



UNIVERSIDAD RICARDO PALMA

FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

ESCUELA DE RESIDENTADO MÉDICO Y ESPECIALIZACIÓN

Prevalencia de hemocultivos contaminados en Pandemia por Covid-19 en el
Hospital Vitarte, 2019- 2021

PROYECTO DE INVESTIGACION

Para optar el Título de Especialista en Patología Clínica

Caceda Vera, Lucy Geidi

(0000-0001-8643-6451)

ASESOR

Checa Chavez, Elena

(0000-0003-4835-6658)

Lima, Perú

2022

Metadatos Complementarios

Datos de autor

Caceda Vea, Lucy Geidi

Tipo de documento de identidad: DNI

Número de documento de identidad: 44465752

Datos de asesor

Checa Chavez, Elena

Tipo de documento de identidad: DNI

Número de documento de identidad: 07728069

Datos del Comité de la Especialidad

PRESIDENTE: Chunga Chunga, Ausberto

DNI: 08491003

Orcid: 0000-0003-1259-3299

SECRETARIO: Cruzado Villanueva, Magda Yuliana

DNI: 00514914

Orcid: 0000-0003-1964-460X

VOCAL: Barbieri Grieve, Rosanna Mirella

DNI: 07210839

Orcid: 0000-0002-8358-6654

Datos de la investigación

Campo del conocimiento OCDE: 3.00.00

Código del Programa: 912829

ÍNDICE

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
1.1 Descripción de la realidad problemática.....	4
1.2 Formulación del problema.....	5
1.3 Objetivos	5
1.4 Justificación.....	6
1.5 Delimitaciones.....	6
1.6 Viabilidad.....	6
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	7
2.1 Antecedentes de la investigación	7
2.2 Bases teóricas.....	9
2.3 Definiciones conceptuales.....	16
2.4 Hipótesis	17
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA.....	18
3.1 Diseño	18
3.2 Población y muestra.....	18
3.3 Operacionalización de variables.....	21
3.4 Técnicas de recolección de datos. Instrumentos.....	23
3.5 Técnicas para el procesamiento de la información	23
3.6 Aspectos éticos	23
CAPÍTULO IV: RECURSOS Y CRONOGRAMA	25
4.1 Recursos	25
4.2 Cronograma	25
4.3 Presupuesto	26
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
ANEXOS	31
1. Matriz de consistencia.....	31
2. Instrumentos de recolección de datos.....	32
3. Solicitud de permiso institucional	34
4. Reporte de Turnitin (Mínimo <25%, Ideal: <10%.....	34

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la realidad problemática

Durante la pandemia por COVID-19, la prestación de servicios de atención médica se vio afectada. A ello, se incluyó la escasez de camas, ventiladores, equipo de protección personal y materiales de diagnóstico (1). Además de la reasignación del personal de atención médica a diferentes servicios y la modificación de las prácticas de control de infecciones hospitalarias. A pesar de los amplios esfuerzos para mantener una atención de alta calidad, se han informado deficiencias, como el uso excesivo de pruebas de diagnóstico microbiológicas y antimicrobianos de amplio espectro (2).

Un estudio en Estados Unidos realizado en pacientes con COVID-19 mostró un aumento significativo en las pruebas de hemocultivo a pesar de las bajas tasas de bacteriemia concomitante en estos pacientes, lo que abruma la capacidad y los recursos del sistema de laboratorio (3). En un estudio elaborado en Estado Unidos, mencionaron que un número similar de colecciones de hemocultivos antes y durante la pandemia de COVID-19, las tasas de contaminación fueron significativamente más altas durante la pandemia de COVID-19 (4). Otro estudio retrospectivo realizado a principios de la pandemia en una gran red de hospitales en la ciudad de Nueva York informó un aumento en la recolección de hemocultivos en un 35 %, con una tasa de bacteriemia del 1.6 %² y una tasa de contaminación de hemocultivos del 2.2 % en pacientes con COVID-19 (3).

Un aumento involuntario en las pruebas de hemocultivos en poblaciones de baja prevalencia junto con una recolección inadecuada de muestras podría resultar en altas tasas de contaminación de los hemocultivos, lo que llevaría a un tratamiento antibiótico innecesario, a la utilización de pruebas de diagnóstico y a un costo adicional (5).

En Perú, durante la pandemia por COVID-19 las instituciones de salud tuvieron que enfrentar varios desafíos, como el desbordamiento de pacientes, refuerzos de personal por parte de médicos y enfermeras con experiencia

limitada o nula y, especialmente durante la primera ola, escasez de equipos de protección personal o de apoyo(6). Un indicador importante de la atención adecuada incluye la tasa de infecciones del torrente sanguíneo y, especialmente, las tasas de contaminación de los hemocultivos(7). Sin embargo, la evidencia sigue siendo escasa sobre el impacto de la pandemia en la contaminación de hemocultivos.

En el Hospital Vitarte, la solicitud frecuente de hemocultivos en pacientes COVID-19 puede haber impactado en la capacidad de un laboratorio para realizar y procesar estas pruebas, lo que pudo afectar negativamente el beneficio general de las pruebas para todo el centro médico, incrementando la tasa de contaminación de hemocultivos. A pesar de ello, las investigaciones asociadas son limitadas en este contexto, por tanto, existe un vacío de información sobre el tema. Por tal motivo, se propone la ejecución del presente trabajo de investigación.

1.2 Formulación del problema

¿Cuál es la prevalencia de Hemocultivos contaminados en pandemia por COVID-19 en el Hospital Vitarte, 2019- 2021?

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Comparar la prevalencia de Hemocultivos contaminados en pandemia por COVID-19 en el Hospital Vitarte, 2019- 2021.

1.3.2 Objetivos específicos

Identificar la prevalencia de hemocultivos contaminados antes de pandemia por COVID-19 en el Hospital Vitarte, 2019- 2021.

Establecer la prevalencia de hemocultivos contaminados durante la pandemia por COVID-19 en el Hospital Vitarte, 2019- 2021.

