiento dentro del banco de sangre y también durante la emisión y el transporte de la unidad sanguínea hasta la cabecera del paciente, entre otras (11, 13, 14, 28).

Otros factores que podrían alterar la viabilidad celular y por lo tanto influir en el desarrollo de la hemólisis son el tipo de recipiente utilizado para el almacenamiento, en nuestro estudio se utilizó bolsas cuádruples Top and Bottom marca TERUMO, investigaciones realizadas por el fabricante refieren que las bolsas reducen los daños de los componentes sanguíneos, al estar hechas de cloruro de polivinilo (PVC) con di-(2-etilhexilo) ftalato (DEHP) como plastificante y reforzadas por otra cubierta de polipropileno que evita el deterioro durante el transporte, siendo además el plástico externo corrugado para evitar la contaminación de los

componentes (11, 14). Hogman y col. en sus estudios realizados informaron que las unidades de concentrados de hematíes que se dañan durante los procedimientos preparativos y luego se almacenan en bolsas que no son DEHP tienen más probabilidades de hemolizarse durante el almacenamiento y manipulación adicional, afectando significativamente la hemólisis de los hematíes durante su almacenamiento (66). Debido a, que el DEHP es un compuesto extremadamente soluble en lípidos que migra de la bolsa a la membrana del hematíe pudiendo intercalarse en ella y actuar como su estabilizador (43), disminuyendo la tasa de hemólisis cuatro veces y la pérdida de membrana por microvesiculación durante el almacenamiento (14, 60). También, hay que tener en consideración a la solución anticoagulante, en nuestro estudio utilizamos el CPD (citrato, fosfato y dextrosa), como anticoagulante estándar en la bolsa primaria con la finalidad de contrarrestar el daño que produce la maquinaria metabólica del hematíe a la membrana manteniendo la concentración de ATP para mejorar la viabilidad post-transfusión (14, 39, 40, 62).

En lo referente a las bolsas secundarias con solución aditiva y la producción de hemólisis, en nuestro trabajo de investigación utilizamos bolsas satélites TERUMO que favorecen el intercambio de gases CO₂ y O₂, reduciendo la formación de ácido láctico por glicólisis, de manera que se mantiene el pH óptimo y se favorece a la generación de ATP. Las soluciones aditivas proporcionan nutrientes a los hematíes para tener una viabilidad mejorada, así mismo, aumenta la vida útil del hematíe almacenado hasta por 42 días (11, 13, 14, 39). La solución aditiva utilizada en nuestro estudio es el OPTISOL, que tiene entre sus componentes cloruro de sodio, dextrosa (monohidratado), adenina y manitol que, además, reduce la tasa de hemólisis y la vesiculación de la membrana del hematíe probablemente porque el manitol actúa como eliminador de radicales libres y estabilizador de membrana (11, 14, 39). Ésta podría ser la razón, por la cual en el presente estudio los niveles de hemoglobina libre son menores en comparación con otros estudios realizados, en donde los resultados de hemoglobina libre utilizando como anticoagulante CPDA-1 y sin la utilización de aditivos como SAGM para el almacenamiento de los concentrados de hematíes fueron mayores. Estudios realizados por Sawant y col. encontraron que las unidades de concentrados de hematíes en SAGM mostraron un mayor nivel de hemólisis en comparación con las de Adsol, debido a que el Adsol contiene 50% más de adenina, 150% más de glucosa y además de 750 mg/dl de manitol que el SAGM, además que la presencia de manitol en el medio Adsol reduce la hemólisis incluso en presencia de proteasas leucocitarias, coincidiendo con otros autores (13, 14, 80). Estas observaciones fueron reforzadas por

Heaton y col. quienes informaron que los hematíes almacenados en Adsol (AS1) eliminaron significativamente menos colesterol, fosfolípidos y proteínas de la membrana de la vesícula del hematíe y mantuvieron mejores puntuaciones morfológicas en comparación con los almacenados en la CPDA-1, produciéndose estos cambios principalmente en las primeras dos a tres semanas de almacenamiento (69, 75).

Los procedimientos de preparación de hemocomponentes también influyen en la calidad final causando hemólisis, entre estos podemos mencionar, la duración y la gran variación en las velocidades de centrifugación, el procedimiento de separación y la rápida suspensión de los hematíes en soluciones aditivas (14). Por lo tanto, no hay duda de que los componentes sanguíneos de diferentes fabricantes difieren en los parámetros que caracterizan su calidad (69). En nuestro estudio los concentrados de hematíes se consiguieron por el método de buffy coat (BC), método que permite obtener recuentos de leucocitos más bajos, factor importante al que se le atribuye una hemólisis reducida. Lo cual ha sido corroborado por un estudio realizado por Sawant y col. donde se compararon dos métodos para la preparación de concentrados de hematíes, el método de plasma rico en plaquetas (PRP) y el método de buffy coat, en este estudio se encontró que el mayor nivel de hemólisis en unidades de concentrados de hematíes con SAGM se atribuyó a la técnica preparatoria utilizada, es decir, al método PRP en el que se agrega la solución aditiva (SAGM) a los concentrados de hematíes después de la separación del PRP. Concluyendo que la exposición repentina de hematíes a soluciones aditivas en las bolsas de almacenamiento de sangre puede provocar daños o lisis en las poblaciones más frágiles de hematíes debido a un cambio en la osmolalidad (14, 80), además que con el método de buffy coat como se mencionó anteriormente se obtienen recuentos de leucocitos más bajos.

En relación a la leucoreducción y la producción de hemólisis, en nuestra investigación realizada todas las unidades de concentrados de hematíes fueron leucorreducidas antes de su almacenamiento dentro de las 48 horas a partir del fraccionamiento de una bolsa de sangre total utilizando una bolsa leucorreductora TERUMO, diversos autores han descrito que los concentrados de hematíes que son leucorreducidos poco después de la recolección mediante filtros de reducción disponibles comercialmente, provocan que la tasa de hemólisis disminuya, reduciendo importantemente la posibilidad de contaminación bacteriana, debido a que con el paso de tiempo los leucocitos liberan las bacterias que han atrapado previamente, además, estos se descomponen y liberan una serie de sustancias químicas y enzimas como

el peróxido de hidrógeno y las proteasas, las cuales se han reportado que pueden causar la lisis de los hematíes perjudicando su metabolismo y viabilidad contribuyendo significativamente a un aumento de la hemólisis de los concentrados de hematíes durante su almacenamiento (11, 13, 24, 30, 43, 69, 73). No obstante, también ha habido algunos informes en la literatura que muestran un aumento en la hemólisis a pesar del uso de filtros de leucorreducción (74, 75).

En cuanto a la temperatura y la producción de hemólisis, podemos mencionar que la temperatura de la sangre y los componentes durante el almacenamiento o procesamiento es un factor muy importante que ocasiona hemólisis. La temperatura afecta en gran medida a la capacidad de deformación de la membrana hemática y, por lo tanto, a la estabilidad de la membrana durante el procesamiento. Estos concentrados de hematíes térmicamente dañados pueden descomponerse durante el procesamiento, la centrifugación y la separación de las unidades sanguíneas en hemocomponentes. La temperatura en la cual se almacenan los concentrados de hematíes en la clínica Delgado es de 4°C, la cual es controlada con monitoreo gráfico continuo y registrada de manera periódica, esto influye en la prevención de la hemólisis teniendo en cuenta que ésta es un punto crítico, debido a que la tasa de glucólisis y el consumo de ATP disminuyen entre un 10% y 15% por grado Celsius. Además, los hematíes almacenados a 25°C se metabolizan diez veces más rápido que los almacenados a 4°C (24, 43). Sumado a ello, que el área de fraccionamiento cuenta con un ambiente climatizado con aire acondicionado que permite mantener la temperatura dentro de los rangos establecidos cumpliendo con los estándares de calidad de la AABB, Consejo Europeo y PRONAHEBAS. Zimmermann y col. estudiaron la posible influencia de las interrupciones de las condiciones de almacenamiento óptimas para los concentrados de hematíes por eventos cotidianos que se dan en un servicio de transfusión hospitalario, como pruebas de compatibilidad cruzada y reingreso de componentes emitidos, concluyendo que los pequeños aumentos de temperatura durante las interrupciones de las condiciones de almacenamiento estándar también son causa del aumento in vitro de la hemólisis en unidades de concentrados de hematíes (80).

