

Estudio prospectivo del riesgo de contaminación en la preparación de plasma rico en factores de crecimiento

R. Arriaza, R. Burgos, M.^a Monge, G. Couceiro

Hospital USP-Santa Teresa. A Coruña

Correspondencia:

Rafael Arriaza
Hospital USP-Santa Teresa
c/ Londres, 2. 15008 La Coruña
Correo electrónico: rafael@arriaza.es

Introducción: El plasma rico en factores de crecimiento (PRFC) o plasma rico en plaquetas se utiliza con mucha frecuencia en el campo de la traumatología deportiva y la cirugía ortopédica, pero se sabe poco sobre las posibles complicaciones derivadas de su uso.

Hipótesis: A lo largo de los diferentes pasos requeridos para preparar el PRFC, se puede producir la contaminación bacteriana del preparado final.

Material y métodos: De un total de 254 pacientes consecutivos en los que se utilizó PRFC en la cirugía, se tomaron al azar 140 muestras del gel final para cultivo en busca de gérmenes aerobios y anaerobios. La elección de las muestras a cultivar la realizó el cirujano, que no estaba presente durante el proceso de preparación del PRFC, ya que se realiza en otra ubicación. El procedimiento de obtención del PRFC (centrifugado de sangre autóloga, pipeteado selectivo y activación con cloruro cálcico) es muy utilizado en nuestro país, pero requiere la manipulación de la muestra por parte de una enfermera circulante.

Resultado: En los 140 cultivos, sólo se encontró un caso de crecimiento bacteriano (0,71%), mostrando un 'Streptococcus viridans', pero ni en este caso ni en ningún otro de esta serie aparecieron signos clínicos de infección a lo largo del seguimiento de los pacientes.

Conclusiones: Es muy importante que tanto los cirujanos como el personal involucrado en el proceso de preparación del PRFC, tomen conciencia de que existe una posibilidad real de contaminación de las muestras, para mantener una estricta asepsia y reducir el riesgo para los pacientes.

Palabras clave: Plasma rico en factores de crecimiento. Plasma rico en plaquetas. Contaminación bacteriana. Complicaciones. Cirugía.

Prospective analysis of the contamination risk during the preparation procedure of growth factors rich plasma.

Background: Platelet-rich plasma or growth factors-rich plasma (GFRP) is being used increasingly in the sports medicine and orthopaedics fields, but little is known about the possible complications derived from its use.

Hypothesis: the different steps required for the preparation of the GFRP may cause bacterial contamination of the final gel.

Methods: Out of 254 consecutive patients undergoing surgery with GFRP gel, a total of 140 GFRP samples were randomly selected to be cultured in search for aerobic and anaerobic germs. The decision to perform the culture was taken by the leading surgeon, who was never present during the preparation procedure, as it was done in a separate room. GFRP gel was obtained following a procedure (autologous blood centrifugation, selective pipetting and activation with calcium chloride) that is widely used, but requires sample manipulation by the circulating nurse.

Results: Out of the 140 cultures, there was one case of bacterial growing (0.71%), showing a positive culture for a Streptococcus viridans, but neither in this case nor in any of the total series there were clinical signs of infection along the follow-up.

Conclusions: It is important that both the surgeons and all the staff involved in the use and processing of the GFRP gel are aware of the possibility of bacterial contamination, to maintain a strict sterile procedure and reduce the risk for the patients.

Key words. Growth factors-rich plasma. Platelet-rich plasma. Bacterial contamination. Complications. Surgery.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años hemos vivido una explosión en la utilización de plasma rico en factores de crecimiento (PRFC) o plasma rico en plaquetas (PRP) como terapia adyuvante en el tratamiento de múltiples patologías. La aparición de las publicaciones iniciales, en las que fundamentalmente se hacía referencia a la metodología a emplear, ha dado paso a una serie de trabajos en los que se demuestra –en mayor o menor medida– su utilidad en la práctica clínica, tanto en el campo de la cirugía ortopédica como en la cirugía maxilofacial, vascular o plástica⁽¹⁻⁶⁾.