1.4 Justificación

Desde una perspectiva teórica constituye un aporte novedoso, pues responde a la necesidad de investigaciones donde se identifique el impacto de la pandemia sobre la contaminación de hemocultivos. Y dadas las implicaciones potenciales de la contaminación del hemocultivo en la utilización de antibióticos y pruebas de diagnóstico y el costo adicional subsiguiente, representa un esfuerzo para incrementar evidencia con base científica que contribuya a minimizar la contaminación del hemocultivo en función de los recursos disponibles.

Desde una perspectiva práctica, podría permitir el refuerzo o elaboración de estrategias para prevenir el uso innecesario de antibióticos de amplio espectro, y esto podría resultar en una disminución de las complicaciones relacionadas con los medicamentos, controlar la resistencia a los antibióticos que podría dificultar el tratamiento de infecciones bacterianas secundarias.

Desde una perspectiva metodológica, el instrumento elaborado y el diseño del estudio puede ser modelo para investigaciones futuras sobre el tema.

1.5 Delimitaciones

Se estudiarán todos los hemocultivos realizados en los diferentes servicios del Hospital Vitarte, en el periodo de enero 2019 a diciembre de 2021. Se busca comparar la prevalencia de hemocultivos contaminados antes y durante la pandemia por COVID-19.

1.6 Viabilidad

Se prevé contar con la autorización del Hospital Vitarte para iniciar la recolección de información, además la investigadora cuenta con los recursos necesarios para la ejecución del estudio; ya sea materiales, humanos y económicos. Se accederá al registro de resultados de hemocultivos realizados en los diferentes servicios del Hospital Vitarte y mediante una ficha de recolección de datos se recolectará la información necesaria para responder a los objetivos de estudio.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación

Antecedentes Internacionales

Sacchetti B et al., en el 2022, en Estados Unidos, publicaron una investigación que tuvo como objeto evaluar los efectos de la pandemia del COVID-19 en la contaminación de hemocultivos de un centro médico académico de atención terciaria de Carolina del Sur. Fue un estudio observacional y de cohorte retrospectivo que analizó 61 058 hemocultivos (pre COVID: 36 161 vs COVID-19: 24 897). Los resultados mostraron una tasa mayor de hemocultivos contaminados después del inicio de la pandemia del COVID-19 (2.1 vs 2.5% $p<0.001$), especialmente en el departamento de emergencia (2 vs 3.5% $p<0.00001$), unidad médica aguda para adultos (2.1 vs 2.6% $p<0.05$) y unidad de cuidados intensivos pediátricos (2.2 vs 3.5% $p<0.01$) (8).

Esquer Z et al., en el 2021, en Estados Unidos, realizaron un estudio que tuvo como propósito comparar las tasas de contaminación de hemocultivos antes y durante la pandemia del COVID-19 en el Centro Médico de la Universidad de Mississippi. El diseño fue observacional, descriptivo, comparativo y retrospectivo, y la muestra estuvo constituida por 21 451 hemocultivos (pre COVID-19: 10 001 vs COVID-19: 11 450). Los resultados mostraron una incidencia mayor de hemocultivos contaminados durante la pandemia del COVID-19 (1.9 vs 3.5% $p:0.01$), atribuidos en la mayoría de casos al estafilococo coagulasa negativo (73.8%) y reportados con frecuencia en los servicios de urgencias (64.7%) (9).

Damonti L et al., en el 2021, en Suiza, llevaron a cabo una pesquisa que tuvo como finalidad evaluar el efecto de la pandemia del COVID-19 en la de incidencia de hemocultivos contaminados e infecciones del torrente sanguíneo en las unidades de cuidados intensivos suizas. Su metodología fue observacional, analítica y retrospectiva, y la muestra estuvo conformada por 2715 hemocultivos (periodo intermedio: 753 vs segunda ola: 1661). Los resultados mostraron una incidencia mayor de hemocultivos contaminados (IRR:1.57 $p:0.003$) y de infecciones del torrente sanguíneo adquiridas en

cuidados intensivos (IRR:1.20 p:0.02) durante la segunda ola del COVID-19, especialmente en aquellos meses donde la carga de pacientes infectados fue alta. La *Cándida spp* evidenció una tendencia de crecimiento en los pacientes con signos sistémicos de infección (10).

Ohki R et al., en el 2021, en Japón, publicaron una investigación que tuvo como objeto evaluar el efecto de la pandemia del COVID-19 en la incidencia de hemocultivos contaminados en el Centro Médico Kakogawa de la Prefectura de Hyogo. Fue un estudio observacional y de cohorte retrospectivo que analizó 1958 hemocultivos (pre pandemia: 1040 vs pandemia: 918). Los resultados mostraron mayor cantidad de hemocultivos contaminados en la etapa pandémica (3.7 vs 6.1% p:0.015); sin embargo, las contaminaciones solo difirieron entre grupos en las unidades de cuidados intensivos (UCI: 5.0 vs 12.5% p:0.0097, áreas no UCI: 3.3 vs 3.6% p:0.65) (11).

Ruso E et al., en el 2021, en Italia, realizaron un estudio que tuvo como propósito describir los cambios en las tasas de hemocultivos contaminados durante el brote del SARS-CoV-2 en la unidad de cuidados intensivos del Hospital Bufalini. EL diseño fue observacional, descriptivo, comparativo y retrospectivo, y la muestra estuvo conformada por 867 hemocultivos (pre pandemia: 758 vs pandemia: 109). Los resultados mostraron tasas de contaminación más altas durante el pico local de la pandemia (6.5 vs 16.5% p:0.0002), atribuidas a los estafilococos coagulasa negativos (100%) y a la extracción percutánea de venas periféricas (79.8%) (12).

Hosse A, en el 2021, en Estados Unidos, llevo a cabo una pesquisa que tuvo como finalidad comparar las tasas de contaminación de hemocultivos antes y durante la pandemia del COVID-19 en un hospital comunitario. Su metodología fue observacional, descriptiva, comparativa y retrospectiva, y la muestra estuvo conformada por 133 hemocultivos. Los resultados mostraron mayores tasas de contaminación de hemocultivos durante la pandemia del COVID-19 (picos máximos: 2.8 vs 5.5%), especialmente en las unidades de pacientes hospitalizados, que sobrepasaron el límite de contaminación institucional (límite: 2.5%, rango pandémico:2.6-5.5%) (13).