Diversos investigadores en todo el mundo han demostrado que el porcentaje de hemólisis producido en los hematíes aumenta con el período de almacenamiento, a pesar del creciente uso de soluciones aditivas, filtros para la leucorreducción y de todas las medidas preventivas tomadas durante el almacenamiento, siempre la producción de cierta cantidad de hemólisis es inevitable (14, 37, 48, 59, 74, 75). En ausencia de estándares que definan hemólisis

excesiva en los componentes sanguíneos y con la ausencia de pruebas fiables y convenientes para la detección y cuantificación de hemólisis, en la mayoría de los bancos de sangre incluido en nuestro centro se ha utilizado comúnmente la inspección visual de los segmentos de la tubuladura de la unidad sanguínea como método fácil y rápido para detectar la presencia de hemólisis en los concentrados de hematíes y por ende, determinar la idoneidad de una unidad sanguínea antes de salir del banco de sangre y también antes de la transfusión, no obstante, también se dan casos en que ni siquiera se hace esta evaluación. La hemoglobina libre se puede observar en el fluido en suspensión cuando los hematíes se sedimentan porque tiene un color intenso y sirve como marcador innegable de la falla en la membrana del hematíe (4, 14, 24, 30, 43). Diversos estudios han descubierto que el método visual es sesgado, inexacto, engañoso, subjetivo incluso con el uso de un comparador visual y carece de una estandarización adecuada que dificulta la comparación entre laboratorios y da como resultado una sobreestimación de la hemólisis en unidades de concentrados de hematíes (13, 15). Ya que, la coloración rojiza del plasma donde se encuentran suspendidos los concentrados de hematíes ocurre con niveles de hemoglobina libre tan bajos como 0.025 g/dL equivalente aproximadamente al 0.09% de hemólisis. Lo que conllevaría a que muchas de estas unidades sean juzgadas por tener hemólisis excesiva y sean descartadas, si es que no se ha evaluado objetivamente el porcentaje de hemólisis por un método cuantitativo, debido, a que actualmente no hay un umbral específico para el nivel de hemólisis evaluado por inspección visual de los hemocomponentes de la sangre antes de su liberación para transfusión. Un estudio realizado por Janatpour y col. ha dado a conocer que una inspección visual subjetiva hubiera causado el descarte de aproximadamente el 50% de las unidades recolectadas en CPDA-1 y el 10% de las unidades almacenadas en ADSOL (AS-1). Todas las unidades que muestran evidencia de hemólisis en el examen visual en nuestro estudio tienen niveles de hemoglobina libre dentro del umbral de hemólisis de 0.8%, las unidades con hemólisis excesiva se descartarían si no evaluáramos objetivamente el porcentaje de hemólisis.

El grado de hemólisis se puede estimar mediante diversas técnicas, donde se incluyen ensayos espectrofotométricos, método fotométrico, técnica de microplacas, entre otras (13, 15, 80). Los métodos cuantitativos como el método espectrofotométrico TMB (tetrametilbencidina), han sido los tradicionales "Estándar de oro" para la medición de hemoglobina libre (14, 15, 59). Sin embargo, estos pueden llegar a ser engorrosos, complejos, costosos, requieren de equipo no disponible de forma rutinaria en un banco de

sangre, tienen problemas de estandarización, no son adecuados para manejar un gran número de muestras, y en ocasiones requieren el uso de productos químicos cancerígenos (15). En la actualidad, están disponibles métodos con mayor precisión, buena linealidad, reproducibilidad y fáciles de usar para cuantificar la hemólisis en los componentes sanguíneos para transfusión, que proporcionan estándares objetivos de hemólisis para la realización del control de calidad y para validación de nuevos procesos. Cardigan y col. realizaron un estudio donde compararon el método espectrofotométrico (TMB) y los métodos fotométricos (HemoCue), demostrando que ambos métodos dieron resultados comparables, aunque la media de hemoglobina libre por el método HemoCue fue 0.13 g/dL superior al de TMB 0.11g/dL (15, 65). Por lo mencionado anteriormente, en nuestro estudio optamos por utilizar una alternativa química y cuantitativa que es la modificación del método de la metahemoglobina azida, el método fotométrico mediante el Sistema HemoCue plasma/ Low Hb para evaluar el nivel de hemoglobina libre en concentrados de hematíes almacenados, siendo el promedio de hemoglobina libre encontrado en nuestro estudio 0.14 g/dL, semejante al de otros estudios (15), este método utilizado en nuestra investigación nos proporciona la ventaja de ser simple, rápido, portátil y reproducible, por ende, se pretende incorporar de manera favorable en el banco de sangre de la clínica Delgado.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

El porcentaje de hemólisis producido en las unidades de concentrados de hematíes durante su almacenamiento en el banco de sangre de la Clínica Delgado en el periodo de agosto a septiembre del 2019 fue en promedio 0.35% en el día 35 de almacenamiento. El pico de aumento del porcentaje de hemólisis se presentó desde los 21 a 35 días, siendo el valor máximo determinado 0.76%,

La concentración de hemoglobina libre determinada mediante fotometría en las unidades de concentrados de hematíes durante su almacenamiento en el banco de sangre de la Clínica Delgado en el periodo de agosto a septiembre del 2019 fue en promedio 0.14 g/dL hasta por 35 días de almacenamiento. El pico de aumento de hemoglobina libre se presentó desde los 21 a 35 días, siendo el valor máximo determinado 0.43g/dL.

El porcentaje de hemólisis de los concentrados de hematíes almacenados en el banco de sangre de la Clínica Delgado en el periodo de agosto a septiembre del 2019 aumentó de manera progresiva, mostrando una correlación positiva con los días de almacenamiento, sin pasar el límite permisible de 0.8% según el requerimiento de la EDQM.

5.2. Recomendaciones

Determinar el porcentaje de hemólisis con una técnica adecuada que permita obtener valores acertados para evaluar la calidad de la unidad de concentrados de hematíes.

Incorporar para la detección de hemoglobina libre en los concentrados de hematíes de manera rutinaria un método alternativo, sencillo, objetivo como el HemoCue plasma Low que presenta diversas ventajas entre ellas, la simplicidad de uso, la rapidez, precisión, buena linealidad y reproducibilidad, de manera que se evitan descartes innecesarios de unidades valiosas de concentrados de hematíes.

Supervisar y evaluar el cumplimiento de los protocolos implementados en el Banco de Sangre adoptando mejores medidas que permitan comprender las lesiones de depósito que es la base para mejorar la calidad del componente sanguíneo que se está entregando al paciente.

REFERENCIAS

1. Gkoumassi E, Dijkstra-Tiekstra MJ, Hoentjen D, de Wildt-Eggen J. Hemolysis of red blood cells during processing and storage. *Transfusion*. 2012; 52(3):489-92.
2. Cohen B, Matot I. Aged erythrocytes: a fine wine or sour grapes?. *British Journal of Anaesthesia*. 2013; 111 (S1): i62-i70.
3. Zubair. AC. Clinical impact of blood storage lesions. *Am. J. Hematol* .2010; 85 (1):117-122.
4. Hess JR, Sparrow RL, van der Meer PF, Acker JP, Cardigan RA, Devine DV. Red blood cell hemolysis during blood bank storage: using national quality management data to answer basic scientific questions. *Transfusion*.2009; 49 (1): 2599-2603.
5. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. 19th ed. Francia: Consejo de Europa. 2017. 293p.
6. DIBAN: Dirección de Banco de Sangre y Hemoterapia (PRONAHEBAS) [Internet]. Lima. Disponible en:
<https://www.minsa.gob.pe/digdot/diban/?op=3#Marco%20Legal>
7. OMS: El uso clínico de la sangre en medicina, obstetricia, pediatría y neonatología, cirugía y anestesia, trauma y quemaduras. [Internet]. Lima. Disponible en:
https://www.who.int/bloodsafety/clinical_use/en/Manual_S.pdf?ua=1
8. Arya RC, Wander G, Gupta P. Blood component therapy: Which, when and how much. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol*. 2011; 27 (2): 278-284.
9. Pizarro F. Criterios para la reposición de sangre y hemoderivados. *Medwave* .2001;1(01): e1105 doi: 10.5867

10. López Y, Borgno X, Ramírez S, Gutiérrez M, Curbelo J, Betancur N. (2017). Control de calidad de sangre desplammatizada: Evaluación de la hemólisis. Hemocentro Maldonado.
11. Sayeedul A, Neha Y, Suhailur R, Ghazala M. Study of Hemolysis During Storage of Blood in the Blood Bank of a Tertiary Health Care Centre. *Indian J Hematol Blood Transfus.* 2017; 33(4): 598–602.
12. Uwe N, Lesley H, Moritz F. Non-invasive detection of free hemoglobin in red blood cell concentrates for quality assurance. *J. of Biomedical Optics.* 2015; 4(2): 193–195.
13. Makroo RN, Raina V, Bhatia A, Gupta R, Majid A, Kumar Thakur U et al. Evaluation of the red cell hemolysis in packed red cells during processing and storage. *Asian J Transfus Sci.* 2011; 5(1): 15–17.
14. Sawant RB, Jathar SK, Rajadhyaksha SB, Kadam PT. Red cell hemolysis during processing and storage. *Asian J Transfus Sci.* 2007; 1(2):47-51.
15. Janatpour KA, Paglieroni TG, Crocker VL, DuBois DJ, Holland PV. Visual assessment of hemolysis in red blood cell units and segments can be deceptive. *Transfusion.* 2004; 44(7):984-9.
16. Orlov D, Karkouti K. The pathophysiology and consequences of red blood cell storage. *Anaesthesia.* 2015; 70 (1): 29–37.
17. Maldonado RM, Piña FL, Vásquez RM, Toro OC. Complicaciones asociadas a la transfusión masiva. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter.* 2013; 29(3).
18. James PE, Lang D, Tufnell-Barret T, Milsom AB, Frenneaux MP. Vasorelaxation by red blood cells and impairment in diabetes: reduced nitric oxide and oxygen delivery by glycated hemoglobin. *Circ Res.* 2004; 94 (7):976–83.
19. Zimrin AB, Hess JR. Current issues relating to the transfusion of stored red blood cells. *Vox Sanguinis.* 2009; 96(2):93-103.