Se conocen bien la biología molecular, los cambios que existen en los tejidos expuestos a este tipo de terapia, o las diferentes rutas de diferenciación celular^(1,7), pero todavía no sabemos todavía cual sería el mejor método para la obtención del PRFC, aunque existen distintos métodos (unos más sofisticados y otros más simples) al alcance de los cirujanos. Existen algunos estudios en los cuales se hace alusión al tema de las concentraciones de los diferentes factores activadores, y de la posible contaminación con células de la serie roja⁽⁸⁾, pero se encuentra poco en la literatura sobre la seguridad del método de proceso de esta terapia, en cuanto a la contaminación bacteriana. Sin embargo, a lo largo de los años, la transmisión de infecciones a través de los concentrados de plaquetas empleados en transfusiones ha sido ampliamente estudiada. Por ejemplo, durante el periodo de 1998 a 2000, en Estados Unidos se notificaron seis casos de muerte relacionadas con septicemias por transfusión de concentrados de plaquetas⁽⁹⁾.

En este artículo queremos presentar nuestra experiencia en el proceso de obtención de plasma rico en factores de crecimiento, para el tratamiento de patologías en el campo de la cirugía ortopédica (aunque es el mismo método que se emplea habitualmente en cirugía oral, cirugía vascular y cirugía plástica en nuestro hospital), mostrando la seguridad del mismo en cuanto al riesgo de contaminación bacteriana.

MATERIAL Y MÉTODOS

Durante el período comprendido entre el 27/9/2002 y el 21/4/2005, se tomaron muestras al azar, para cultivo, de los preparados de

plasma rico en factores de crecimiento utilizados en intervenciones quirúrgicas del Servicio de Cirugía Ortopédica de nuestro hospital. La obtención del PRFC se llevó a cabo siguiendo la técnica preconizada por Anitua⁽¹⁰⁾, y en el momento de la implantación en el paciente, se reservó una cantidad del gel para su cultivo en laboratorio.

En todos los casos se utilizó el mismo protocolo para la obtención del PRFC, basado en el publicado por Anitua⁽¹⁰⁾ y aprobado para su uso en diferentes centros⁽²⁾. Dicho protocolo se realiza en ámbito quirúrgico. En primer lugar, se extrae cierta cantidad de sangre de una vena periférica del paciente, que depende de la cantidad de plasma rico en FC que se juzga *a priori* necesario para la intervención a realizar. Normalmente, oscila entre 20 y 40 cm³. Se coloca en tubos de ensayo con 0,5 mL de citrato sódico al 3,8% como anticoagulante y se somete a centrifugado a 1.800 rpm durante 8 minutos mediante centrifuga digital PRGF System II-BTI®, Biotechnology Institute. Con esto conseguimos separar el plasma de los elementos formes de la sangre, que se depositan en la mitad inferior del tubo. De este tubo y de arriba abajo, podemos distinguir las siguientes fases (**Figura 1**):

- *Fase superficial del plasma*: rica en fibrina y proteínas plasmáticas, pero con una cantidad de plaquetas semejante a las de la sangre normal.
- *Fase intermedia del plasma*: con un contenido en plaquetas más rico que la sangre normal.



Figura 1. Aspecto de los tubos tras la centrifugación, inmediatamente antes de comenzar el pipeteado para obtener la fracción plasmática rica en plaquetas.

- *Fase baja del plasma*: es la más rica en plaquetas y la que más interesa obtener para lograr, a su vez, los FC que éstas contienen.
- *Fase blanca*: lineal, justo bajo el sobrenadante plasmático, y que contiene las células blancas sanguíneas.
- *Fase roja*: conforma la mitad inferior del tubo de ensayo, contiene las células rojas sanguíneas.