LeRose J et al., en el 2020, en Estados Unidos, publicaron una investigación que tuvo como objeto evaluar el impacto del COVID-19 en las infecciones del torrente sanguíneo y en las tasas de contaminación de hemocultivos en el Centro Académico de Atención Terciaria de Detroit-Michigan. Fue un estudio observacional y de cohorte retrospectivo que incluyó 36 participantes (pre COVID-19: 6 vs COVID-19: 30). Los resultados mostraron un aumento en las tasas mensuales promedio de infecciones del torrente sanguíneo (0.40 vs 1.7 p<0.01) y en las tasas de contaminación de hemocultivos (3.2 vs 3.8% p<0.01) durante la pandemia del COVID-19 (14).

Antecedentes Nacionales

Se realizó una búsqueda exhaustiva en la evidencia nacional de los últimos 5 años; sin embargo, no se hallaron investigaciones estructuradas bajo el mismo enfoque temático.

2.2 Bases teóricas

Hemocultivos

Los hemocultivos son medios diagnósticos utilizados para la identificación de microorganismos en el torrente sanguíneo y por ende de infecciones transmisibles (15,16). Estos usualmente se indican en las siguientes situaciones (15):

- Pacientes que exteriorizan una temperatura mayor o igual a 38°C o inferior a 36°C (15).
- Pacientes con leucopenia o leucocitosis (15).
- Pacientes con trombopenia o perturbaciones en la coagulación de origen desconocido (15).
- Pacientes con infección local de origen no claro (15).
- Pacientes con deterioros uni o multiorgánicos, inestabilidad hemodinámica o shock (15).
- Recién nacidos con mínima sospecha de infección (15).

Extracción

El procedimiento de hemocultivo inicia con la extracción de una muestra de sangre, adquirida en la mayoría de casos por venopunción (aprox. 10 ml de sangre) y dividida en 2 frascos, uno para agentes aerobios y otro para agentes anaerobios, cada uno con su respectivo medio de cultivo. En el caso de los infantes, solo se empleará una botella (15,17).

La toma de muestra para hemocultivo incluye los siguientes pasos (16):

- Identificar al paciente (16).
- Informar al paciente sobre la técnica que se realizará y solicitar su consentimiento verbal (16).
- Seleccionar el área de venopunción (16).
- Colocarse la indumentaria necesaria, lavarse las manos y calzarse guantes no estériles (16).
- Limpiar la zona de inserción con alcohol de 70°, haciendo círculos desde la parte central hasta la periferia, por un lapso de 30 segundos. Luego aplicar povidona yodada al 10% o gluconato de clorhexidina al 0.5% (16).
- Retirar los tapones de los frascos, limpiarlos con alcohol de 70° y dejarlos secar (16).
- Colocar los compresores (16).
- Calzarse los guantes estériles y crear un campo estéril (16).
- Proceder con la extracción aséptica de sangre (20 cc), de preferencia de cada brazo, con un lapso de 10 minutos entre tomas (16).
- Introducir entre 5 y 10 mL de sangre en el frasco de agentes anaerobios y posteriormente la misma cantidad en el frasco de aerobios. No se debe cambiar la aguja para inocular la sangre en los frascos (16).
- Invertir los frascos varias veces para combinar la muestra con los medios de cultivo (16).
- Si es necesaria la extracción de otras muestras, se recomienda ejecutarlas después de la toma de hemocultivos, para evitar la contaminación (16).
- Eliminar los residuos hospitalarios y el material punzante (16).
- Rotular con una etiqueta adhesiva las muestras (historia clínica, nombres y apellidos, servicio, planta, número de cama) y enviarlas inmediatamente

al laboratorio junto a sus hojas de petición (vía de toma, nombre del médico que lo solicita, diagnóstico del paciente, tratamiento que pueda estar recibiendo, tipo de análisis) (16).

- Anotar la fecha de extracción y colocarla en los registros del servicio (16).

Recepción en el laboratorio de microbiología

Una vez que los hemocultivos lleguen al laboratorio el personal encargado de la recepción debe verificar lo siguiente (15):

- Integridad de los frascos, estos no deben presentar fisuras o roturas (15).
- Identificación correcta de los frascos y coincidencia con sus hojas de petición (15).
- Volumen de sangre óptimo (15).
- Ausencia de signos macroscópicos de crecimiento microbiano (15).

Si todo es correcto, se procederá con el registro en el libro de laboratorio, se agruparán los frascos por orden de extracción, y emparejarán los frascos aerobios con los anaerobios (15).

Posteriormente se llevarán los frascos al laboratorio de hemocultivos (prioridad), para ser introducidos en las máquinas automáticas y evitar el crecimiento de microorganismos por retraso (15).

Procesamiento

El procesamiento de los hemocultivos se puede realizar mediante dos métodos: manuales y automatizados. El primero incluye a métodos convencionales (observación macroscópica), bifásicos (base sólida + líquida), lisis-filtración (filtración de sangre + retención de bacterias post lisis), lisis-centrifugación (mezcla para generar lisis) y manométricos (botella con caldo de cultivo y cámara con aguja); mientras que el segundo implica métodos radiométricos (C^{14}) y no radiométricos (CO_2 por espectrometría de infrarrojos), y sistemas automatizados de monitorización continua (15).

Cultivo

Si el procesamiento arroja hemocultivos positivos, se debe proceder con el cultivo en placas; sin embargo, si estos son negativos se eliminarán, previa corroboración del facultativo. En ambos casos se debe efectuar un informe (15).

Los cultivos se pueden realizar en apgar sangre, apgar chocolate, apgar MacConkey, apgar brucella para anaerobiosis y apgar Sabouraud (hongos), y se deben complementar con una tinción Gram. Una vez seleccionada las placas se procederá con el sembrado y se incubarán tomando en consideración el siguiente protocolo (15):

- Apgar sangre – aerobiosis: Incubación a 37° C por un lapso de 48-72 horas (15).
- Apgar sangre – anaerobiosis: Incubación a 37° C por un lapso de 48-72 horas (15).
- Apgar chocolate - CO₂: Incubación a 37° C por un lapso de 48-72 horas (15).
- Apgar MacConkey – aerobiosis: Incubación a 37° C por un lapso de 48-72 horas (15).
- Apgar Sabouraud – aerobiosis: Incubación a 30° C por un lapso de 5-7 días (15).
- Apgar Brucella – aerobiosis: Incubación a 37° C por un lapso de 3-5 días (15).
- Apgar Brucella – CO₂: Incubación a 37° C por un lapso de 3-5 días (15).