20. Tinmouth A, Fergusson D, Yee IC, Hébert PC. Clinical consequences of red cell storage in the critically ill. *Transfusion*. 2006; 46(11):2014-27.
21. Reynolds JD, Ahearn GS, Angelo M, Zhang J, Cobb F, Stamler JS. S-nitrosohemoglobin deficiency: a mechanism for loss of physiological activity in banked blood. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007; 104 (43): 17058–62.
22. Bennett-Guerrero E, Veldman TH, Doctor A, Telen MJ, Ortel TL, Reid TS, et al. Evolution of adverse changes in stored RBCs. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007; 104(43):17063-8.
23. Xu Z, Zheng Y, Wang X, Shehata N, Wang C and Sun Y. Stiffness increase of red blood cells during storage. *Microsystems & Nanoengineering*. 2018; 4 (17103):1-6.
24. Hess JR G. An update on solutions for red cell storage. *Vox Sang*. 2006; 91:13-9.
25. Thomas S. Ambient overnight hold of whole blood prior to the manufacture of blood components. *Transfusion Medicine*. 2010; 20: 361-68.
26. Relevy H, Koshkaryev A, Manny N, Yedgar S, Barshtein G. Blood banking induced alteration of red blood cell flow properties. *Transfusion* 2008; 48:136-46.
27. Kerger H, Waschke KF, Ackern KV, Tsai AG, Intaglietta M. Systemic and microcirculatory effects of autologous whole blood resuscitation in severe hemorrhagic shock. *Am J Physiol*. 1999; 276(6):H2035-43.
28. Klein HG, Spahn DR, Carson JL. Red blood cell transfusion in clinical practice. *Lancet*. 2007; 370 (9585): 415–26.
29. D’Alessandro A, Liunbruno G, Grazzini G, Zolla L. Red blood cell storage: the story so far. *Blood Transfus*. 2010; 8(2):82–88.
30. Hess JR. Scientific problems in the regulation of red blood cell products. *Transfusion*. 2012; 52 (8): 1827–1835.

31. Werre JM, Willekens FL, Bosch FH, de Haans LD, Van der Vegt SG, Van den Bos AG et al. The red cell revisited-matters of life and death. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*.2004; 50(2):139-45.
32. Escamilla Guerrero G. Lesiones de almacenamiento. *Rev Mex Med Tran*. 2010; 3 (1): 48-54.
33. Gifford SC, Derganc J, Shevkoplyas SS, Yoshida T, Bitensky MW. A detailed study of time-dependent changes in human red blood cells: from reticulocyte maturation to erythrocyte senescence. *Br J Haematol*. 2006; 135 (3):395–404.
34. Willekens FL, Werre JM, Kruijt JK, Roerdinkholder- Stoelwinder B, Groenen-Dopp YA, Van den Bos AG et al. Liver Kupffer cells rapidly remove red blood cell-derived vesicles from the circulation by scavenger receptors. *Blood*. 2005; 105(5):2141-5.
35. Kay MM, Marchalonis JJ, Schluter SF, Bosman G. Human erythrocyte aging: cellular and molecular biology. *Transfus Med Rev*.1991; 5(3):173–95.
36. Kitamura H, Nagano A, Kitano E. Hemolysis of normal human erythrocytes by autologous serum complement. *Int Arch Allergy Immunol*. 1993; 100(3): 209–14.
37. Mustafa I, Marwani AA, Nasr KM, Kano NA, Hadwan T. Time Dependent Assessment of Morphological Changes: Leukodepleted Packed Red Blood Cells Stored in SAGM. *BioMed Research International*. 2016.
38. Gao Y, Lv L, Liu S, Ma G, Su Y. Elevated levels of thrombin-generating microparticles in stored red blood cells. *Vox Sang*. 2013; 105(1): 11-7.
39. Antonelou MH, Kriebardis AG, Stamoulis KE, Economou-Petersen E, Margaritis LH, Papassideri IS. Red blood cell aging markers during storage in citrate-phosphate-dextrose–salineadenine- glucose-mannitol. *Transfusion*. 2010; 50 (2):376–389.
40. Moore GL, Peck CC, Sohmer PR, Zuck TF. Some properties of blood stored in anticoagulant CPDA-1 solution. A brief summary. *Transfusion*. 1981; 21(2):135-7.

41. Umbreit J. Methemoglobin - it is not just blue: a concise review. *Am J Hematol.* 2007; 82(2): 134–44.
42. Gladwin MT, Kim-Shapiro DB. Storage lesion in banked blood due to hemolysis-dependent disruption of nitric oxide homeostasis. *Curr Opin Hematol.* 2009; 16 (6): 515–23.
43. Hess JR. Measures of stored red blood cell quality. *Vox Sang.* 2014; 107(1):1-9.
44. Luten M, Roerdinkholder-stoelwinder B, Nicolaas P et al. Survival of red blood cells after transfusion: A comparison between red cells concentrates of different storage periods. *Transfusion.* 2008; 48 (7): 1478–1485.
45. Hess JR, Lippert LE, Derse-Anthony CP, Hill HR, Oliver CK, Rugg N et al. The effects of phosphate, pH and AS volume on RBCs stored in saline-adenine-glucose-mannitol solutions. *Transfusion.* 2000; 40(8):1000-6.
46. Koch CG, Li L, Sessler DI, Figueroa P, Hoeltge GA, Mihaljevic T et al. Duration of red-cell storage and complications after cardiac surgery. *N Engl J Med.* 2001; 358: 1229–1239.
47. Stewart A, Urbaniak S, Turner M, Bessos H. The application of a new quantitative assay for the monitoring of integrin-associated protein CD47 on red blood cells during storage and comparison with the expression of CD47 and phosphatidylserine with flow cytometry. *Transfusion.* 2005; 45 (9):1496–503.
48. Hess JR, Greenwalt TG. Storage of red blood cells: new approaches. *Transfus Med Rev.* 2002; 16 (4):283–95.
49. Ozment CP, Mamo LB, Campbell ML, Lokhnygina Y, Ghio AJ, Turi JL. Transfusion-related biologic effects and free hemoglobin, heme, and iron. *Transfusion.* 2013; 53 (4): 732–40.

50. Donadee C, Raat NJ, Kanias T, Tejero J, Lee JS, Kelley EE, et al. Nitric oxide scavenging by red blood cell microparticles and cell-free hemoglobin as a mechanism for the red cell storage lesion. *Circulation*. 2011; 124 (4): 465–76.
51. Collard K, White D, Coppelstone A. The influence of storage age on iron status, oxidative stress and antioxidant protection in paediatric packed cell units. *Blood Transfus*. 2014; 12 (2): 210–219.
52. Buehler PW, Abraham B, Vallelian F, Linnemayr C, Pereira CP, Cipollo JF et al. Haptoglobin preserves the CD163 hemoglobin scavenger pathway by shielding hemoglobin from peroxidative modification. *Blood*. 2009; 113 (11): 2578–86.
53. Schaer DJ, Buehler PW, Alayash AI, Belcher JD, Vercellotti GM. Hemolysis and free hemoglobin revisited: exploring hemoglobin and heme scavengers as a novel class of therapeutic proteins. *Blood*. 2013; 121 (8): 1276–84.
54. Gladwin MT, Kim-Shapiro DB. Storage lesion in banked blood due to hemolysis-dependent disruption of nitric oxide homeostasis. *Curr Opin Hematol*. 2009; 16 (6): 515–23.
55. Nemeth E, Ganz T. Regulation of iron metabolism by hepcidin. *Annu Rev Nutr*. 2006; 26: 323-42.
56. Hod EA, Brittenham GM, Billote GB, Francis RO, Ginzburg YZ, Hendrickson JE et al. Transfusion of human volunteers with older, stored red blood cells produces extravascular hemolysis and circulating non-transferrin-bound iron. *Blood*. 2011; 118 (25): 6675-82.
57. Hod EA, Zhang N, Sokol SA, Wojczyk BS, Francis RO, Ansaldi D, et al. Transfusion of red blood cells after prolonged storage produces harmful effects that are mediated by iron and inflammation. *Blood*. 2010; 115 (21): 4284-92.
58. Windsant ICV, Snoeijs MG, Hanssen SJ, Altintas S, Heijmans JH, Koepfel TA, et al. Hemolysis is associated with acute kidney injury during major aortic surgery. *Kidney Int*. 2010; 77(10), 913-920.