A continuación, se realiza la extracción de la fase plasmática más rica en plaquetas, mediante pipeteo selectivo. Una vez separada la fase rica en plaquetas del resto de plasma, se procede a realizar la activación de las plaquetas mediante la adición de cloruro cálcico al 10% en proporción de 50 µL de cloruro cálcico por 1 cm³ de plasma rico en plaquetas. Con esto se logra activar la adhesión plaquetaria, y que las plaquetas formen un coágulo, de tal forma que el plasma líquido que las contenía se gelifica, y es más fácil su manejo y colocación sobre las superficies a tratar. Por otra parte, con su activación, las plaquetas liberan los FC contenidos en sus gránulos. Este proceso de activación de las plaquetas y gelificación del plasma tarda unos minutos en completarse, y se realiza ya en la mesa quirúrgica.

Durante el período del estudio se utilizó PRFC en 254 intervenciones y se realizaron al azar 140 cultivos. La toma de muestra para el cultivo se realizaba en la mesa quirúrgica, justo antes de aplicar el plasma al tejido a tratar. La decisión sobre la realización del cultivo dependía del cirujano, que no había sido testigo del proceso de preparación del PRFC, para evitar la implicación del personal relacionado directamente con la manipulación del plasma del paciente.

RESULTADOS

De los 140 cultivos realizados al azar, sólo en un caso se obtuvo crecimiento bacteriano, con un resultado positivo por un estreptococo del grupo *viridans*. Este cultivo correspondía a la de un paciente al que se le aplicó el plasma como tratamiento coadyuvante en una artrodesis de tobillo y que tenía una úlcera isquémica en el miembro contralateral, sin que existiese clínica que pudiera sugerir una septicemia. Sin embargo, no se produjo –en éste, ni en ningún otro caso– una clínica sugerente de infección con sintomatología manifiesta.

DISCUSIÓN

La posibilidad de una contaminación del PRFC que pudiese provocar la transmisión de una infección al paciente ha sido una fuente de preocupación desde el comienzo de la utilización de esta técnica⁽¹¹⁾, aunque no hemos encontrado ninguna referencia en la bibliografía a estudios que analicen su seguridad en este aspecto. Por esta razón, iniciamos el estudio prospectivo y aleatorizado de las muestras que íbamos a emplear en los pacientes a los que se iban a implantar PRFC.

Aunque existen diversos métodos para obtener el PRFC, uno de los más difundidos en los países del entorno mediterráneo e Hispanoamérica es el publicado por Anitua⁽¹⁰⁾ en el campo de la cirugía orofacial, y difundido por Sánchez⁽¹²⁾ en el campo de la cirugía ortopédica. A su sencillez y bajo coste comparativo, se le opone el hecho de requerir una manipulación en un medio no estéril, por el proceso de centrifugación sin un sistema específico que utilice un sistema de circuito cerrado desde el momento en que se extrae la sangre completa al paciente hasta la activación del PRFC (**Figura 2**), y el hecho de que parece lograr un número de plaquetas y una concentración de diversos factores de crecimiento significativamente menores que otros sistemas disponibles comercialmente⁽¹³⁾.



Figura 2. Tras el pipeteado, la fracción plasmática rica en plaquetas es vertida en el contenedor de la mesa quirúrgica por la enfermera circulante, para que sea activado por la enfermera de campo. Se requieren varios pasos, con riesgo potencial de contaminación, para obtener el gel de plaquetas final.

Teóricamente, la contaminación del PRFC –al igual que cualquier hemoderivado– que se va a implantar en un paciente puede producirse por varios motivos: por una septicemia que arroje gérmenes al torrente vascular, por una desinfección insuficiente de la piel en el momento de la punción venosa, o por el proceso de manipulación. Más raramente, se han detectado casos de transmisión de infecciones en pacientes transfundidos, por defectos en el proceso de esterilización del material empleado para la extracción o procesamiento y almacenamiento de la sangre o sus derivados⁽¹⁴⁾. Lógicamente, salvo en casos excepcionales, la introducción de los gérmenes en el PRFC podría evitarse con una manipulación meticulosa. Nuestra preocupación inicial era que –tal vez– en alguno de los pasos necesarios para obtener el concentrado de plaquetas final, la manipulación por parte del personal encargado de realizarlo pudiera contaminar inadvertidamente la muestra, con el consiguiente riesgo para los pacientes.