Posteriormente, se debe emitir un informe preliminar (15).

Lectura

La lectura se realiza cuando termina el tiempo de incubación y para diferenciar las bacteriemias verdaderas de las falsas (contaminación) es necesario conocer los agentes causantes de las mismas (15):

- Bacteriemia verdadera: Suscitada en el 90% de los casos por *Echerichia coli* y otras enterobacterias, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Streptococcus pneumoniae* (15).
- Falsa bacteriemia: Entre los microorganismos contaminantes más frecuentes se hallan el *Bacillus spp*, *Lactobacillus spp*, *Corynebacterium spp*, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus* coagulasa negativa, *Streptococcus* del grupo *viridans* y *Clostridium perfringens*. Es necesario precisar que estos se consideran contaminantes si solo se evidencian en un hemocultivo, pues su presencia en dos o más pueden anunciar una bacteriemia significativa (15).

Finalmente, se realizará el informe definitivo y se puede proceder con pruebas de sensibilidad (15).

Contaminación de hemocultivos

La contaminación de hemocultivos está definida como la presencia de una o más agrupaciones de bacterias residentes de la piel en el cultivo, introducidas durante la recolección o procesamiento de la muestra (18,19).

Las fuentes probables de contaminación son múltiples y pueden incluir a (20):

- La técnica defectuosa de los profesionales encargados de la obtención del hemocultivo (20).
- Desinfección insuficiente de la piel (20).
- Recolección de sangre por catéteres vasculares permanentes (poca asepsia en el puerto) (20).
- Retraso en el traslado al laboratorio y en el procesamiento (20).
- Tipo de caldo utilizado, especialmente los que contienen resina (20).

Bacterias asociadas a la contaminación de hemocultivos

Los hemocultivos contaminados usualmente incluyen a las especies de estafilococos coagulasa-negativos (CoNS), especies *Corynebacterium* y géneros asociados, *Bacillus spp*. exceptuando al *Bacillus anthracis*,

Micrococcus spp. y *Cutibacterium acnes*. Estos microorganismos se consideran contaminantes si es que se identifican en una sola muestra y no contaminantes si se obtienen en varios hemocultivos analizados en secuencia, en cuyo caso, se precisará de una evaluación minuciosa de los pacientes e información adicional del laboratorio para establecer la relevancia de los resultados (20).

Los Enterococos, estreptococos viridans y *Clostridium spp.* son de importancia clínica variable, a diferencia del *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, bacilos gramnegativos anaerobios y especies *Cándida* que rara vez se relacionan con la contaminación de los hemocultivos (20).

Cálculo de las tasas de contaminación

La tasa de contaminación de hemocultivos (%) se puede calcular por medio de dos métodos (21):

- Número de contaminaciones de hemocultivos X 100% del número de contaminaciones de hemocultivos positivos totales (número de contaminaciones de hemocultivos positivos verdaderos y falsos) (21).
- Número de contaminaciones de hemocultivos X 100% al número de contaminaciones de hemocultivos totales (número de contaminaciones de hemocultivos positivos verdaderos, positivos falsos, negativos verdaderos y negativos falsos) (21).

Consecuencias de la contaminación de hemocultivos

- Consecuencias clínicas: Incluyen a la exposición mayor a antibióticos y sus respectivos eventos adversos, como resistencia a los antibióticos, reacciones alérgicas, interacciones farmacológicas y perturbaciones en el microbioma del huésped que pueden resultar en *Clostridioides difficile*. Además, también se pueden suscitar solicitudes de consultas y exámenes de laboratorio innecesarias, preocupaciones injustificadas por la búsqueda

de una fuente de bacteriemia, sesgos de anclaje y retraso en el diagnóstico e inicio del tratamiento (20).

- Consecuencias económicas: Incremento de los costos en salud, tanto los costos directos (recursos propios del sistema de asistencia sanitaria), como indirectos (transporte, tiempo de espera, recuperación, entre otros) (20).

Prevención

Los elementos esenciales para la elución o disminución de la contaminación, y optimización de los hemocultivos son (20):

- Fase preanalítica (recolección, recepción, registro y procesamiento)
 - Venopunción periférica (20).
 - Preparación del sitio de venopunción, preferiblemente con gluconato de clorhexidina alcohólica o tintura de yodo con 70% de alcohol. No se aconsejan los yodóforos (20).
 - En la adquisición de las muestras se recomienda emplear equipos de flebotomía, guantes estériles y determinados paños estériles (eludir cultivos adquiridos a través de líneas). Además, se deben usar dos frascos (aerobios y anaerobios) y el volumen de sangre debe ser de hasta 10 mL por frasco y entre 20 y 30 mL por venopunción (20).
 - El traslado de las muestras debe ser rápido y a temperatura ambiente (20).
- Fase analítica (prueba analítica y registro de resultados)
 - Emplear sistemas de cultivo de sangre con monitorización continua para reducir el tiempo de respuesta (20).
 - Rendimiento óptimo de la tinción Gram, con procesamiento de positivos 24/7 (20).
 - Diagnóstico raudo, para identificar los contaminantes y patógenos verdaderos (20).
 - Prueba de susceptibilidad antimicrobiana oportuna, detección directa de los frascos (20).

- Fase postanalítica (informe, archivo de resultado y archivo o desecho de la muestra)
 - Comunicar a los proveedores de atención cuando se establezca la positividad de los hemocultivos, para ello se aconseja la instauración de políticas institucionales (20).
 - Definir y reducir el tratamiento de los contaminantes (20).
 - Ejecutar un informe final conciso y pertinente que destaque a los agentes patógenos y la resistencia (20).