59. Sowemimo-Coker SO. Red Blood Cell Hemolysis During Processing. *Transfus Med Rev.* 2002; 16 (1): 46-60.
60. Horowitz B, Stryker MH, Waldman AA, Woods KR, Grass JD, Drago J. Stabilization of red blood cells by the plasticizer, diethyl hexylphthalate. *Vox Sang.* 1985; 48 (3):150-5.
61. Hogman CF, Meryman HT. Storage parameters affecting red blood cell survival and function after transfusion. *Transfus Med Rev.* 1999; 13 (4):275-96.
62. Moroff G, Dende D. Characterization of biochemical changes occurring during storage of red cells. Comparative studies with CPD and CPDA-1 anticoagulant-preservative solutions. *Transfusion.* 1983; 23(6):484-9.
63. Moroff G, Holme S, AuBuchon JP, Heaton WA, Sweeney JD, Friedman LI. Viability and in vitro properties of AS-1 red cells after gamma irradiation. *Transfusion.* 1999; 39 (2):128-34.
64. Mukherjee S, Marwaha N, Prasad R, Sharma RR, Thakral B. Serial assessment of biochemical parameters of red cell preparations to evaluate safety for neonatal transfusions. *Indian J Med Res.* 2010; 132:715-20.
65. Cardigan R, Smith K. Evaluation HemoCue plasma hemoglobin analyzer for assessing hemolysis in Red cell concentrates during storage. *Vox Sanguinis.* 2002; 82(2):76-9.
66. Hogman CF, Eriksson L, Ericson A, Reppucci AJ. Storage of saline-adenine-glucose-mannitol-suspended red cells in a new plastic container: Polyvinyl chloride plasticized with butyryl-nitrhexyl-citrate. *Transfusion.* 1991; 31(1):26-29.
67. Sweet SJ, McCarthy S, Steingart R, Callahan T. Hemolytic reactions mechanically induced by kinked hemodialysis lines. *Am J Kidney Dis.* 1996; 27(2):262-6.
68. Kuypers FA. Red cell damage. *J Heart Valve Dis.* 1998; 7 (4):387-395.

69. Heaton WA, Holmes S, Smith K, Brecher ME, Pineda A, AuBuchon JP, et al. Effects of 3-5 log₁₀ pre-storage leucocyte depletion on red cell storage and metabolism. *Br J Hematol.* 1994; 87 (2):363–8.
70. AABB American Association Blood Banks. *Manual Técnico AABB.* 17ava ed. Maryland: Bethesda; 2012. 876p.
71. Maeda N, Nakajima T, Izumida Y, Suzuki Y, Tateishi N, Seiyama A. Decreased deformability of red cells in refractory anemia and the abnormality of membrane skeleton. *Biorheology.* 1994; 31(4):395-405.
72. Linderkamp O, Ruef P, Zilow EP, Hoffmann GF. Impaired deformability of erythrocytes and neutrophils in children with newly diagnosed insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia.* 1999; 42 (7):865-869.
73. Rogers SE, Edmondson D, Goodrick MJ, Standen GR, Franck V, Reppucci A, et al. Prestorage white cell reduction in saline-adenineglucose- mannitol red cells by use of an integral filter: evaluation of storage values and in vivo recovery. *Transfusion.* 1995; 35(9):727-33.
74. Gammon RR, Strayer SA, Avery NL, Mintz PD. Hemolysis during leukocyte-reduction filtration of stored red blood cells. *Ann Clin Lab Sci.* 2000; 30(2):195-9.
75. Müller-Steinhardt M, Janetzko K, Kandler R, Flament J, Kirchner H, Klüter H. Impact of various red cell concentrate preparation methods on the efficiency of prestorage white cell filtration and on d cells during storage for 42 days. *Transfusion.* 1997; 37(11-12):1137-42.
76. Eberlein-Konig B, Placzek M, Przybilla B. Phototoxic lysis of erythrocytes from humans is reduced after oral intake of ascorbic acid and d-alpha-tocopherol. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 1997; 13(5-6):173-7.
77. Nishiyama T, Hanaoka K. Free hemoglobin concentrations in patients receiving massive blood transfusion during emergency surgery for trauma. *Can J Anesth.* 2000; 47(9), 881-885.

78. Wong C, Song C, Heng K, Kee I, Tien S, Kumarasinghe P et al. Plasma Free Hemoglobin: A Novel Diagnostic Test for Assessment of the Depth of Burn Injury. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2006; 117(4), 1206-1213.
79. Lin L, Li Z, Zhang L, Ren J, Fu Z, Guan Y et al. Detection of free hemoglobin in blood products using transmission spectra and fluorescence spectra for quality assurance. *Anal Methods*. 2016; 8, 4239-4244
80. Zimmermann R, Heidenreich D, Weisbach V, Zingsem J, Neidhardt B, Eckstein R. In vitro quality control of red blood cell concentrates outdated in clinical practice. *Transfus Clin Biol*. 2003; 10 (4):275–83.
81. Melih Can O, Ülgen Y. Estimation of free hemoglobin concentrations in blood bags by diffuse reflectance spectroscopy. *J. of Biomedical Optics*. 2018; 23(12).
82. Malinauskas RA. Plasma hemoglobin measurement techniques for the in vitro evaluation of blood damage caused by medical devices. *Artif Organs*. 1997; 21(12):1255-67

Anexo 1
Matriz de consistencia

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPOTESIS GENERAL	VARIABLE INDEPENDIENTE	METODOLOGÍA	POBLACIÓN Y MUESTRA	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS
¿Cuál será el porcentaje de hemólisis producido en los concentrados de hematíes durante su almacenamiento en el banco de sangre de la Clínica Delgado periodo agosto-septiembre 2019?	Determinar el porcentaje de hemólisis producido en unidades de concentrados de hematíes durante su almacenamiento en el banco de sangre de la Clínica Delgado, periodo agosto-septiembre 2019.	A mayor tiempo de almacenamiento los concentrados de hematíes presentaran porcentaje de hemólisis mayor al 0.8%.	Tiempo de almacenamiento de los concentrados de hematíes. Dimensiones: Número de días (2, 7, 21, 28 y 35).	<ul style="list-style-type: none"> • Método Deductivo • Enfoque Cuantitativo • Tipo Aplicada 	<ul style="list-style-type: none"> • Población La población de estudio fueron todas las unidades obtenidas en el banco de sangre de la Clínica Delgado • Muestra La muestra estuvo conformada por 400 unidades de concentrados de hematíes obtenidas en el banco de sangre de la Clínica Delgado, del 01 de agosto del 2019 al 30 de septiembre del 2019. 	<ul style="list-style-type: none"> • Técnica Fotometría medida con el Sistema HemoCue plasma/ Low Hb para determinar hemoglobina libre. Medición de la hemoglobina total empleando el hemoglobinómetro HemoCue HB 301. Medición del hematocrito utilizando una centrifuga para microhematocritos. Todas estas mediciones permitieron determinar el porcentaje de hemólisis empleando una fórmula matemática • Instrumento Ficha de recolección de datos elaborada por los investigadores.
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	VARIABLE DEPENDIENTE	<ul style="list-style-type: none"> • Nivel o alcance Descriptivo y prospectivo • Diseño Observacional, longitudinal, 		
<ul style="list-style-type: none"> • ¿Se podrá determinar adecuadamente la concentración de hemoglobina libre mediante fotometría en concentrados de hematíes almacenados en el banco de sangre de la Clínica Delgado, periodo agosto -septiembre 2019? • ¿Cuál será la relación que existe entre el porcentaje de hemólisis con los días de almacenamiento, en los concentrados de hematíes almacenados en el banco de sangre de la Clínica Delgado, periodo agosto -septiembre 2019? 	<ul style="list-style-type: none"> • Determinar la concentración de hemoglobina libre mediante fotometría en concentrados de hematíes almacenados en el banco de sangre de la Clínica Delgado, periodo agosto -septiembre 2019. • Identificar la relación que existe entre el porcentaje de hemólisis con los días de almacenamiento, en los concentrados de hematíes almacenados en el banco de sangre de la Clínica Delgado, periodo agosto-septiembre 2019. 	<ul style="list-style-type: none"> • Es posible determinar adecuadamente la concentración de hemoglobina libre mediante fotometría en concentrados de hematíes almacenados en el banco de sangre de la Clínica Delgado, periodo agosto -septiembre 2019. • Existe una correlación entre el porcentaje de hemólisis con los días de almacenamiento, en los concentrados de hematíes almacenados en el banco de sangre de la Clínica Delgado, periodo agosto-septiembre 2019. 	Porcentaje de hemólisis Dimensiones: Normal: 0-0.8% Fuera de rango: >0.8 a más.			
			VARIABLES INTERVINIENTES			
			Concentración de hemoglobina libre, hemoglobina total, hematocrito, unidades filtradas, tiempo de extracción, volumen total de sangre obtenida, días transcurridos desde la extracción.			