Los sistemas empleados en el campo de la hematología para detectar la posible contaminación de los concentrados de plaquetas son muy variados, desde la microscopía óptica a la detección de RNA bacteriano, pasando por los niveles de glucosa o pH en el concentrado⁽¹⁵⁾, aunque, en general, los que han demostrado una fiabilidad alta requieren un equipamiento sofisticado y un proceso largo para poder llevarlos a cabo, lo que los hace poco útiles en la aplicación intraoperatoria del PRFC. Por ello, nos pareció útil intentar confirmar la seguridad del método que empleamos para la obtención y preparación del PRFC a través del cultivo de una parte del producto final. En principio, la presencia de un cultivo positivo significa que al menos en un caso se produjo una contaminación del gel de plaquetas: podría darse el caso de que la contaminación se produjese en el paso final del proceso, ya en el laboratorio de microbiología, pero también es posible que existiesen otras muestras contaminadas en las que el estudio arrojase falsos negativos. Sin embargo, no se produjo una infección clínica en ninguno de los casos en que se empleó el PRFC a lo largo de esta serie, y tampoco se ha comunicado este tipo de reacciones adversas por parte de los autores con la experiencia más amplia en su uso en nuestro país (M. Sánchez, Comunicación personal, 2006). Es posible que el gel de plaquetas tenga una

función antimicrobiana por sí mismo, que dificulte la implantación de gérmenes y el desarrollo de infecciones: se sabe que las plaquetas liberan las llamadas proteínas microbicidas plaquetarias (PMP), que parecen jugar un papel importante en los mecanismos de defensa y que han demostrado su actividad *in vitro* frente a patógenos comunes, como el *Staphylococcus aureus*, estreptococos del grupo *viridans*, estafilococos coagulasa-negativos y *Candida albicans*⁽¹⁶⁾. Si esta segunda función del PRFC se confirma, tal vez su utilidad para los cirujanos sea aún mayor de la que hasta ahora se está explorando, al permitir reducir la tasa de infecciones quirúrgicas, aunque por ahora no conocemos estudios que analicen específicamente esta posibilidad.

Mientras no se confirme cuál es el método que presenta mayores ventajas y seguridad, cada quien en su centro utiliza el método de procesamiento del plasma más asequible en su entorno, usando como directrices básicas las normas de manejo de fluidos recomendadas por los bancos de tejidos. En vista del riesgo de contaminación al manipular estos productos, en algunos centros y unidades de transfusión se recomienda realizar el proceso bajo campanas al vacío y con flujo de aire, y la presión de las casas comerciales que ofrecen diferentes sistemas de obtención del PRFC se va haciendo también palpable⁽¹¹⁾. Es verdad que con estos métodos se podría obtener casi un 100% de seguridad, pero también se encarece mucho el coste del proceso, sin que todavía hoy sepamos si la relación coste-beneficio es razonable^(11,13,17).

En nuestra serie de casos hemos encontrado una tasa de contaminación del 0,71 %, utilizando el sencillo método de proceso descrito anteriormente, y no requiriendo de infraestructuras o equipos sofisticados. Pero incluso ese pequeño porcentaje de infecciones probablemente pueda reducirse con una manipulación más cuidadosa y la toma de conciencia del personal encargado de ella de la posibilidad de una contaminación accidental, por lo que pensamos que este trabajo tiene la importancia de iniciar el debate en este aspecto.