Pandemia del COVID-19 y contaminación de hemocultivos

La pandemia del COVID-19 ha obligado a los sistemas de asistencia sanitaria a realizar una serie de reajustes en su organización, con el objeto de mitigar los efectos desmesurados del incremento de la demanda. Entre estos reajustes destacaron la reasignación del personal y los cambios en las prácticas de vigilancia de las infecciones nosocomiales (enfoque en el COVID-19), responsables del aumento de las tasas de contaminación de hemocultivos por la falta de experiencia del personal encargado de la toma de la muestra y por la ausencia de un control óptimo. Además, el miedo al contagio, ha hecho que este procedimiento sea cada vez más raudo, desidioso e incluso negligente (8,9).

2.3 Definiciones conceptuales

- Hemocultivo: Prueba que determina la ausencia o presencia de infecciones en la sangre, como sepsis o bacteriemia (22).
- Contaminación de hemocultivos: Presencia de una o más agrupaciones de bacterias residentes de la piel en el cultivo, introducidas durante la recolección o procesamiento de la muestra (18,19).
- Pandemia del COVID-19: Epidemia del SARS-CoV-2 diseminada a muchos países, a más de un continente y a un gran número de individuos (23).
- COVID-19: Patología respiratoria suscitada por el nuevo coronavirus o también denominado SARS-CoV-12 (24).

2.4 Hipótesis

H1: La prevalencia de hemocultivos contaminados es mayor durante la pandemia por COVID-19 que antes de pandemia en el Hospital Vitarte, 2019-2021.

H0: La prevalencia de hemocultivos contaminados es igual durante la pandemia por COVID-19 que antes de pandemia en el Hospital Vitarte, 2019-2021.

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1 Diseño

Enfoque cuantitativo, de alcance cohorte, proyección retrospectiva y de acuerdo al control de la variable observacional. De estadística inferencial.

3.2 Población y muestra

3.2.1 Población

La población la conformarán todos los hemocultivos realizados en los diferentes servicios del Hospital Vitarte, en el periodo de enero 2019 a diciembre de 2021.

3.2.2 Tamaño de la muestra

Para el cálculo de tamaño de la muestra se aplicará la fórmula de cohorte, en la que se considerará un nivel de confianza del 95% y potencia de prueba del 80%. De acuerdo con investigaciones previas(10), el 41.5% de hemocultivos durante la pandemia COVID 19 estuvieron contaminados. Además la relación entre grupos a considerar será de 1 a 1. A continuación se detalla la fórmula antes expuesta:

$$n' = \frac{[z_{1-\alpha/2} \sqrt{(r+1)P_M(1-P_M)} + z_{1-\beta} \sqrt{rP_1(1-P_1) + P_2(1-P_2)}]^2}{r(P_1 - P_2)^2}$$

Parámetros:

$Z_{1-\alpha/2} = 1.96$: Valor Z asociado a un nivel de confianza del 95%.

$Z_{1-\beta} = 0.84$: Valor Z asociado a una potencia de prueba de 80%.

$p_1 = 0.333$: Prevalencia de contaminantes de hemocultivo en pacientes durante la pandemia.

$p_2 = 0.190$: Prevalencia de contaminantes de hemocultivo en pacientes antes de la pandemia.

$RR = 2.157$: Riesgo relativo

$r = 1$: Relación entre grupos

$$P_M = (P_1 + rP_2)/(r+1)$$

Resultado:

$n_1 = 65$: Tamaño para grupo expuesto

$n_2 = 65$: Tamaño para grupo no expuesto

Por lo tanto, el tamaño de la muestra estará conformado por 130 hemocultivos de los cuales, 65 fueron realizados antes de la pandemia y 65 durante la pandemia.

Tipo y técnica de muestreo

El tipo de muestreo será el probabilístico y la técnica el aleatorio simple para cada grupo.

3.2.3 Selección de la muestra

Criterios de inclusión

Cohorte 1

Hemocultivos realizados en el periodo enero de 2019 a marzo de 2020 (antes de pandemia).

Hemocultivos de pacientes mayores de 18 años.

Hemocultivos de pacientes de ambos sexos.

Hemocultivos realizados en los diferentes servicios del Hospital Vitarte.

Cohorte 2

Hemocultivos realizados en el periodo abril de 2020 a diciembre de 2021 (durante la pandemia).

Hemocultivos de pacientes mayores de 18 años.

Hemocultivos de pacientes de ambos sexos.

Hemocultivos realizados en los diferentes servicios del Hospital Vitarte.

Criterios de exclusión

Hemocultivos derivados de otras instituciones de salud.

Hemocultivos de pacientes con diagnóstico de sepsis relacionada al uso de catéteres intravasculares, y en los que se tomó la muestra directamente del catéter; ya que se ha establecido como norma que presentan una elevada tasa de contaminación.

3.3 Operacionalización de variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	ESCALA DE MEDICIÓN	TIPO DE VARIABLE RELACION Y NATURALEZA	CATEGORÍA O UNIDAD
DEPENDIENTE Contaminación de hemocultivos	Aislamiento de una bacteria habitualmente contaminante en pacientes sin factores de riesgo (25).	Se considerará hemocultivo contaminado cuando existe presencia de microorganismos contaminante en pacientes sin factores de riesgo, en uno del total de frascos tomados del paciente, con un tiempo de incubación >24 horas.	Nominal	Cualitativo	Si No
INDEPENDIENTE Periodo de la realización del hemocultivo	Tiempo de ejecución de una prueba que busca invasores extraños como bacterias, levaduras y otros microorganismos en la sangre (26).	Periodo de la realización del hemocultivo, antes de pandemia o durante la pandemia por COVID-19.	Nominal	Cualitativo	Antes de pandemia Durante la pandemia
Edad del paciente	Tiempo que ha vivido una persona(27).	Edad del paciente a la toma del hemocultivo y que se encuentra registrado en su historia clínica.	Razón	Cuantitativo	Años
Sexo del paciente	Características biológicas que diferencias a varones y mujeres(28).	Sexo del paciente a quien se le solicito un hemocultivo y se encuentra registrado en su historia clínica.	Nominal	Cualitativo	Masculino Femenino