Fuente: Elaborado por los investigadores

Anexo 2

Instrumento de Investigación: Ficha de recolección de datos

TITULO: “PORCENTAJE DE HEMÓLISIS EN CONCENTRADOS DE HEMATIES DURANTE SU ALMACENAMIENTO EN EL BANCO DE SANGRE DE LA CLINICA DELGADO PERIODO AGOSTO - SEPTIEMBRE 2019”

Parte 1						Parte 2																					
						Días de almacenamiento																					
						Día 2				Día 7				Día 21				Día 28				Día 35					
N°	Fecha de ingreso	Fecha de salida	N° de donación	Grupo sanguíneo	Tiempo de extracción	Hto (%)	Hb (g/dL)	Hb libre (g/dL)	Hemólisis (%)	Hto (%)	Hb (g/dL)	Hb libre (g/dL)	Hemólisis (%)	Hto (%)	Hb (g/dL)	Hb libre (g/dL)	Hemólisis (%)	Hto (%)	Hb (g/dL)	Hb libre (g/dL)	Hemólisis (%)	Hto (%)	Hb (g/dL)	Hb libre (g/dL)	Hemólisis (%)		

Fuente: Instrumento elaborado por los investigadores

Anexo 3

Formato de selección del postulante

Ocupación:		Edad:	Sexo: M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>
Lugar de Nacimiento:		Estado Civil: Sol <input type="checkbox"/> Cas <input type="checkbox"/> Vu <input type="checkbox"/> Di <input type="checkbox"/> Con <input type="checkbox"/>	
Lugar de Procedencia:		Centro de Trabajo:	
Teléfono casa:	Celular:	Correo:	
Viajes	Permanencia:	Fecha de retorno del viaje:	

II. EXAMEN FÍSICO:

Peso:	Kg	Talla:	m	P.A.:	mmHg	Pulso:	pul/min
Saturación:	%	Hb:	Hto:	T°	Grupo y Rh:		
Inspección de accesos venosos:							

Observaciones:

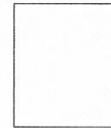
En caso se determine que el postulante hasta este punto no califica para continuar el Proceso, se da por finalizado este. Firmando el postulante en señal de aceptación

Postulante (pre-extracción):

Firma:

Entrevistador:

Firma:



Huella Digital

III. PROTOCOLO DE SELECCIÓN AL DONANTE DE SANGRE

1. ¿Ha leído y entendido el material informativo que le entregamos?	Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
2. ¿Tiene más de 18 años?	Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
3. ¿Pesa más de 50 Kilos?	Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
4. ¿Ha donado sangre en los últimos dos (2) meses?	Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
5. ¿Dónde?		
7. ¿Está tomando o tomó algún medicamento en los últimos días?	Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
8. ¿Cuáles?:		
9. ¿Está actualmente en la lista de espera para una cita con el médico?	Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
10. ¿Por qué?		
12. ¿Se encuentra ahora bien de salud?	Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
EN LAS PRÓXIMAS 24 HORAS:		
13. ¿Va a realizar actividad (laboral, deportivas u otras actividades riesgosas)?	Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
EN LAS ÚLTIMAS DOS (2) SEMANAS:		
14. ¿Ha tenido fiebre o dolor de cabeza o evidencia de enfermedad?	Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
EN EL ÚLTIMO MES:		
15. ¿Recibió alguna vacuna? ¿Cuál?	Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
EN LOS ÚLTIMOS DOCE (12) MESES:		
16. ¿Se colocó Ud. tatuajes, "piercing", aretes en algún lugar del cuerpo u contacto accidental con sangre?	Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>

EN ALGUNA OCASIÓN DURANTE SU VIDA:

18. ¿Padece de alguna enfermedad o molestia que requiere control? Sí No
Mencione la enfermedad o molestia: _____

SI ES UD. MUJER

Fecha de última regla: ____/____/____ ¿Está gestando actualmente? Sí No

19. ¿Esta Ud. actualmente dando de lactar? Sí No

20. Fecha de último parto: _____ Nº de gestaciones: _____

IV. CON ASESORÍA DEL ENTREVISTADOR

21. ¿Cree que podría ser o tiene dudas respecto a que podría ser portador de VIH, Hepatitis B y C? Sí No

22. ¿Alguna vez en su vida uso drogas ilícitas endovenosas u otras? Sí No

23. ¿Tiene o ha tenido conducta sexual de riesgo en el último año? Sí No

24. ¿Se ha hecho alguna prueba de descartar de VIH? Sí No

25. ¿Ha mantenido relaciones íntimas con personas diagnosticadas de hepatitis B, C, VIH? Sí No

26. ¿Ha padecido de alguna enfermedad de transmisión sexual? Sí No

Sífilis Sí No Chancro Sí No

Gonorrea Sí No Otras Sí No

V. PRE - CALIFICACIÓN

APTO NO APTO TEMPORAL NO APTO PERMANENTE

Motivo:
Tiempo: (Días) (Meses) (Años)
Fecha en que puede retomar: ____/____/____

En caso se determine que el postulante hasta este punto no califica para continuar el Proceso, se da por finalizado este. Firmando el postulante en señal de aceptación

Postulante:
Firma:
Entrevistador:
Firma y Sello:
Huella Digital 

Validado por (Firma y Sello) Flebotomía: Hora de inicio:
Brazo derecho: Brazo izquierdo: Ambos: Pun. difícil:
Hora de finalización:
Bolsa: Nro. tubuladura: Peso unidad:
Tolerancia :
Técnico actuante: Firma: Fecha:

VI. OBSERVACIONES MÉDICAS

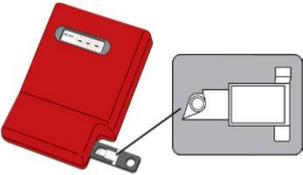
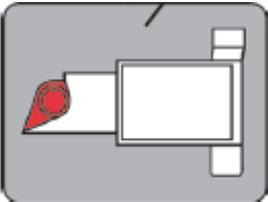
.....
.....
.....

VII. PROCEDIMIENTO DE AUTOEXCLUSIÓN

Estimado/a donante: Usted ya cumplió con su generosa y desinteresada misión a través de esta entrevista, que también es informativa, si ha identificado motivos que puedan convertir su donación en un peligro para el paciente, puede invalidar su donación en cualquier momento, llamándonos al 3777000 anexo 6036. Muchas gracias.

¿Cree que podemos utilizar su sangre sin ningún riesgo? Sí No

Anexo 4

SISTEMA HemoCue® Plasma/Low Hb.	
Aplicaciones	<p>El sistema HemoCue Plasma/Low Hb se utiliza para la determinación cuantitativa de bajas concentraciones de hemoglobina en muestras de plasma y suero, soluciones acuosas, sobrenadante de las suspensiones de hematíes utilizando un fotómetro el HemoCue Plasma/Low Hb, y unas microcubetas especialmente diseñadas destinadas únicamente para el diagnóstico in vitro.</p>
Fundamento del método 	<p>La reacción en la microcubeta es una modificación de la reacción del azida metahemoglobina. En esta cavidad, la membrana de los hematíes es desintegrada por el desoxicolato de sodio, liberando a la hemoglobina. El nitrito de sodio convierte el hierro de la hemoglobina del estado ferroso al estado férrico para formar metahemoglobina, la cual se combina con el azida de sodio para formar el azida metahemoglobina. Luego la microcubeta es leída en un hemoglobinómetro a una absorbancia de 570 nm y 880nm.</p>
Fundamento del Procedimiento 	<p>El sistema consta de un fotómetro y de microcubetas. La microcubeta sirve como pipeta y como cubeta de medición y es de un solo uso. La cavidad se llena con la muestra de sangre, de aproximadamente 20 µL, por acción capilar. El fotómetro mide a dos longitudes de onda para compensar posibles efectos de turbiedad, calcula y muestra el nivel de hemoglobina, la absorción a 570 nm se utiliza para la determinación de la concentración de hemoglobina y la absorción de 880nm es útil para compensar cierto grado de turbidez.</p> <p>La microcubeta está fabricada con plástico de poliestireno.</p> <p>Reactivos de la microcubeta:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Desoxicolato de sodio <3000 µg/g. • Azida sódica <1500 µg/g. • Nitrito de sodio <1650 µg/g. <p>Ingredientes no reactivos <700 µg/g.</p>

Almacenamiento y manipulación	<p>La temperatura de funcionamiento del sistema es entre 15 y 30 °C. El sistema no debe funcionar cuando la humedad sin condensación es < 5 % o > 90 %.</p> <p>Las microcubetas deben conservarse a una temperatura de entre 15 y 30 °C. No las refrigere. Utilice las microcubetas antes de la fecha de caducidad impresa en cada envase. Una vez se haya roto el sello del vial, las microcubetas son estables durante tres meses. El fotómetro se puede almacenar y transportar a temperaturas entre 0 y 50 °C. La humedad sin condensación es < 5 % o > 90 %.</p>
Obtención y preparación de muestras	<p>Pueden utilizarse muestras de plasma/suero y soluciones acuosas que contengan hemoglobina, como el irrigador de intervenciones quirúrgicas. Mezcle bien la muestra antes de usarla. Puede utilizarse el sobrenadante de las suspensiones de hematíes. Separar con cuidado el sobrenadante de las suspensiones de hematíes.</p>
Control de calidad	<p>El día de la utilización se recomienda realizar dos niveles de control o seguir las directrices locales referentes a los procedimientos de control de calidad. Utilice solo los controles recomendados por HemoCue, consulte el prospecto pertinente para más información.</p>
Intervalo de medición	<p>El sistema es lineal entre 0,3 y 30,0 g/L (0,03-3,00 g/dL, 30-3.000 mg/dL, 0,02-1,90 mmol/L). Debe tenerse precaución al evaluar las lecturas de los instrumentos entre 0 y 0,3 g/L (0-0,03 g/dL, 0-30 mg/dL, 0-0,02 mmol/L).</p>
Resultados	<p>El valor de hemoglobina medido se lee directamente en el fotómetro HemoCue Plasma/Low Hb. No es necesario hacer cálculos.</p>