CONCLUSIÓN

En nuestra experiencia, hemos encontrado que el método de procesamiento del plasma rico

en factores de crecimiento seguido en nuestro hospital es relativamente seguro desde el punto de vista de la contaminación microbiana. A la vez es un método sencillo y que no requiere

de equipo sofisticado para ponerlo en práctica, pero en el que la manipulación cuidadosa de las muestras y recipientes es fundamental para reducir el riesgo de contaminación accidental.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Liberman J, et al. The role of growth factors in the repair of bone : biology and clinical applications. *J Bone Joint Surg* 2002; 84-A: 1032-4.
- 2 Martí-Mestre FX, Acosta-Gómez M, Bonell-Pascual A, et al. Resultados preliminares de la aplicación de factores de crecimiento en el tratamiento de las úlceras vasculares. *Angiología* 2005; 57 (4): 335-43.
- 3 García García V, Corral L, Bascones Martínez A. Plasma rico en plaquetas y su utilización en implantología dental. *Av Periodon Implantol* 2004; 16 (2): 81-92.
- 4 Serra Renom JM, Muñoz del Olmo JL, Gonzalo Caballero C. Uso de factores de crecimiento plaquetar unidos a injertos de grasa para lipofiling facial en ritidectomía. *Cir Plas Iberolatinoam* 2006; 32 (3): 191-8.
- 5 Sánchez M, et al. Comparison of surgically repaired achilles tendon tears using platelet rich fibrin matrices. *Amer J Sports Med* 2007; 35 (2): 245-51.
- 6 Arriaza R, et al. Resultados del tratamiento de retardos de consolidación en huesos largos con ondas de choque extracorpóreas y plasma rico en factores de crecimiento. *Acta Ortop Gallega* 2005; 1 (2): 41-4.
- 7 Oprea W, et al. Effect of platelet release on bone cell migration and recruitment in vitro. *J Craniofac Surg* 2003; 14 (3): 292-300.
- 8 Grageda E. Platelet rich plasma and bone graft materials: a review and standarized research protocol. *Implant Dent* 2004; 13 (4): 301-9.
- 9 Kuehnert MJ, Roth VR, Haley NR, et al. Transfusion-transmitted bacterial infections in the United States, 1998 through 2000. *Transfusion* 2001; 41: 1493-9.
- 10 Anitua E. Un nuevo enfoque en la regeneración ósea. Plasma rico en factores de crecimiento. Puesta al Día Publicaciones, S.L. Vitoria, España; 2000.
- 11 López-Oliva F, Vicario C, Almoquera JR. Plasma rico en plaquetas. Análisis comparativo de cuatro presentaciones comerciales. *Patol Aparato Locomotor* 2003; 1 (1): 59-66.
- 12 Sánchez M, Azofra J, Aizpurúa B. Aplicación del plasma autólogo rico en factores de crecimiento en cirugía artroscópica. *Cuadernos de Artroscopia* 2003; 10 (1): 12-9.
- 13 Weibrich G, Kleis WK, Hitzler WE, Hafner G. Comparison of the platelet concentrate collection system with the plasma-rich-in-growth-factors kit to produce platelet-rich plasma: a technical report. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005; 20 (1): 118-23.
- 14 Heltberg O, Skov F, Gerner Smidt P, et al. Nosocomial epidemic of *Serratia marcescens* septicaemia ascribed to contaminated blood transfusion bags. *Transfusion* 1993; 33: 221-7.
- 15 Tamimount M. Bacterial contamination of platelet concentrates. molecular tools and applications. Tesis doctoral. Ámsterdam: Universidad de Vrije; 2006.
- 16 Yeaman, M. R. The role of platelets in antimicrobial host defense. *Clin Infect Dis* 1997; 25: 951-70.
- 17 Guillén Salazar MI, Mirabet Lis V, Sopena Juncosa J, et al. Rediferenciación de condrocitos en plasma rico en factores de crecimiento plaquetarios para condroplastia articular. *Patol Aparato Locomotor* 2005; 3 (1): 13-23.