Procedencia del paciente	Lugar de residencia de una persona(29).	Lugar de residencia del paciente a quien se le solicitó un hemocultivo.	Nominal	Cualitativo	Rural Urbano
Servicio de procedencia	Conjunto de servicios médicos especializados reagrupados en un hospital	Servicio de procedencia de la muestra para hemocultivo.	Nominal	Cualitativo	Cirugía general Emergencia Medicina interna Unidad de cuidados intensivos Otros
Personal de toma de muestra	Trabajador de salud que recoge una muestra biológica para su evaluación(30).	Personal encargado de la toma de muestra.	Nominal	Cualitativo	Enfermera/o Tecnólogo medico Técnica en enfermería Otros
Agente contaminante	Introducción no intencionada o accidental de material infeccioso como bacterias, levaduras, mohos, hongos, virus, priones, protozoos o sus toxinas y subproductos(31).	Microorganismo identificado que no está provocando bacteriemia verdadera en el hemocultivo en estudio.	Nominal	Cualitativo	Ninguno Staphylococcus coagulasa negativa Propionibacterium sp. Bacillus sp. Corynebacterium sp. Streptococcus grupo viridans Clostridium sp. Micrococcus sp Otros

3.4 Técnicas de recolección de datos. Instrumentos

La técnica de recolección de datos será documental. Mientras que el instrumento una ficha de recolección de datos. Este último tendrá la siguiente estructura:

- I. Características generales
- II. Contaminación de hemocultivo
- III. Periodo de la realización del hemocultivo

3.5 Técnicas para el procesamiento de la información

Se elaborará una base de datos en el programa estadístico SPSS 25, la cual pasará por un proceso de consistencia de la información, es decir, por un proceso de clasificación y depuración de registros de acuerdo a los criterios de selección. Luego se realizará el siguiente análisis estadístico:

Análisis descriptivo: Se realizarán estimaciones de frecuencias absolutas y relativas correspondientes a las variables cualitativas, mientras que para el caso de las cuantitativas se calcularán medidas de tendencia central y dispersión como el promedio y desviación estándar.

Análisis inferencial: Para comparar la prevalencia de Hemocultivos contaminados en pandemia por COVID-19 se realizará la prueba Chi cuadrada, considerando la significancia del 5%, es decir que aquellos valores menores a 0.05 serán considerado significativos.

Luego, los resultados serán presentados en tablas simples y dobles, además de gráficos estadísticos como el de barras y/o circular, elaborados en Microsoft Excel 2019.

3.6 Aspectos éticos

Se solicitará autorización al comité de ética de la Universidad Ricardo Palma. Se refiere que la ejecución del estudio no genera daño en los participantes, pues solo se revisaran hemocultivos. Las fichas de recolección de datos tendrán códigos para su reconocimiento evitando recopilar información de filiación como nombres, apellidos o número de documento de identidad. Es

importante señalar que estas especificaciones se ajustan a los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos estipulados en la Declaración de Helsinki.

CAPÍTULO IV: RECURSOS Y CRONOGRAMA

4.1 Recursos

Humanos

- Investigador(es) gastos personales
- Asesoría Análisis Estadístico
- Personal de Apoyo (viáticos)

Materiales

Bienes:

- Material de oficina
- Material de Impresión

Servicios:

- Digitación del Proyecto e Informe de Tesis
- Fotocopias, anillados y empastados
- Gastos imprevistos

4.2 Cronograma

ETAPAS	2022				
	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT
Elaboración del proyecto	X				
Presentación del proyecto	X				
Revisión bibliográfica	X				
Trabajo de campo y captación de información		X	X		
Procesamiento de datos				X	
Análisis e interpretación de datos				X	
Elaboración del informe				X	
Presentación del informe					X

4.3 Presupuesto

DESCRIPCIÓN	UNIDAD	CANTIDAD	COSTO (S/)	
			UNITARIO	TOTAL
PERSONAL				
Asesor estadístico	Horas	90	--	S/.1600
BIENES				
Papel bond A-4	3	3 MILLARES	S/.10	S/.30
Lapiceros	12	1 DOCENA	S/.1	S/.12
Lápices	12	1 DOCENA	S/.1	S/.12
Perforador				
PC	1	1 UNIDAD	S/.10	S/.10
USB	3	3 UNIDADES	S/.25	S/.75
CD	2	2 UNIDADES	S/.2.50	S/.5
SERVICIOS				
Espiralado	4	4 UNIDADES	S/.10	S/.40
Telefonía	--	--	--	S/. 60
Electricidad	--	--	--	S/. 100
Internet	-	HORAS	--	S/.100
Impresiones	-	25	S/1	S/.25
Fotocopias	750	500	S/.0.10	S/.75
Movilidad	-	½ TANQUE		S/.350
Otros	--	--	--	S/.1000
COSTO TOTAL				S/. 3494

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fomsgaard AS, Rosenstjerne MW. An alternative workflow for molecular detection of SARS-CoV-2 - escape from the NA extraction kit-shortage, Copenhagen, Denmark, March 2020. Euro Surveill Bull Eur Sur Mal Transm Eur Commun Dis Bull. abril de 2020;25(14).
2. Mazdeyasna H, Nori P, Patel P, Doll M, Godbout E, Lee K, et al. Antimicrobial Stewardship at the Core of COVID-19 Response Efforts: Implications for Sustaining and Building Programs. Curr Infect Dis Rep. 2020;22(9):23.
3. Sepulveda J, Westblade LF, Whittier S, Satlin MJ, Greendyke WG, Aaron JG, et al. Bacteremia and Blood Culture Utilization during COVID-19 Surge in New York City. J Clin Microbiol. 23 de julio de 2020;58(8):e00875-20.
4. Esquer Garrigos Z, Wingler MJB, Svoronos PA, Vijayvargiya P, Goodman-Meza D, O'Horo JC, et al. Increased rates of blood culture contamination during the coronavirus disease 2019 pandemic. Infect Control Hosp Epidemiol. 24 de junio de 2021;1-3.
5. Dargère S, Cormier H, Verdon R. Contaminants in blood cultures: importance, implications, interpretation and prevention. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. septiembre de 2018;24(9):964-9.
6. Pumapillo Garcia AS, Quispe Castillo CZ, Pumapillo Garcia AS, Quispe Castillo CZ. Esquema de manejo de COVID-19 en adultos. Horiz Méd Lima [Internet]. enero de 2021 [citado 30 de junio de 2022];21(1). Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1727-558X2021000100010&lng=es&nrm=iso&tlng=es
7. Ministerio de salud del Perú. Directiva Sanitaria nº 04-DG-2020/HCH-V.01 Que regula los aspectos técnicos operativos para ampliación en la atención hospitalaria y de cuidados intensivos en el Hospital Modular durante la pandemia por coronavirus [Internet]. Lima; 2020. Disponible en: http://www.hospitalcayetano.gob.pe/PortalWeb/wp-content/uploads/resoluciones/2020/RD/RD_142-2020-HCH-DG.pdf
8. Sacchetti B, Travis J, Steed LL, Webb G. Effects of COVID-19 on Blood Culture Contamination at a Tertiary Care Academic Medical Center. Microbiol Spectr. 2022;10(2):e00277-22.