Fuente: Manual HemoCue Plasma/Low Hb

Anexo 5

DETERMINACION DEL PORCENTAJE DE HEMÓLISIS	
<p>Para obtener el porcentaje de hemólisis necesitamos de tres valores. Estos son:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hematocrito total (%) • Hemoglobina total (g/ dL) • Hemoglobina libre (g/ dL) 	
Obtención de muestra	<p>La unidad de sangre total obtenida a partir de un donante apto, es centrifugada y fraccionada en sus diferentes hemocomponentes, el concentrado de hematíes obtenido es leucorreducido y almacenado en una conservadora a 4°C (+/- 2°) por 35 días.</p>
Materiales	<ul style="list-style-type: none"> • Fotómetro HemoCue Plasma/Low Hb. • Microcubetas HemoCue Plasma/Low Hb. • Hemoglobinómetro modelo HemoCue 301. • Centrifuga para hematocritos modelo HAEMATOKRIT 200. • Reactivo control Eurotrol Plasma /Low Hb. • Centrifuga para tubos. • Tijera estéril.
Manejo del equipo Plasma /Low Hb para medición de la hemoglobina libre	
<ol style="list-style-type: none"> 1. Conectar el adaptador a un punto de corriente. 2. Coloque el interruptor en posición “ON”. 3. En la pantalla aparecerá todos los símbolos, y tras unos 10 segundos se mostrarán las letras “LHB”. 4. Extraiga el soporte de la cubeta hasta la posición de carga y tras unos 15 segundos, aparecerá en la pantalla la indicación “READY” junto con tres líneas intermitentes. El fotómetro está listo para la medición. 5. Llene la microcubeta en un único proceso continuo, limpie la muestra sobrante del exterior de la microcubeta con un paño absorbente. 6. Coloque la microcubeta en el soporte de la cubeta y empiece la medición. 7. Durante la medición aparecerá “MEASURING” y 3 líneas fijas. Tras aproximadamente 15-60 segundos, se mostrará el valor de la hemoglobina en g/dL, anote sus resultados. 	
CONTROL DE CALIDAD	
<p>Eurotrol Plasma/Low Hb Control es un control de hematología validado para el uso profesional en la verificación de la precisión y exactitud del sistema HemoCue Plasma/Low Hb, el cual proporciona tres niveles fisiológicamente relevantes con una concentración de hemoglobina conocida, destinado para la verificación periódica de la precisión y exactitud del sistema HemoCue Plasma/Low Hb.</p>	

Procedimiento

1. Dejar el vial 15 minutos a temperatura ambiente 15–30 °C (59–86 °C).
2. Agitar el vial del 8 a 10 veces con suavidad.
3. No llenar la cubeta directamente del vial. Poner una gota del material de control en una superficie hidrofóbica, por ejemplo, una pieza de plástico. Llenar la cubeta siguiendo las instrucciones del fabricante. Colocar la cubeta en el analizador en 1 minuto después del llenado.
4. Limpiar el material sobrante del vial y del tapón con un tejido limpio. Cerrar con el tapón bien apretado.

Valor referencial

- Plasma/Low Hb Control Level 1 : 0.05 – 0.11 g / dL
- Plasma/Low Hb Control Level 2 : 0.46 – 0.56 g / dL
- Plasma/Low Hb Control Level 3 : 1.8 – 2.2 g / dL

PROCEDIMIENTO PARA OBTENER EL PORCENTAJE DE HEMÓLISIS

1. Antes del procedimiento se recomienda realizar el control de calidad al sistema HemoCue Plasma/Low Hb para la obtención de la Hemoglobina libre.
2. Seleccionar la unidad de concentrado de hematíes a procesar y homogenizar la tubuladura de la unidad sanguínea tres veces dando movimientos giratorios de la bolsa sanguínea a manera de unificar la homogenización.
3. Obtener y sellar tres fragmentos de la tubuladura. La primera de aproximadamente 2 cm se desechará y las otras dos siguientes de aproximadamente 6 cm de largo serán utilizadas para la medición.
4. Almacenar el hemocomponente a 4°C (+/- 2°)
5. El primer fragmento de 6 cm se empleará para medir el hematocrito con la ayuda de un capilar y se centrifugará a 10 000 RPM por 5 minutos, de la misma muestra se cargará a una microcubeta y se medirá la hemoglobina total en el hemoglobinómetro HemoCue 301.
6. El segundo fragmento de 6 cm cercano a la bolsa se centrifuga a 2000 RPM por 10 minutos (2000 RPM entre 5 a 20 minutos).
7. Después de centrifugar retirar el fragmento con cuidado y cortar en un extremo, realizar una ligera presión y cargar la muestra por capilaridad con la microcubeta Plasma/ Low Hb y colocar en el equipo HemoCue Plasma/ Low Hb para la medición de la hemoglobina libre.
8. Una vez obtenido estos 3 valores llevarlo a la formula y obtener el porcentaje de hemólisis.

FÓRMULA PARA EL CÁLCULO DEL PORCENTAJE DE HEMÓLISIS

$$\% \text{ Hemólisis} = \frac{(100 - \text{Hematocrito}) \times \text{Hemoglobina libre}}{\text{Hemoglobina Total}}$$

Fuente: Sowemimo-Coker SO.

VALOR REFERENCIAL

- **SEGÚN EL CONSEJO EUROPEO (EDQM): < 0.8 %**
- **SEGÚN LA FDA (EE. UU): <1.0%**

La Dirección Europea de Calidad de Medicamentos y Atención Sanitaria del Consejo de Europa (EDQ) establece como requerimiento según el estándar de calidad, que los concentrados de hematíes deben tener un porcentaje de hemólisis <0.8% en la muestra control, mientras que para la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de los Estados Unidos (EE UU) es <1.0%

CONSIDERACIONES:

Los resultados de hematocrito total y hemoglobina total pueden ser medidos mediante un equipo automatizado en el área de laboratorio (opcional).

Fuente: Elaborado por los investigadores/Manual HemoCue Plasma/Low Hb

Anexo 6

Validez del instrumento: Certificado de calibración



Laboratorio de Calibración

SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
NTP ISO / IEC 17025:2017

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN

TC - 10817 - 2019

PROFORMA : 3715A Fecha de emisión : 2019-11-15 Página : 1 de 2

SOLICITANTE : MEDIC SER S.A.C
Dirección : Avenida Angamos Oeste Cuadra 4 - Lima - Miraflores

INSTRUMENTO DE MEDICIÓN : CENTRÍFUGA
Marca : HETTICH
Modelo : HAEMATOKRIT 200
N° de serie : 0002998-03
Valor nominal : 13000 rpm
Resolución : 1 rpm
Identificación : IC-CD462
Procedencia : No Indica
Ubicación : BANCO DE SANGRE - LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGIA
Fecha de Calibración : 2019-11-15

LUGAR DE CALIBRACIÓN
Instalaciones de MEDIC SER S.A.C

PROCEDIMIENTO DE CALIBRACIÓN
La calibración se efectuó por comparación directa, con un patrón de revolución calibrado por el DM-INACAL.

CONDICIONES AMBIENTALES

MAGNITUD	INICIAL	FINAL
TEMPERATURA (°C)	20,9	20,8
HUMEDAD RELATIVA (%HR)	57,6	49,9

TEST & CONTROL S.A.C. no se responsabiliza de los perjuicios que puedan ocurrir después de la calibración debido a la mala manipulación de este instrumento, ni de una incorrecta interpretación de los resultados de calibración declarados en el presente documento.

El presente documento carece de valor sin firma y sello.

TEST & CONTROL S.A.C. es un Laboratorio de Calibración y Certificación de equipos de medición basado a la Norma Técnica Peruana ISO/IEC 17025.

TEST & CONTROL S.A.C. brinda los servicios de calibración de instrumentos de medición con los más altos estándares de calidad, garantizando la satisfacción de nuestros clientes.

Este certificado de calibración documenta la trazabilidad a los patrones nacionales o internacionales, de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI).

Con el fin de asegurar la calidad de sus mediciones se le recomienda al usuario recalibrar sus instrumentos a intervalos apropiados de acuerdo al uso.

Los resultados en el presente documento no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.

Lic. Nicolás Ramos Paucar
Gerente Técnico.
CFP: 0316



Laboratorio de Calibración

SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
NTP ISO / IEC 17025:2017

CERTIFICADO N° : TC - 10817 - 2019

Página : 2 de 2

PATRÓN DE REFERENCIA

Trazabilidad	Patrón utilizado	Certificado de calibración
Generador de Formas de Onda DM - INACAL	Tacómetro Exactitud 0,01% Lectura	LTF-C-085-2019

RESULTADOS DE CALIBRACIÓN

Indicación del Instrumento (*) (rpm)	Valor Patrón (rpm)	Error (rpm)	Incertidumbre (rpm)
10000	10010,8	-10,8	0,6

(*) Promedio de 10 repeticiones.

Indicación del patrón = Indicación del instrumento - error

OBSERVACIONES

Con fines de identificación se colocó una etiqueta autoadhesiva con el número de certificado.

INCERTIDUMBRE

La incertidumbre de medición reportada se denomina Incertidumbre Expandida de medida (U) se ha obtenido multiplicación la incertidumbre Estándar Combinada (u) por el Factor de Cobertura (k = 2) que, para una distribución normal, corresponde a una probabilidad de cobertura de aproximadamente el 95%.

FIN DEL DOCUMENTO

Jr. Condesa de Lemos N° 117 - San Miguel - Lima / Teléfono: 262-9536 / E-mail: informes@testcontrol.com.pe

6A. Certificado de calibración centrífuga Hettich

Fuente: Elaborado por Laboratorio de calibración Test y Control

Control de calidad Sistema HemoCue



QC HEMOCUE HB 301- 2019

FECHA: Del 01/11/19 al 30/12/19

LOTE DE REACTIVO LEVEL I	83377	LOTE DE REACTIVO LEVEL II	83378	LOTE DE REACTIVO LEVEL III	83379
LEVEL I	6.40-8.00 g/dL	LEVEL II	11.9-14.3 g/dL	LEVEL III	15.6-18.6 g/dL

FECHA	LEVEL I	ACEPTABLE	LEVEL II	ACEPTABLE	LEVEL III	ACEPTABLE	OBSERVACIONES
		SI/NO		SI/NO		SI/NO	
01/11/2019	7.4	SI	13.3	SI	17.5	SI	-----
04/11/2019	7.6	SI	13.3	SI	17.2	SI	-----
06/11/2019	7.4	SI	13.4	SI	17.1	SI	-----
11/11/2019	7.3	SI	13.5	SI	16.9	SI	-----
15/11/2019	7.3	SI	13.3	SI	17.1	SI	-----
18/11/2019	7.3	SI	13.3	SI	17.4	SI	-----
20/11/2019	7.3	SI	13.4	SI	17.2	SI	-----
04/12/2019	7.3	SI	13.3	SI	17.1	SI	-----
06/12/2019	7.4	SI	13.3	SI	17.2	SI	-----
12/12/2019	7.4	SI	13.2	SI	17.4	SI	-----
13/12/2019	7.1	SI	13.2	SI	18.2	SI	-----
18/12/2019	7.3	SI	13.1	SI	17.0	SI	-----
20/12/2019	7.3	SI	13.5	SI	17.1	SI	-----
23/12/2019	7.2	SI	13.1	SI	17.2	SI	-----
25/12/2019	7.3	SI	13.3	SI	17.0	SI	-----
30/12/2019	7.4	SI	13.2	SI	17.2	SI	-----


 Lc. José Luis Salazar Casti
 Tecnólogo Médico en Laboratorio
 y Anatomía Patológica
 C.T.M.P. 11831

T.M: FIRMA Y SELLO


 ALFREDO CORTES
 MEDICO PIRUJANO
 PATÓLOGO CLÍNICO
 CMP: 41753/ DNI: 80571543

MÉDICO: FIRMA Y SELLO

HEMOCUE HB 301- 2020

FECHA: Del 01/01/20 al 15/01/20

LOTE DE REACTIVO LEVEL I	83377	LOTE DE REACTIVO LEVEL II	83378	LOTE DE REACTIVO LEVEL III	83379
LEVEL I	6.40-8.00 g/dL	LEVEL II	11.9-14.3 g/dL	LEVEL III	15.6-18.6 g/dL

FECHA	LEVEL I	ACEPTABLE	LEVEL II	ACEPTABLE	LEVEL III	ACEPTABLE	OBSERVACIONES
		SI/NO		SI/NO		SI/NO	
01/01/2020	7.3	SI	13.2	SI	17.0	SI	-----
03/01/2020	7.5	SI	13.1	SI	17.5	SI	-----
06/01/2020	7.3	SI	13.3	SI	17.3	SI	-----
08/01/2020	7.5	SI	13.8	SI	17.4	SI	-----
10/01/2020	7.2	SI	13.3	SI	17.0	SI	-----
13/01/2020	7.3	SI	13.2	SI	17.2	SI	-----
15/01/2020	7.2	SI	13.3	SI	17.3	SI	-----


 Lic. Luis Salazar Castañeda
 Tecnólogo Médico en Laboratorio
 y Anatomía Patológica
 C.T.M.P. 11631

T.M: FIRMA Y SELLO


 ALFREDO OYTE CORTEZ
 MEDICO CIRUJANO
 PATÓLOGO CLÍNICO
 GMP: 44753 D.M: 80571543

MÉDICO: FIRMA Y SELLO

6B. Control de calidad HemoCue 301

Fuente: Banco de Sangre de la Clínica Delgado

QC HEMOCUE PLASMA LOW

LOTE DE REACTIVO LEVEL I	90780	LOTE DE REACTIVO LEVEL II	84881	LOTE DE REACTIVO LEVEL III	84982
LEVEL I	0.05-0.11 g/dL	LEVEL II	0.46-0.56 g/dL	LEVEL III	1.8 - 2.2 g/dL

FECHA	LEVEL I	ACEPTABLE	LEVEL II	ACEPTABLE	LEVEL III	ACEPTABLE	OBSERVACIONES
		SI/NO		SI/NO		SI/NO	
12/11/2019	0.08	SI	0.51	SI	1.99	SI	-----
13/11/2019	0.08	SI	0.51	SI	2.00	SI	-----
14/11/2019	0.06	SI	0.50	SI	2.00	SI	-----
15/11/2019	0.06	SI	0.50	SI	1.98	SI	-----
20/11/2019	0.06	SI	0.48	SI	1.98	SI	-----
22/11/2019	0.06	SI	0.48	SI	1.98	SI	-----
25/11/2019	0.08	SI	0.48	SI	1.98	SI	-----
27/11/2019	0.08	SI	0.50	SI	1.99	SI	-----
29/11/2019	0.08	SI	0.50	SI	1.99	SI	-----
04/12/2019	0.09	SI	0.52	SI	1.98	SI	-----
06/12/2019	0.06	SI	0.51	SI	1.99	SI	-----
09/12/2019	0.06	SI	0.51	SI	1.99	SI	-----
11/12/2019	0.06	SI	0.50	SI	1.99	SI	-----
13/12/2019	0.09	SI	0.50	SI	1.98	SI	-----
16/12/2019	0.08	SI	0.50	SI	1.99	SI	-----
18/12/2019	0.08	SI	0.50	SI	1.90	SI	-----
20/12/2019	0.07	SI	0.52	SI	1.98	SI	-----
23/12/2019	0.08	SI	0.51	SI	1.99	SI	-----
25/12/2019	0.08	SI	0.50	SI	2.00	SI	-----
27/12/2019	0.08	SI	0.50	SI	2.00	SI	-----
29/12/2019	0.08	SI	0.51	SI	1.99	SI	-----

MARIA ELENA AROCUTIPÁ CCOPA

JESSICA JANE YATACO POMA

ALFREDO CORTÉZ A. CORTÉZ
MÉDICO CIRUJANO
PATOLOGO CLÍNICO
CMP: 41753 DMI: 80571543

MÉDICO: FIRMA Y SELLO

QC HEMOCUE PLASMA LOW

LOTE DE REACTIVO LEVEL I	90780	LOTE DE REACTIVO LEVEL II	84881	LOTE DE REACTIVO LEVEL III	84982
LEVEL I	0.05-0.11 g/dL	LEVEL II	0.46-0.56 g/dL	LEVEL III	1.8 - 2.2 g/dL

FECHA	LEVEL I	ACEPTABLE	LEVEL II	ACEPTABLE	LEVEL III	ACEPTABLE	OBSERVACIONES
		SI/NO		SI/NO		SI/NO	
01/01/2020	0.08	SI	0.51	SI	1.98	SI	-----
03/01/2020	0.08	SI	0.51	SI	1.97	SI	-----
06/01/2020	0.07	SI	0.52	SI	2.00	SI	-----
08/01/2020	0.06	SI	0.52	SI	2.00	SI	-----
10/01/2020	0.06	SI	0.48	SI	1.99	SI	-----
13/01/2020	0.09	SI	0.48	SI	1.98	SI	-----
15/01/2020	0.08	SI	0.48	SI	2.00	SI	-----
17/01/2020	0.08	SI	0.50	SI	1.99	SI	-----
20/01/2020	0.08	SI	0.50	SI	2.00	SI	-----

MARIA ELENA AROCUTIPA CCOPA

JESSICA JANE YATACO POMA

ALFREDO BOYTE PÁCORTEZ
MÉDICO CIRUJANO
PATÓLOGO CLÍNICO
CMP: 41753 DNI: 80571543
MÉDICO: FIRMA Y SELLO

6C. Control de calidad HemoCue Plasma Low

Fuente: Elaborado por los investigadores

Anexo 7

Confiabilidad del instrumento:

Características de rendimiento específico del HemoCue Hb 301

Nivel de control	N	x g/dL	Precisión intraensayo		Precisión total	
			SD g/dL	CV %	SD g/dL	CV %
1	400	7,3	0,059	0,82	0,066	0,91
2	400	13,2	0,106	0,80	0,122	0,92
3	400	17,2	0,135	0,78	0,152	0,88

7A. Precisión intra-ensayo y precisión total

Estudio	N	Min. g/dL	Máx. g/dL	Línea de regresión	Coefficiente de correlación (r)
1	700	1,6	23,0	$Y = 0,984x + 0,113$	0,998

7B. Exactitud

Características de rendimiento específico del HemoCue Plasma/Low Hb

Hemoglobina en 0,9 % de NaCl.