9. Esquer Z, Wingler M, Svoronos P, Vijayvargiya P, Goodman-Meza D, O'Horo J, et al. Increased rates of blood culture contamination during the coronavirus disease 2019 pandemic. *Infect Control Hosp Epidemiol.* (24):1-3.
10. Damonti L, Kronenberg A, Marschall J, Jent P, Sommerstein R, De Kraker M, et al. The effect of the COVID-19 pandemic on the epidemiology of positive blood cultures in Swiss intensive care units: a nationwide surveillance study. *Crit Care.* 2021;(25):403.
11. Ohki R, Fukui Y, Morishita N, Iwata K. Increase of blood culture contamination during COVID-19 pandemic. A retrospective descriptive study. *Am J Infect Control.* 2021;49(11):1359-61.
12. Russo E, Bolondi G, Gamberini E, Santonastaso D, Circelli A, Spiga M, et al. Increased blood culture contamination rate during COVID-19 outbreak in intensive care unit: A brief report from a single-centre. *J Intensive Care Soc.* 2021;1-3.
13. Hosse A. Effect of the COVID-19 Pandemic on Blood Culture Contamination Rates and Quality Improvement Processes. *Open Forum Infect Dis.* 2021;8(1):S432.
14. LeRose J, Sandhu A, Polistico J, Ellsworth J, Cranis M, Jabbo L, et al. The impact of coronavirus disease 2019 (COVID-19) response on central-line-associated bloodstream infections and blood culture contamination rates at a tertiary-care center in the Greater Detroit area. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2021;42(8):997-1000.
15. Hospital San Juan de Lurigancho. Hemocultivos [Internet]. Lima; 2018. Disponible en: <https://www.hospitalsjl.gob.pe/ArchivosDescarga/ApoyoAIDx/Hemocultivos.pdf>
16. Sillero R, Sillero M, Vargas A. Protocolo actualizado de extracción de hemocultivos. *Rev Electrónica Portales Medicos.* 2018;(13):1-5.
17. Instituto Nacional de Pediatría. Toma de hemocultivos: Recomendaciones [Internet]. México: Gobierno de México; 2019. Disponible en: https://pediatria.gob.mx/archivos/burbuja/5_Recomendaciones_de_toma_de_heocultivos.pdf

18. Dargère S, Cormier H, Verdon R. Contaminants in blood cultures: importance, implications, interpretation and prevention. *Clin Microbiol Infect.* 2018;24(9):964-9.
19. Yamamoto K, Mezaki K, Ohmagari N. Simple indicator of increased blood culture contamination rate by detection of coagulase-negative staphylococci. *Sci Rep.* 2021;11(1):1-8.
20. Doern G, Carroll K, Diekema D, Garey K, Rupp M, Weinstein M, et al. Practical Guidance for Clinical Microbiology Laboratories: A Comprehensive Update on the Problem of Blood Culture Contamination and a Discussion of Methods for Addressing the Problem. *Clin Microbiol Rev.* 2019;33(1):e00009-19.
21. Tenderenda A, Łysakowska M, Dargiewicz R, Gawron-Skarbek A. Blood Culture Contamination: A Single General Hospital Experience of 2-Year Retrospective Study. *Int J Environ Res Public Health.* 2022;19(5):1-66.
22. Organización Panamericana de la Salud. Hemocultivo [Internet]. DeCS. 2020a [citado 28 de junio de 2022]. Disponible en: <http://decs2020.bvsalud.org/cgi-bin/wxis1660.exe/decsserver/>
23. Organización Panamericana de la Salud. Pandemics [Internet]. DeCS. 2020b [citado 28 de junio de 2022]. Disponible en: <http://decs2020.bvsalud.org/cgi-bin/wxis1660.exe/decsserver/>
24. Organización Mundial de la Salud. Información básica sobre la COVID-19 [Internet]. WHO. 2020 [citado 28 de junio de 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/questions-and-answers/item/coronavirus-disease-covid-19>
25. Hernández-Bou S, Trenchs Sainz de la Maza V, Esquivel Ojeda JN, Gené Giralt A, Luaces Cubells C. Factores predictores de contaminación ante un hemocultivo con crecimiento bacteriano en Urgencias. *An Pediatría.* 1 de junio de 2015;82(6):426-32.
26. Nannan Panday RS, Wang S, van de Ven PM, Hekker TAM, Alam N, Nanayakkara PWB. Evaluation of blood culture epidemiology and efficiency in a large European teaching hospital. *PLoS ONE.* 21 de marzo de 2019;14(3):e0214052.
27. Real Academia Española. Edad [Internet]. RAE. 2020. Disponible en: <https://dle.rae.es/edad>

28. Real Academia Española. Sexo [Internet]. RAE. 2020. Disponible en: <https://dle.rae.es/sexo?m=form>
29. Real Academia Española. Procedencia [Internet]. RAE. 2020. Disponible en: <https://dle.rae.es/procedencia?m=form>
30. Dinis-Oliveira RJ, Vieira DN, Magalhães T. Guidelines for Collection of Biological Samples for Clinical and Forensic Toxicological Analysis. *Forensic Sci Res.* 2016;1(1):42-51.
31. Yarbrough ML, Kwon JH, Wallace MA, Hink T, Shupe A, Fraser VJ, et al. Frequency of Instrument, Environment, and Laboratory Technologist Contamination during Routine Diagnostic Testing of Infectious Specimens. *J Clin Microbiol.* 25 de mayo de 2018;56(6):e00225-18.