Solución	Media (g/L)	SD (g/L)	CV %	Número
Inferior	1,59	0,06	3,6	20
Media	16,30	0,14	0,8	20
Superior	25,30	0,16	0,6	20

Hemoglobina en plasma heparinizado.

Solución	Media (g/L)	SD (g/L)	CV %	Número
Inferior	1,95	0,08	4,2	20
Media	15,30	0,11	0,7	20
Superior	25,50	0,22	0,9	20

7C. Precisión intra-ensayo.

Hemoglobina en 0,9 % de NaCl.

Solución	Media (g/L)	SD (g/L)	CV %	Número
Inferior	1,43	0,06	4,3	20
Media	14,80	0,17	1,2	20
Superior	24,80	0,25	1,0	20

Hemoglobina en plasma heparinizado.

Solución	Media (g/L)	SD (g/L)	CV %	Número
Inferior	1,78	0,09	5,0	20
Media	14,80	0,21	1,4	20
Superior	24,50	0,25	1,0	20

7D. Precisión inter-ensayo.

Grupo	N	Referencia				HemoCue			
		Media (g/L)	Mín. (g/L)	Máx. (g/L)	SD (g/L)	Media (g/L)	Mín. (g/L)	Máx. (g/L)	SD (g/L)
1	42	4,04	0,94	15,18	0,047	4,05	0,84	15,64	0,059
2	20	1,47	0,65	2,49	0,066	1,66	0,70	2,75	0,130
3	64	2,54	0,40	6,45	0,122	2,65	0,40	6,70	0,084

La línea de regresión y el coeficiente de correlación

Grupo	N	Línea de regresión	Coefficiente de correlación	Intervalo	Fotómetros
1	42	$1,039 \times \text{ICSH} - 0,150$	0,9997	0,94-15,18	5
2	20	$1,149 \times \text{ICSH} - 0,024$	0,9913	0,65-2,49	1
3	64	$1,015 \times \text{ICSH} - 0,078$	0,9981	0,40-6,45	1

7E. Estudio de correlación.

Fuente: Manual HemoCue 301 Hb y Plasma/Low Hb

Anexo 8

Carta de aprobación del proyecto de tesis



**Universidad
Norbert Wiener**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

Lima, 21 de Octubre 2019

Oficio 033-EAPTM-2019

Señoritas :
**AROCUTIPA CCOPA, MARIA ELENA y
YATACO POMA, JESSICA JANE**
Presente.-

De mi mayor consideración:

Me dirijo a Ustedes para saludarlas y al mismo tiempo comunicarles que su proyecto de tesis titulado: " PORCENTAJE DE HEMÓLISIS EN CONCENTRADOS DE HEMATÍES DURANTE SU ALMACENAMIENTO EN EL BANCO DE SANGRE DE LA CLÍNICA DELGADO PERIODO AGOSTO - SEPTIEMBRE 2019", ha sido aceptada para ser registrada como tal en la EAP de Tecnología Médica debido a que según el informe del revisor, reúne los requisitos académicos solicitados por la Universidad Norbert Wiener.

Una vez finalizado el informe final de su tesis, el asesor informará a este despacho, la culminación y conformidad del trabajo realizado.

Sin otro particular quedo de Usted.

Atentamente,




Dr. Juan Carlos Benites Azabache
Director
EAP de Tecnología Médica

Anexo 9

Autorización institucional del proyecto de investigación



Lima, 22 de Setiembre del 2020

Señor(a)
Maria Elena Arocutipa Ccopa
Bachiller en Tecnología médica

Presente

Estimada

Es grato expresarle mi cordial saludo y a su vez informarle que luego de la revisión y conformidad por parte de la Dirección Científica y Académica y a solicitud de la Dirección Médica cumpla con brindar la autorización Institucional del proyecto de investigación titulado "Porcentaje de hemólisis en concentrados de hematíes durante su almacenamiento en el Banco de Sangre de la Clínica Delgado periodo Agosto-Setiembre 2019", el cual estará bajo su responsabilidad como Investigadora Principal por el periodo que dure su desarrollo y contará con el número de registro EPI-CD-20-011.

Se aclara que debe entregar el informe final correspondiente del proyecto así como manejar el archivo de la documentación obtenida en el Centro de Investigación.

Sin otro particular quedo de usted.

Atentamente,

Medic Ser S.A.C.
Auna Clínica Delgado
JESUS GONZALEZ VARGAS
Dir. Medico
C.M.P. 94425 - R.N.E. 14905

Medic Ser S.A.C.
Auna Clínica Delgado


Jaime Planas
Gerente General

Anexo 10
Informe del asesor de turnitin

PORCENTAJE DE HEMÓLISIS EN CONCENTRADOS DE
HEMATÍES DURANTE SU ALMACENAMIENTO EN EL BANCO DE
SANGRE DE LA CLÍNICA DELGADO, PERIODO AGOSTO -
SEPTIEMBRE 2019

INFORME DE ORIGINALIDAD

2% INDICE DE SIMILITUD	3% FUENTES DE INTERNET	0% PUBLICACIONES	2% TRABAJOS DEL ESTUDIANTE
----------------------------------	----------------------------------	----------------------------	---

FUENTES PRIMARIAS

1	www.revhematologia.sld.cu Fuente de Internet	2%
2	Submitted to Universidad Wiener Trabajo del estudiante	1%

Excluir citas Activo Excluir coincidencias < 1%
Excluir bibliografía Activo

Anexo 11

Imágenes de Tesis



Figura 1. Clínica Delgado, lugar y servicio donde se realizó el estudio de investigación.



Figura 2. Banco de sangre de la Clínica Delgado, área de colecta, fraccionamiento y almacenamiento de los concentrados de hematíes.

Determinación del porcentaje de hemólisis de los concentrados de hematíes



Figura 3. Medición de hemoglobina libre mediante fotometría utilizando el Sistema HemoCue plasma/ Low Hb.



Figura 4. Medición del hematocrito mediante una centrifuga para microhematocritos.

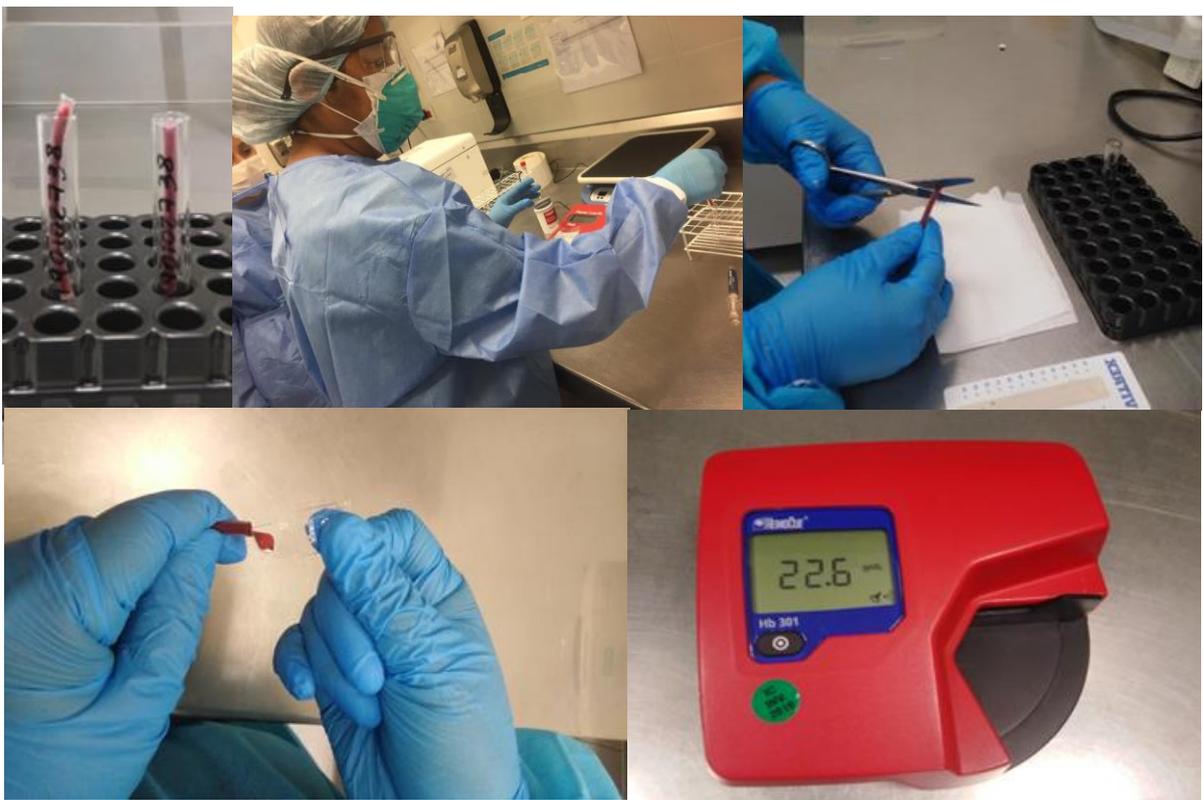


Figura 5. Medición de hemoglobina total mediante el hemoglobinómetro HemoCue HB 301 .