ANEXOS

1. Matriz de consistencia

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	DISEÑO METODOLÓGICO	POBLACIÓN Y MUESTRA	TÉCNICA E INSTRUMENTOS	PLAN DE ANÁLISIS DE DATOS
¿Cuál es la prevalencia de Hemocultivos contaminados en pandemia por COVID-19 en el Hospital Vitarte, 2019-2021?	<p>Objetivo general Comparar la prevalencia de Hemocultivos contaminados en pandemia por COVID-19 en el Hospital Vitarte, 2019- 2021.</p> <p>Objetivos específicos Identificar la prevalencia de hemocultivos contaminados antes de pandemia por COVID-19 en el Hospital Vitarte, 2019- 2021.</p> <p>Establecer la prevalencia de hemocultivos contaminados durante la pandemia por COVID-19 en el Hospital Vitarte, 2019- 2021.</p>	<p>H1: La prevalencia de hemocultivos contaminados es mayor durante la pandemia por COVID-19 que antes de pandemia en el Hospital Vitarte, 2019- 2021.</p> <p>H0: La prevalencia de hemocultivos contaminados es igual durante la pandemia por COVID-19 que antes de pandemia en el Hospital Vitarte, 2019- 2021.</p>	<p>DEPENDIENTE Contaminación de hemocultivos</p> <p>INDEPENDIENTE Periodo de la realización del hemocultivo</p>	<p>Enfoque cuantitativo, de alcance cohorte, proyección retrospectiva y de acuerdo al control de la variable observacional. De estadística inferencial.</p>	<p>La población la conformarán todos los hemocultivos realizados en los diferentes servicios del Hospital Vitarte, en el periodo de enero 2019 a diciembre de 2021.</p>	<p>Técnica: documental</p> <p>Instrumentos: ficha de recolección</p>	<p>Frecuencias absolutas y relativas. Promedio y desviación estándar. Chi cuadrado</p>

2. Instrumentos de recolección de datos

Prevalencia de Hemocultivos contaminados en pandemia por COVID-19 en el Hospital Vitarte, 2019- 2021

Fecha: ____/____/____

ID: _____

I. Características generales

Edad del paciente: _____ años

Sexo del paciente: Masculino ()

Femenino ()

Procedencia del paciente: Rural ()

Urbano ()

Servicio de procedencia: Cirugía general ()

Emergencia ()

Medicina interna ()

Unidad de cuidados intensivos ()

Otros: _____

Personal de toma de muestra: Enfermera/o ()

Tecnólogo medico ()

Técnica de laboratorio ()

Otros: _____

Agente contaminante: Ninguno ()

Staphylococcus coagulasa negativa ()

Propionibacterium sp. ()

Bacillus sp. ()

Corynebacterium sp. ()

Streptococcus grupo viridans ()

Clostridium sp. ()

Micrococcus sp ()

Otros: _____

II. Contaminación de hemocultivo: Si () No ()

III. Periodo de la realización del hemocultivo:

Antes de pandemia ()

Durante la pandemia ()

3. Solicitud de permiso institucional

4. Reporte de Turnitin (Mínimo <25%, Ideal: <10%



Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por **Turnitin**. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega: **Lucy Geidi Caceda Vera**
Título del ejercicio: **Proyectos de investigación Residentado**
Título de la entrega: **Prevalencia de hemocultivos contaminados en Pandemia po...**
Nombre del archivo: **PROYECTO_DE_INVESTIGACION_LUCY_GEIDI_CACEDA_VERA_3...**
Tamaño del archivo: **152.51K**
Total páginas: **33**
Total de palabras: **6,097**
Total de caracteres: **35,647**
Fecha de entrega: **30-sept.-2022 02:56p. m. (UTC-0500)**
Identificador de la entre... **1913264449**



UNIVERSIDAD RICARDO PALMA

FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

ESCUELA DE RESIDENTADO MÉDICO Y ESPECIALIZACIÓN

Prevalencia de hemocultivos contaminados en Pandemia por Covid-19 en el
Hospital Vitarte, 2019- 2021

PROYECTO DE INVESTIGACION

Para optar el Título de Especialista en Patología Clínica

Caceda Vera, Lucy Geidi

(0000-0001-8645-6451)

ASESOR

Checa Chavez, Eleana

(0000-0003-4835-6658)

Lima, Perú

2022

Prevalencia de hemocultivos contaminados en Pandemia por Covid-19 en el Hospital Vitarte, 2019- 2021

INFORME DE ORIGINALIDAD

7%

INDICE DE SIMILITUD

5%

FUENTES DE INTERNET

0%

PUBLICACIONES

5%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	1library.co Fuente de Internet	2%
2	Submitted to unsaac Trabajo del estudiante	2%
3	www.seimc.org Fuente de Internet	1%
4	www.dspace.uce.edu.ec Fuente de Internet	1%
5	Submitted to Universidad de San Martín de Porres Trabajo del estudiante	1%
6	www.eluniversaledomex.mx Fuente de Internet	< 1%
7	repositorio.upao.edu.pe Fuente de Internet	< 1%

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 20 words

Excluir bibliografía

Activo

Prevalencia de hemocultivos contaminados en Pandemia por Covid-19 en el Hospital Vitarte, 2019- 2021

[INFORME DE GRADEMARK](#)

NOTA FINAL

COMENTARIOS GENERALES

/0

Instructor

PÁGINA 1

PÁGINA 2

PÁGINA 3

PÁGINA 4

PÁGINA 5

PÁGINA 6

PÁGINA 7

PÁGINA 8

PÁGINA 9

PÁGINA 10

PÁGINA 11

PÁGINA 12

PÁGINA 13

PÁGINA 14

PÁGINA 15

PÁGINA 16

PÁGINA 17

PÁGINA 18

PÁGINA 19

PÁGINA 20

PÁGINA 21

PÁGINA 22

PÁGINA 23

PÁGINA 24

PÁGINA 25

PÁGINA 26

PÁGINA 27

PÁGINA 28

PÁGINA 29

PÁGINA 30

PÁGINA 31

PÁGINA 32

PÁGINA 33
